

**AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) GENOTİPLERİNDE
KURAKLIĞA DAYANIKLILIĞIN FİZYOLOJİK,
BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE
İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF DROUGHT TOLERANCE AT
PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR
LEVELS IN SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.)
GENOTYPES**

AYŞE SUNA BALKAN NALÇAYI

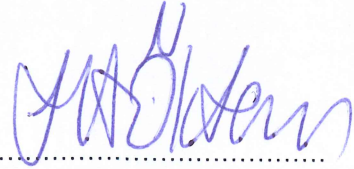
PROF. DR. YASEMİN EKMEKÇİ
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

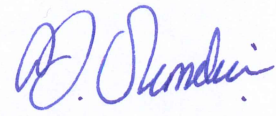
2018

Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI'nin hazırladığı “Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Genotiplerinde Kuraklığa Dayanıklılığın Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Düzeyde İncelenmesi” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hüseyin Avni ÖKTEM
Başkan



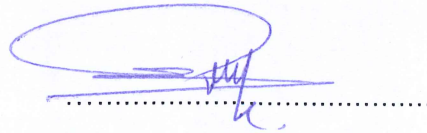
Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ
Danışman



Prof. Dr. Füsun İNCİ EYİDOĞAN
Üye



Prof. Dr. Murat KASAP
Üye



Doç. Dr. Nuran ÇİÇEK
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından DOKTORA TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- ☐ Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- ☒ Tezimin/Raporumun Okul 2020 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- ☐ Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

- ☐ Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi

24/01/2018

(İmza)

Öğrencinin Adı Soyadı

Ayşe Sura BALKAS NALGATÇI

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim



08.01.2018

Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

ÖZET

AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) GENOTİPLERİNDE KURAKLIĞA DAYANIKLILIĞIN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE İNCELENMESİ

Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

Doktora, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ

Ocak 2018, 217 sayfa

Bu çalışmada, ülkemizde yetiştirilen tescilli ayçiçeği çeşitleri ile atasal melezler ve kuraklığa toleranslı olduğu bilinen atasal *Helianthus agrophyllus*'un kuraklık ve iyileşme süreçlerinde oluşturdukları yanıtların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler (proteom) düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın I. aşamasında ayçiçeği çeşitleri iki farklı şiddette (orta şiddetli-7 gün / şiddetli-9 gün) kuraklık ve sonrasında iyileşme (sulama- 5 gün) uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Bu aşamada, çeşitlerin fotosentetik aktiviteleri (klorofil a floresans ölçümleri), membran hasarları (iyon sızıntısı), fotosentetik pigment ve su içerikleri ölçülmüştür. Fotosentetik performans indekslerinden, kuraklık ve iyileşme faktör indeksleri ile fizyolojik ve biyokimyasal ölçümlerden hasar indeksi ve iyileşme potansiyelleri hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar doğrultusunda çeşitler; kuraklığa toleranslı (Şems, Sirena, Tarsan-1018), orta derecede toleranslı (Duna, Hornet, Tunca) ve duyarlı (Bosfora, Coral, Kaan) olmak üzere 3 tolerans düzeyinde sınıflandırılmıştır.

Çalışmanın II. aşamasında, seçilen çeşitler ile birlikte ayçiçeğinin atasal melezleri (*Helianthus annuus* x *Helianthus agrophyllus* ve *Helianthus annuus* x *Helianthus*

deserticola) 9 gün kuraklık stresine ve devamında 5 gün iyileşme sürecine maruz bırakılarak genotiplerin kuraklığa oluşturduğu cevaplar bazı morfolojik, fotosentetik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ile ortaya konulmuştur. Elde edilen verilerinden hasar indeks değerleri ve iyileşme potansiyelleri hesaplanarak genotipler kuraklık toleranslarına göre karakterize edilmiştir. Kuraklık koşullarında su içeriğini azalmasına bağlı olarak, tüm genotiplerde fenotipik karakterlerde (bitki boyu, yaprak sayısı ve taze/kuru ağırlık) değişimler saptanmıştır. Bununla birlikte, toleranslı genotipler duyarlı genotiplere göre; fotosentetik aktivitelerini ve pigment içeriklerini (klorofil/karotenoid) koruyup (eksitasyon enerjisini daha iyi yakalayıp etkin bir şekilde kullanabildiği), savunma kapasitesini [flavonoid, antosiyanin, glisin betain, süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), peroksidaz (POD) ve aldoz redüktaz (ALR)] arttırarak, stresle oluşan membran hasarı (MDA) ile H₂O₂ düzeyini düşük tutabilmiş ve strese dayanım sağlayabilmişlerdir.

Çalışmanın III. aşamasında toleranslı (Tarsan-1018) ve duyarlı (Tunca) olarak karakterize edilen çeşitler ile atasal *Helianthus agrophyllus*'un protein profillerindeki değişimler proteomik analizler ile ortaya konulmuştur. MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi ve MASCOT veri tabanı kullanılarak genotiplerde 63 adet protein tanımlanmış ve STRING veri tabanı ile protein-protein etkileşim örüntüleri oluşturulmuştur. Tanımlanan proteinlerin; fotosentez ve karbohidrat, enerji ve solunum, savunma, arjinin, nükleotid, yağ asidi ve glikolipid, protein ve sinyal metabolizması ile hücre çeper biyogeneğinde görev alan proteinler olduğu belirlenmiştir. Duyarlı çeşitte, metabolizmalarda tanımlanan proteinlerin farklı yönde değişmesi ve kuraklıkla birlikte nükleotid ve protein metabolizmaları ile sinyal iletiminde yer alan protein ifadelerindeki azalmalar, Tunca'yı diğer genotiplere göre daha az başarılı kılmıştır. Toleranslı genotipler ise fotosentez ve karbon metabolizmaları ile birlikte enerji ve solunum ile yağ asiti ve glikolipid metabolizmalarındaki protein ifadelerini benzer yönde düzenleyerek ve sinyal iletim yolağında yer alan 14-3-3 benzeri protein ifadesini artırarak kuraklık koşullarına dayanımda daha iyi performans sergiledikleri belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fotosentetik aktivite, iyileşme, kuraklık, proteomik, savunma sistemleri, tolerans, yerel ve atasal ayçiçeği genotipleri

ABSTRACT

INVESTIGATION OF DROUGHT TOLERANCE AT PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR LEVELS IN SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.) GENOTYPES

Ayşe Suna BALKAN NALÇAYI

Doctor of Philosophy, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ

January 2018, 217 pages

In this study, it was aimed to investigate the responses of registered sunflower cultivars grown in our country with their wild hybrids and wild *Helianthus agrophyllus*, identified to be drought tolerant, at morphological, physiological, biochemical and molecular (proteomic) levels during drought and recovery. In the first stage, sunflower cultivars were exposed to two different drought treatments (moderate -7 days / severe-9 days) and then recovery (irrigation-5 days). In this stage, photosynthetic activities (chlorophyll a fluorescence measurements), membrane damage (ion leakage), photosynthetic pigment and water contents of the cultivars were measured. Drought-recovery factor indexes and damage-recovery potential indexes were calculated from photosynthetic performance indexes, and physiological and biochemical measurements, respectively. These calculations allowed classification of the genotypes to three tolerance levels: drought-tolerant (Şems, Sirena, Tarsan-1018), moderately tolerant (Duna, Hornet, Tunca) and sensitive (Bosfora, Coral, Kaan). In the second stage of the study, the drought responses of selected cultivars with the wild hybrids of the sunflower (*Helianthus annuus* x *Helianthus agrophyllus* and *Helianthus annuus* x *Helianthus deserticola*)

subjected to drought stress for 9 days and then 5-days recovery were proved by using the morphological, photosynthetic, physiological and biochemical parameters. Genotypes were characterized according to their drought tolerances by calculating damage indexes and recovery potentials from the obtained data. The changes in phenotypic characters (plant height, number of leaves and fresh / dry weight) were determined in all genotypes due to the reduced water content under drought conditions. However, tolerant genotypes compared to sensitive genotypes, were able to conserve photosynthetic activities (absorption/trapping of excitation energy and utilize efficiently), pigment contents (chlorophyll/carotenoid) and enhance defense capacity [flavonoids, anthocyanins, glycine betaine, superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), peroxidase (POD) and aldose reductase (ALR)], thereby the level of H₂O₂ and stress-induced membrane damage (MDA) were kept low and were able to provide tolerance to stress.

In the third stage, the alterations in the protein profiles of tolerant (Tarsan-1018) and sensitive (Tunca) cultivars and wild *Helianthus agrophyllus* were proved by proteomic analysis. 63 proteins were identified in genotypes with MALDI-TOF / TOF MS / MS mass spectrometry and MASCOT database, and the protein-protein interaction patterns were performed with STRING database. It has been determined that the identified proteins are involved in photosynthesis and carbohydrate, energy and respiration, defense, arginine, nucleotide, fatty acid and glycolipid, protein and signal metabolism and cell wall biogenesis. Different expression of proteins in metabolisms and the reductions in nucleotide and protein metabolisms, as well as protein involved in signal transduction of sensitive cultivar, made Tunca less successful in stress resistance compared to other genotypes. Tolerant genotypes were found to exhibit better performance in terms of photosynthesis and carbon metabolism, as well as protein expression in energy and respiration and fatty acid and glycolipid metabolisms in the same way, and increased the expression of 14-3-3 like protein in signal transduction pathway increased resistance to drought conditions.

Keywords: Photosynthetic activity, recovery, drought, proteomics, defense systems, tolerance, cultivated and wild sunflower genotypes.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında büyük bir özveri ve sabır gösteren her zaman desteğini yanımda hissettiğim, bilgi ve tecrübelerini paylaşan, çalışmalarına her zaman destek olan ve yol gösteren tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ'ye,

Bilgileri ve deneyimleri ile bana yol göstererek destek olan tez izleme komitesi üyesi değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Füsün İNCİ EYİDOĞAN'a ve Sayın Doç. Dr. Nuran ÇİÇEK'e;

Laboratuvar imkânlarını kullanmam için katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Rukiye TIPIRDAMAZ'a; Prof. Dr. Zafir EKMEKÇİ'ye; Uzm. Yasemin ÖZTÜRK'e; Prof. Dr. Hatice MERGEN'e, Arş. Gör. Dr. Emel SAĞLAR'a, Arş. Gör. Tuğçe KARADUMAN'a ve Arş. Gör. Merve ÖZCAN'a; çalışma kapsamında kullanılan ayçiçeği tohumlarının temini için Dr. Veli PEKCAN'a; kütle spektrometresi analizlerindeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Murat KASAP'a ve Doç. Dr. Gürler AKPINAR'a; protein ekstraksiyonundaki ön çalışmalara yardımlarından dolayı Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a ve Yrd. Doç. Dr. Hakan TERZİ'ye; glisin betain ölçümündeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Evren YILDIZTUGAY'a;

Çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Handan SEVİM'e, Yrd. Doç. Dr. Egemen FOTO'ya, Arş. Gör. Dr. Fatma ZİLİFDAR'a, Arş. Gör. Dr. Seçil KARAHİSAR'a;

Tez süresince kendi işi gibi özveriyle çalışan ve bana her zaman destek ve yardımcı olan sevgili dostum Arş. Gör. Dr. Şeküre ÇULHA ERDAL ve sevgili eşi Ali ERDAL'a;

Desteklerini her zaman yanıbaşımnda hissettiğim canım aileme,

Doktora çalışmalarım süresince hep yanımda olan, beni destekleyen ve varlığıyla bana güç katan sevgili eşime,

Doktora süresince “2211-A Yurt İçi Lisansüstü Doktora Burs Programı” kapsamında burs sağlayan TÜBİTAK'a; Öğretim Üyesi Yetiştirme Programına; Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine (Proje No: 13845) çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	4
2.1. Ayçiçeği.....	4
2.1.1. Taksonomisi ve Orijini.....	4
2.1.2. Morfolojisi, Gelişimi ve Ekolojisi.....	5
2.1.3. Ayçiçeği'nin Türkiye ve Dünya'da Ekimi ve Kullanım Alanları	8
2.1.4. Ayçiçeği Gelişimi Etkileyen Stres Faktörleri.....	9
2.2. Kuraklık	11
2.2.1. Bitkilerde Kuraklıkla Meydana Gelen Değişimler.....	13
2.2.1.1. Morfolojik Değişimler.....	13
2.2.1.2. Mekanik Değişimler.....	13
2.2.1.2.1. Su ve İyon Dengesindeki Değişimler.....	13
2.2.1.2.2. Membran Yapısında Değişimler.....	14
2.2.1.3. Metabolik Değişimler.....	14
2.2.1.3.1. Kuraklığın Fotosentetik Aktiviteye Etkisi.....	14
2.2.1.3.1.1. Stomatal Engellemeler.....	15
2.2.1.3.1.2. Stomatal Olmayan Engellemeler.....	16
2.2.1.3.2. Kuraklığın Solunum Metabolizması Üzerine Etkisi.....	16
2.2.1.4. Kuraklıkla İndüklenen Oksidatif Değişimler.....	17
2.2.1.4.1. Oksidatif Streste Üretilen ROS'lar.....	17
2.2.1.4.2. Oksidatif Streste ROS Detoksifikasyonu	19
2.2.1.4.2.1. Enzimatik Antioksidantlar.....	19
2.2.1.4.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidantlar.....	22
2.2.2. Kuraklık Stres Toleransında Yer Alan Fonksiyonel Metabolitler.....	25

2.2.2.1. İşlevsel Proteinler.....	25
2.2.2.1.1. Akuaporinler.....	25
2.2.2.1.2. LEA-tip Proteinler.....	25
2.2.2.1.3. Isı Şoku Proteinleri (HSP)	27
2.2.2.1.4. Osmolitler.....	27
2.2.2.1.5. Detoksifikasyon Enzimleri.....	29
2.2.2.2. Düzenleyici proteinler	29
2.2.2.2.1. Protein Kinazlar.....	29
2.2.2.2.2. Transkripsiyon Faktörleri.....	29
2.2.2.2.3. Küçük RNA'lar	31
2.2.3. Kuraklık ve Fitohormonlar.....	32
2.2.4. Kuraklıkla Meydana Gelen Proteom Değişimleri	32
2.2.4.1. Sinyal İletimi ile İlgili Proteom Değişimleri	36
2.2.4.2. Metabolik Yollarda Meydana Gelen Proteomik Değişimler	37
2.2.4.2.1. Savunma Metabolizması	37
2.2.4.2.2. Fotosentez, Fotosolunum ve Karbohidrat Metabolizması	39
2.2.4.2.3. Azot ve Protein Metabolizması	39
2.2.4.2.4. Yağ Asiti Metabolizması	40
3. MATERYAL ve METOD.....	41
3.1. Bitki materyali.....	41
3.2. Bitki Yetiştirme Yöntemi.....	41
3.3. I. Aşama: Kuraklığa Toleransın Belirlenmesi.....	42
3.3.1. Bitki Materyali.....	42
3.3.2. Uygulamalar.....	42
3.3.3. Ölçüm ve Analizler.....	44
3.3.3.1. Klorofil a Fluoresans Kinetikleri.....	44
3.3.3.2. Fizyolojik Ölçümler.....	49
3.3.3.2.1. Yaprak Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi.....	49
3.3.3.3. Biyokimyasal Ölçümler.....	49
3.3.3.3.1. Yapraklardaki Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi.....	49
3.3.3.3.2. Yapraklardaki İyon Sızıntısı Oranının Belirlenmesi.....	49
3.3.4. Puanlama.....	50

3.4. II. Aşama: Seçilen Genotiplerde Kuraklığa Toleransın Ayrıntılı Analizlerle İncelenmesi.....	51
3.4.1. Bitki Materyali.....	51
3.4.2. Uygulamalar.....	51
3.4.3. Ölçüm ve Analizler.....	52
3.4.3.1. Morfolojik Ölçümler.....	52
3.4.3.1.1. Bitki Boyu ve Yaprak Sayısı Ölçümleri.....	52
3.4.3.1.2. Taze ve Kuru Ağırlık Ölçümleri.....	52
3.4.3.2. Fizyolojik Ölçümler.....	53
3.4.3.2.1. Yapraklardaki Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi	53
3.4.3.3. Fotosentetik Ölçümler.....	53
3.4.3.3.1. Fotokimyasal Ölçümler.....	53
3.4.3.4. Biyokimyasal Ölçümler.....	54
3.4.3.4.1. Yaprak Dokularındaki Fotosentetik Pigment Miktarının Belirlenmesi	54
3.4.3.4.2. Yaprak Dokularında Malondialdehit (MDA) ve Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarının Belirlenmesi.....	54
3.4.3.4.3. Yaprak Dokularında Antosiyanin ve Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	55
3.4.3.4.4. Yaprak Dokularında Glisin Betain İçeriğinin Belirlenmesi	55
3.4.3.5. Antioksidan Enzim Aktivite Ölçümleri.....	56
3.4.3.5.1. Protein İçeriğinin Belirlenmesi.....	56
3.4.3.5.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	56
3.4.3.5.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	57
3.4.3.5.4. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	57
3.4.3.5.5. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	57
3.4.3.5.6. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	58
3.4.3.5.7. Aldoz Redüktaz (ALR) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	58
3.4.4. Puanlama.....	58
3.5. III. Aşama: Ayçiçeği Proteomundaki Değişimler.....	60
3.5.1. Bitki Materyali.....	60
3.5.2. Uygulamalar.....	60
3.5.3. Proteomik Analizler.....	61
3.5.3.1. Toplam Protein Ekstraksiyonu	61

3.5.3.2. Proteinlerin Çözdürülmesi ve Toplam Protein Miktarının Tayini.....	61
3.5.3.3. İki-yönlü poliakrilamid jel elektroforezi (2-D)	62
3.5.3.4. Jellerin Boyanması ve Görüntü Analizi	63
3.5.3.5. Jeldeki Proteinlerin Tripsin ile Kesimi.....	64
3.5.3.6. Kütle Spektrometresi Analizleri	64
3.5.3.7. Biyoinformatik Analizler.....	65
3.6. İstatistiksel Analizler.....	65
4. BULGULAR.....	66
4.1. Tezin I. Aşamasından Elde Edilen Bulgular.....	66
4.1.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Yapraklarda Fotokimyasal Etkinlik ...	66
4.1.1.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarındaki Fotosentetik Performans İndeksi (PI_{abs}).....	66
4.1.1.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarındaki Fotosentetik Toplam Performans İndeksi (PI_{top})	68
4.1.1.3. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında İncelenen Bazı JIP Testi Parametreleri	70
4.1.1.4. Kuraklık Faktör İndeksi (KFI)	76
4.1.1.4.1. PI_{abs} İçin Kuraklık Faktör İndeksi (KFI)	76
4.1.1.4.2. PI_{top} İçin Kuraklık Faktör İndeksi (KFI)	76
4.1.1.5. İyileşme Faktör İndeksi (IFI)	77
4.1.1.5.1. PI_{abs} İçin İyileşme Faktör İndeksi (IFI).....	77
4.1.1.5.2. PI_{top} İçin İyileşme Faktör İndeksi (IFI)	78
4.1.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Fizyolojik Ölçümler	78
4.1.2.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Nispi Su İçeriği (NSİ)....	78
4.1.3. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Biyokimyasal Ölçümler	80
4.1.3.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında Fotosentetik Pigment İçeriği.....	80
4.1.3.1.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında Toplam Klorofil (a+b) İçeriği	80
4.1.3.1.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında Karotenoid İçeriği	82
4.1.3.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında İyon Sızıntısı.....	84

4.1.4. Analizi Yapılan Parametreler Doğrultusunda Puanlama	86
4.2. Tezin II. Aşamasından Elde Edilen Bulgular	89
4.2.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Morfolojik Ölçümler	89
4.2.1.1. Bitki Boyu, Tolerans İndeksi ve İyileşme Potansiyelleri	89
4.2.1.2. Yaprak Sayısı	90
4.2.1.3. Taze Ağırlık, Tolerans İndeksi ve İyileşme Potansiyelleri	92
4.2.1.4. Kuru Ağırlık, Tolerans İndeksi ve İyileşme Potansiyelleri	93
4.2.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Fizyolojik Ölçümler	95
4.2.2.1. Yapraklardaki Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi	95
4.2.3. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Yapraklarda Fotokimyasal Etkinlik....	96
4.2.3.1. PSII'nin Potansiyel Fotokimyasal Etkinliği (F_V/F_M)	96
4.2.3.2. PSII'de O ₂ Oluşturan Kompleksin Etkinliği (F_V/F_0)	97
4.2.3.3. PSII'nin Gerçek Fotokimyasal Etkinliği (Φ_{PSII})	97
4.2.3.4. PSII'nin Enerji Yakalama Etkinliği (F_V'/F_M')	98
4.2.3.5. Elektron Taşıma Hızı (ETH)	99
4.2.3.6. Işık Enerjisinin Fotokimyasal Kullanımı (qP)	100
4.2.3.7. Işık Enerjisinin Fotokimyasal Olmayan Kullanımı (NPQ)	101
4.2.4. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Biyokimyasal Ölçümler	102
4.2.4.1. Yaprak Dokularındaki Toplam Klorofil Miktarı	102
4.2.4.2. Yaprak Dokularındaki Toplam Karotenoid Miktarı	103
4.2.4.3. Malondialdehit (MDA) Miktarı	104
4.2.4.4. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı	105
4.2.4.5. Antosiyanin İçeriği	106
4.2.4.6. Flavonoid İçeriği	107
4.2.4.7. Glisin Betain Miktarı	108
4.2.5. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri.....	109
4.2.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi.....	109
4.2.5.2. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesi	110
4.2.5.3. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesi	111
4.2.5.4. Peroksidaz (POD) Aktivitesi	112
4.2.5.5. Katalaz (CAT) Aktivitesi	114
4.2.5.6. Aldoz Redüktaz (ALR) Aktivitesi	115

4.2.6. II. Aşamada Analizi Yapılan Parametreler Doğrultusunda Puanlama....	116
4.3. Tezin Proteomik Aşamasından Elde Edilen Bulgular	120
4.3.1. Fotosentez ve Karbohidrat Metabolizması	121
4.3.2. Enerji ve Solunum Metabolizması	140
4.3.3. Savunma Metabolizması	141
4.3.4. Arjinin Metabolizması	145
4.3.5. Nükleotid Metabolizması	145
4.3.6. Yağ Asiti ve Glikolipid Metabolizması	145
4.3.7. Protein Metabolizması	145
4.3.8. Sinyal Metabolizması	149
4.3.9. Hücre Çeper Biyogenezi	149
4.3.10. Düşük Peptit Eşleşmesine Sahip Proteinler	149
5. TARTIŞMA.....	153
5.1. Ayçiçeği Çeşitlerinin Kuraklığa Tolerans Düzeylerinin Belirlenmesi.....	153
5.2. Seçilen Ayçiçeği Çeşitleri ile Atasal Melezlerin Kuraklık Toleranslarının Karakterizasyonu.....	159
5.3. Kuraklık ve İyileşme Uygulamalarında Ayçiçeği Proteomundaki Değişimler	166
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	179
KAYNAKLAR.....	183
ÖZGEÇMİŞ.....	216

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	2014 yılı verilerine göre dünyada en çok ayçiçeği üretimi yapılan ülkeler	9
Şekil 2.2.	Farklı şiddette ve süredeki kuraklığın etkilerini ve bitkilerin moleküler, fizyolojik ve morfolojik düzeyde uyarana nasıl tepki verdiğini gösteren akış şeması.....	12
Şekil 2.3.	Fotosentetik redoks sinyali ve ROS'ların detoksifikasyonunun şematik gösterimi	26
Şekil 2.4.	Bitkilerde hücrel dehidrasyonda anahtar role sahip farklı TF'lerinin transkripsiyonel düzenleme modeli	34
Şekil 3.1.	Orta ve şiddetli kuraklık uygulamaları ile iyileşme gruplarına ait deneme düzeni.....	43
Şekil 3.2.	a) HandyPEA cihazının genel görünümü, b) Biolyzer HP3 programı ile analiz görüntüsü ve c) Bitkiler tarafından sergilenen tipik polifazik klorofil a fluoresansı.....	44
Şekil 3.3.	JIP-Testinin ve enerji akışlarının şematik özeti.....	45
Şekil 3.4.	Kuraklık ve iyileşme uygulamasına ait deneme düzeni.....	52
Şekil 3.5.	Kontrol, kuraklık uygulaması ile iyileşme gruplarına ait deneme düzeni.....	60
Şekil 3.6.	Proteomik deneyin iş akış şeması.....	62
Şekil 4.1.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının performans indeksi (PI_{abs}) üzerine etkisi	67
Şekil 4.2.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının toplam performans indeksi (PI_{top}) üzerine etkisi	69
Şekil 4.3.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının $DI_0/RC-(A)$; $S_M-(B)$; $F_0-(C)$; $TR_0/ABS-(D)$; $ET_0/TR_0-(E)$ ve $PHI(E_0)-(F)$ üzerine etkisi.....	73
Şekil 4.4.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının $ABS/RC-(A)$; $RE_0/ABS-(B)$; $RE_0/ET_0-(C)$ ve $ET_0/RC-(D)$ üzerine etkisi.....	75
Şekil 4.5.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının nispi su içeriği (NSI) üzerine etkisi	79

Şekil 4.6.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının toplam klorofil (a+b) miktarı üzerine etkisi	81
Şekil 4.7.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının karotenoid miktarı üzerine etkisi	83
Şekil 4.8.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının yapraktaki iyon sızıntısı üzerine etkisi.....	85
Şekil 4.9.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde bitki boyu değişimi	90
Şekil 4.10.	Ayçiçeğinde bitki boyu tolerans indeksleri ile iyileşme potansiyelleri	91
Şekil 4.11.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde yaprak sayısı değişimi.....	91
Şekil 4.12.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde taze ağırlık değişimi	92
Şekil 4.13.	Ayçiçeğinde taze ağırlık tolerans indeksleri ile iyileşme potansiyelleri	93
Şekil 4.14.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde kuru ağırlık değişimi.....	94
Şekil 4.15.	Ayçiçeğinde kuru ağırlık tolerans indeksleri ile iyileşme potansiyelleri	94
Şekil 4.16.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yapraklarında nispi su içeriği	95
Şekil 4.17.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği (F_V/F_M)	96
Şekil 4.18.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde PSII'de O_2 oluşturan kompleksinin etkinliği (F_V/F_0)	97
Şekil 4.19.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliği ($\Phi PSII$)	98
Şekil 4.20.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde PSII'nin enerji yakalama etkinliği (F_V'/F_M')	99
Şekil 4.21.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde elektron taşıma hızı (ETH)	100
Şekil 4.22.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde ışık enerjisinin fotokimyasal kullanımı (qP)	101
Şekil 4.23.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde ışık enerjisinin fotokimyasal olmayan kullanımı (NPQ)	102

Şekil 4.24.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yapraklarındaki toplam klorofil miktarı	103
Şekil 4.25.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yapraklarındaki toplam karotenoid miktarı.....	104
Şekil 4.26.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki MDA miktarı	105
Şekil 4.27.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki H ₂ O ₂ miktarı	106
Şekil 4.28.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki antosiyanin içeriği	107
Şekil 4.29.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki flavonoid içeriği	108
Şekil 4.30.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki glisin betain miktarı	109
Şekil 4.31.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam SOD enzim aktivitesi	110
Şekil 4.32.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam APX enzim aktivitesi	111
Şekil 4.33.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam GR enzim aktivitesi.....	112
Şekil 4.34.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam POD enzim aktivitesi	113
Şekil 4.35.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam CAT enzim aktivitesi	114
Şekil 4.36.	Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında ALR enzim aktivitesi	115
Şekil 4.37.	Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarında protein ve peptit skorları ile tanımlanan proteinlerin işlevlerine göre sınıflandırılması.....	121
Şekil 4.38.	Ortak veya farklı ifade düzeyleri ile ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarında yaprak dokusunda tanımlanan proteinlerin aksasyon numaraları ile venn diyagramında gösterimi.....	122

Şekil 4.39.	Tarsan-1018 genotipinde (A) kontrol, (B) stres ve (C) iyileşme uygulamalarında tanımlanan 23 adet protein beneği.....	123
Şekil 4.40.	Tunca genotipinde (A) kontrol, (B) stres ve (C) iyileşme uygulamalarında tanımlanan 24 adet protein beneği.....	124
Şekil 4.41.	<i>Helianthus agrophyllus</i> genotipinde (A) kontrol, (B) stres ve (C) iyileşme uygulamalarında tanımlanan 23 adet protein beneği.	125
Şekil 5.1.	KEGG veri tabanı kullanılarak genotiplerde tanımlanan ve fotosentezin ışık reaksiyonunda görev alan proteinler	171
Şekil 5.2.	KEGG veri tabanı kullanılarak genotiplerde tanımlanan ve fotosentezin karbon fiksasyonunda görev alan proteinler	174
Şekil 5.3.	Ayçiçeğinde tanımlanan proteinlerin <i>Arabidopsis</i> 'te özdeşlerinin etkileşimleri ve yer aldıkları metabolizmalar	178

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1.	Ayçiçeği bitkisinin (<i>Helianthus annuus</i> L.) gelişim evreleri	7
Çizelge 2.2.	Ayçiçeğini etkileyen biyotik stres faktörleri, buna neden olan etmenler ve etki bölgeleri	11
Çizelge 2.3.	Farklı reaktif oksijen türleri ve özellikleri	20
Çizelge 2.4.	Farklı ROS uzaklaştırıcı antioksidanlar ve katalize ettikleri reaksiyonlar.....	24
Çizelge 2.5.	Bitkilerde kuraklıkla indüklenen transkripsiyon faktörleri.....	30
Çizelge 2.6.	Kuraklıkla indüklenen fitohormonlar.....	35
Çizelge 3.1.	Tez çalışmasında kullanılan ayçiçeği genotipleri.....	41
Çizelge 3.2.	Tez çalışmasında kullanılan deneme toprağının bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.....	42
Çizelge 3.3.	JIP-testinde kullanılan bazı terimlerin, tanımlamaların ve formüllerin özeti	47
Çizelge 3.4.	III. aşamada kullanılan ayçiçeği genotipleri.....	60
Çizelge 4.1.	Kuraklık ve iyileşme uygulanan ayçiçeği çeşitlerinde PI_{abs} 'den hesaplanan kuraklık faktör indeksleri (KFI).....	76
Çizelge 4.2.	Kuraklık ve iyileşme uygulanan ayçiçeği genotiplerinde PI_{top} 'dan hesaplanan kuraklık faktör indeksleri (KFI).....	77
Çizelge 4.3.	Kuraklık ve iyileşme uygulanan ayçiçeği genotiplerinde PI_{abs} 'den hesaplanan iyileşme faktör indeksleri (IFI).....	77
Çizelge 4.4.	Kuraklık ve iyileşme uygulanan ayçiçeği genotiplerinde PI_{top} 'dan hesaplanan iyileşme faktör indeksleri (IFI).....	78
Çizelge 4.5.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen performans indeksleri ile (PI_{abs} ve PI_{top}) hesaplanan kuraklık ve iyileşme faktör indekslerine göre puanlanma, toplam puanlar ve sıralama.....	86
Çizelge 4.6.	Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen pigment içeriği, iyon sızıntısı ve nispi su içeriği ile hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlanma, toplam puanlar ve sıralama.....	87

Çizelge 4.7.	Ayçiçeği çeşitlerinde I. aşamada kullanılan tüm parametrelerden elde edilen toplam puanlar ve çeşitlerin kuraklığa toleransa göre sıralaması.....	88
Çizelge 4.8.	Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen morfolojik ve fizyolojik parametrelerden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlama ve toplam puanlar	117
Çizelge 4.9.	Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen fotosentetik parametrelerden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlama ve toplam puanlar	117
Çizelge 4.10.	Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen biyokimyasal parametrelerden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlama ve toplam puanlar.....	118
Çizelge 4.11.	Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen antioksidan parametrelerden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlama ve toplam puanlar	118
Çizelge 4.12.	Ayçiçeği genotiplerinden II. aşamada kullanılan tüm parametrelerden elde edilen toplam puanlar ve çeşitlerin kuraklığa toleransına göre sıralaması	119
Çizelge 4.13.	Ayçiçeği genotiplerinden II. aşamada kullanılan tüm parametrelerden elde edilen toplam puanlara göre genotiplerin sıralaması.....	120
Çizelge 4.14.	Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan fotosentez ve karbohidrat metabolizmasına ait proteinler.....	128
Çizelge 4.15.	Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan enerji ve solunum metabolizmasına ait proteinler.....	142
Çizelge 4.16.	Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan savunma metabolizmasına ait proteinler.....	143

Çizelge 4.17.	Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan arjinin metabolizması, nükleotid metabolizması ile yağ asiti ve glikolipid metabolizmasına ait proteinler.....	146
Çizelge 4.18.	Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan protein metabolizmasına ait proteinler.....	148
Çizelge 4.19.	Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan sinyal metabolizması ve hücre çeper biyogenezi ile ilişkili proteinler.....	150
Çizelge 4.20.	Ayçiçeği genotiplerinde düşük peptit skoruna sahip proteinler	151
Çizelge 5.1.	Ayçiçeğinde tanımlanan proteinlere <i>Arabidopsis</i> 'te özdeş olan proteinler ile gen isimleri.....	177



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat derece
%	Yüzde
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
m	Metre
m ²	Metrekare
mA	Miliamper
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
MPa	Megapaskal
MA	Moleküler ağırlık
L	Litre
Log	Logaritma
pI	İzoelektrik noktası
ppm	Milyonda bir birim
rpm	Dakikadaki devir sayısı
s	Saniye
V	Volt
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol
µs	Mikro saniye
µS	Mikrosimens

Kısaltmalar

ABS/RC	Aktif reaksiyon merkezinin verimli anten büyüklüğü
ACN	Asetonitril
ANOVA	Varyans analizi (Analyses of variance)
ALR	Aldoz redüktaz
AOX	Alternatif Oksidaz
AÖF	Anlamli önemli fark
APX	Askorbat peroksidaz
AsA	Askorbik asit
ATP	Adenozin trifosfat
BBTI	Bitki boyu tolerans indeksi
BSA	Sığır serum albümini (Bovine serum albumin)
CAT	Katalaz
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
DI ₀ /RC	Fotokimya dışında enerji dağılımı
DTT	Dikloro difenil trikloroethan
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
ETH	Elektron taşıma hızı
ET ₀ /ABS(ϕE_0)	Elektron transportunun maksimum verimi (PHI(E ₀))
ET ₀ /RC	Reaksiyon merkezi başına elektron transportu
ET ₀ /TR ₀ (ψ_0)	Q _A ⁻ 'dan elektron transport zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliğini
F ₀	Karanlığa adapte olmuş yapraklardaki minimum fluoresans
F _V /F _M (ϕ_{P_0})	PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği (TR ₀ /ABS)
F _V /F ₀	PSII'de O ₂ oluşturan kompleksin etkinliği
F _V '/F _M '	PSII'nin eksitasyon enerjisini yakalama etkinliği
GAPDH	Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	İndirgenmiş glutasyon
GSSG	Yükseltgenmiş glutasyon
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HA	Turgor durumundaki ağırlık (Hidrate ağırlık)
HCl	Hidroklorik asit
KA	Kuru ağırlık
KATI	Kuru ağırlık tolerans indeksi
KFI	Kuraklık faktör indeksi
IEF	İzoelektrik fokuslama

IFI	İyileşme faktör indeksi
IP	İyileşme potansiyeli
IPG	İmmobilize pH gradiyent
KH_2PO_4	Potasyum di hidrojen fosfat
MDA	Malondialdehit
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
MgCl_2	Magnezyum klorür
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid
Na_2EDTA	Di sodyum etilendiamin tetraasetik asit
NBT	Nitrobluetetrazolyum
NH_4NO_3	Amonyum nitrat
NPQ	Fotokimyasal olmayan kullanım
NSİ	Nispi su içeriği
$\text{O}_2^{\cdot -}$	Süperoksit radikali
$^1\text{O}_2$	Tekli oksijen
$\text{OH}^{\cdot}$	Hidroksil radikali
$\text{PI-PI}_{\text{abs}}$	Performans indeksi
PI_{top}	Toplam performans indeksi
PMSF	Fenil metil sülfonil florid
POD	Peroksidaz
PSI	Fotosistem I
PSII	Fotosistem II
PVP	Polivinilpirolidon
$\text{RE}_0/\text{ABS} (\phi R_0)$	$\text{Q}_\text{A}^{-\cdot}$ 'dan ferrodoksine elektron transportunun kuantum verimi
$\text{RE}_0/\text{ET}_0 (\delta R_0)$	İndirgenmiş sistemler arası elektron alıcılarının bir elektronu PSI son elektron alıcılarına hareket ettirme etkinliği
ROS	Reaktif oksijen türleri
qP	Fotokimyasal kullanım
SDS	Sodyum dedosil sülfat
SDS-PAGE	Sodyum dedosil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi
S_M	Reaksiyon merkezi başına toplam elektron taşıyıcıları
SOD	Süperoksit dismutaz
SPSS	Sosyal bilimler için istatistik paket programı (Statistical Package for the Social Sciences)
TA	Taze ağırlık
TATI	Taze ağırlık tolerans indeksi
TBA	Tiyobarbütirik asit
TCA	Trikloroasetik asit

TEMED	Tetra metil etilen diamin
TFA	Trifloroasetik asit
UV	Ultraviyole
V_{cmax}	Maksimum karboksilasyon oranı
Φ_{PSII}	PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliği
β -ME	β -merkaptotanol



1. GİRİŞ

Günümüzde azalan yağış miktarı, artan sıcaklıklar ve/veya buna bağlı sürekli buharlaşma ile su kaybı ve toprakta kullanılabilir su miktarının azalması ile ortaya çıkan kuraklık, bitkiler tarafından yaygın olarak karşılaşılan en önemli abiyotik stresler arasında yer almaktadır [1, 2]. Bu bağlamda küresel iklim değişikliği ile birlikte kuraklığın bitkiler üzerindeki etkilerini anlamak iklim değişikliğine adapte olabilen ve topraktaki sınırlı düzeydeki su varlığında yaşam döngüsünü tamamlayabilen dayanıklı bitki çeşitleri üretmek ve kuraklığa toleranslı bitkiler geliştirmek zorunlu hale gelmiştir [3-5]. Son yıllarda iklimde meydana gelen değişimler sonucunda 21. yüzyılın sonunda sıcaklıkların birkaç derece daha artacağı ve orta enlemlerdeki bölgelerde su düzeyinin daha da azalacağı ve bunun sonucunda kuraklığın etkisinin daha şiddetli hissedileceği iklimsel modelleme çalışmaları ile ortaya konulmuştur [6].

Yüksek düzeyde doymamış yağ asitleri içeren ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) dünya çapında 26 milyon hektar üretimi ve özellikle yağ üretimi için ıslah çalışmalarındaki önemi nedeniyle *Helianthus* cinsi içerisinde yer alan en önemli türdür [7]. Kolza ve soyadan daha yüksek yağ içeriğine sahip olan ayçiçeği bitkisi yaklaşık olarak %70 oranında linoleik ve %20 oranında oleik asit içeriğine sahiptir. Ayçiçeği tohumlarında yağ içeriğine ek olarak protein, selüloz ve mineral madde düzeyi de yüksektir [8]. Kuzey Amerika'dan köken alan ayçiçeği günümüzde dünyanın birçok bölgesinde ekim alanına sahip olmakla birlikte, ülkemizde yağlı tohumlu bitkiler içinde ekim alanı ve üretim miktarı bakımından birinci sırada yer almaktadır [9]. Ülkemizde üretilen yağlı tohumlu bitkiler içerisinde önemli payı olan ayçiçeğinde verim ve kalitedeki düşüş, bitkinin gelişim sürecinde biyotik (mantar, pas, külleme, mildiyö, orobanş, *Sclerotonia* enfeksiyonu gibi) ve abiyotik (kuraklık, sıcaklık ve tuz gibi) stres faktörleri ile karşı karşıya kalmaktadır. Diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi ayçiçeğinde de tane ve yağ verimini etkileyen en önemli faktörlerden birisi toprakta köklerin ulaşabileceği derinlikte bitkilerin faydalanabileceği yeterli miktarda suyun bulunup bulunmamasıdır. Derin bir kök sistemine sahip olan ayçiçeği, kısa süreli su stresine karşı toleranslı [10, 11] olmasına karşın bitkinin toleransı kuraklığın olduğu gelişim evresine bağlı olarak değişim göstermektedir. Çiçeklenme öncesi ve sonrasındaki 20 gün ayçiçeğinde su stresi bakımından son derece önemli tarihlerdir ve bu zaman diliminde su stresine

maruz kalma ayçiçeğinde yağ yüzdesi, protein oranı ve verimi önemli oranda etkilemektedir [12]. Ülkemizde ayçiçeği tarımı yapılan bölgelerde, bitkinin yetiştiği dönemde toprağa yeterince yağış düşmemesine bağlı olarak meydana gelen kuraklık zararı, verimin önemli ölçüde azalmasına neden olmaktadır [13]. Ayçiçeği verimi ve kalitesini artırmak amacıyla ülkemizde yetiştirilen genotiplerin kuraklığa toleransları ile ilgili bilimsel temellerin aydınlatılması ayçiçeği üretimine katkıda bulunacaktır.

Bu tez kapsamında, ülkemizde yetiştirilen tescilli ayçiçeği çeşitleri ve kuraklığa dayanıklı olduğu tespit edilmiş atasal tür olan *Helianthus agrophyllus*'un kuraklığa verdikleri morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yanıtların incelenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu araştırmadan elde edilen çıktılar ile ayçiçeğinde kuraklığa toleransta rol oynayan mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu bağlamda, kuraklığın ve kuraklığı takiben sulama uygulamalarının (iyileşme) ayçiçeğinde bitki gelişimine etkileri ve ayçiçeğinin oluşturduğu kuraklık cevapları 3 aşamada incelenmeye çalışılmıştır:

1. Aşamada: 9 tescilli ayçiçeği çeşidinin kuraklığa karşı toleransları; 2 farklı kuraklık uygulaması (orta -7 gün- ve şiddetli -9 gün- kuraklık) ve kuraklığın devamında sulama (5 gün) ile polifazik klorofil a floresansı, su içeriği ve fotosentetik pigment ile membran hasar düzeyleri ölçülerek belirlenmiştir. Çeşitler bu analizlerden elde edilen sonuçlardan yapılan puanlamaya bağlı olarak kuraklığa tolerans düzeylerine göre sınıflandırılmıştır.

2. Aşamada: Bir önceki aşamada belirlenen dayanıklı (Tarsan-1018 ve Şems), orta düzeyde dayanıklı (Tunca) ve hassas (Kaan) çeşitleri ile birlikte atasal tür melezleri olan *Helianthus annuus* x *Helianthus agrophyllus* ve *Helianthus annuus* x *Helianthus deserticola*'da kuraklık (9 gün) ve iyileşmenin etkisi morfolojik, fotosentetik, fizyolojik ve biyokimyasal ölçümler ile antioksidan enzim aktivitelere bağlı olarak karakterize edilmiştir.

3. Aşama: Genotiplerin gen ve/veya protein ifade profillerinin kuraklık stresine karşı oluşturdukları cevapların karşılaştırılması amacıyla duyarlı (Tunca) ve dayanıklı (Tarsan-1018) genotipleri ile atasal tür *Helianthus*

agrophyllus'un protein profillerindeki değişimler, iki boyutlu jel elektroforezi ile proteinlerin ayrımı gerçekleştirilmiş ve sonrasında MALDI-TOF/TOF MS-MS ile de proteinlerin tanımlanması yapılmıştır. Elde edilen veriler biyoinformatik analizler ile değerlendirilmiştir.



2. GENEL BİLGİ

2.1. Ayçiçeği

2.1.1. Taksonomisi ve Orijini

Ilıman ve subtropikal iklim bölgelerindeki 72 ülkede yetiştirilen ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) [14]; soya fasulyesi, kolza ve yer fıstığından sonra dünyada en fazla ekilen yağlı tohumlu bitkilerden biridir. Ayçiçeği, taksonomik olarak çiçekli bitkilerde *Asterales* takımına ait *Asteraceae* familyasının *Helianthus* cinsinde yer alır. *Helianthus* cins ismi Yunanca'da *helios* (güneş) ve *anthos* (çiçek) kelimelerinden köken almıştır. Yapılan son sınıflandırmaya göre bu cins; 14 tek yıllık ve 37 çok yıllık tür içermektedir [15, 16].

Ayçiçeğinde kültüre alınmış tüm tek yıllık türler, yabani türler gibi diploid iken ($2n = 2x = 34$); çok yıllık olanlar genellikle tetraploid ($2n = 4x = 68$) veya hekzaploiddir ($2n = 6x = 102$). Ayçiçeğinin tahmin edilen genom boyutu 3000 Mbp olup bu boyut *Arabidopsis*, pirinç, darı, soya ve domates ile karşılaştırıldığında oldukça büyüktür [17].

Morfolojik, coğrafik, moleküler ve arkeolojik veriler Kuzey Amerika yerlileri tarafından besin, ilaç ve renklendirici olarak kullanılan ayçiçeğinin; Orta Amerika'dan Amerika Birleşik Devletleri'nin tamamına ve güney Kanada'ya kadar uzanan bölgede yaklaşık 4000 ila 5000 yıl önce kültüre alındığını göstermektedir [18, 19]. 1510'da Amerika'nın keşfinden sonra İspanyol kaşifler ayçiçeğini Avrupa'ya Madrid'deki Botanik bahçesine getirmişlerdir. Ayçiçeğine dair ilk basılı kayıt 1568'de zamanın ünlü bitki bilimcilerinden Belçikalı Rembert Dodoens'e aittir. Avrupa'ya girişinden sonra, iki yüzyıldan daha uzun süre süs bitkisi olarak kullanılan ayçiçeğinin endüstriyel amaçla kullanımına dair ilk kanıt 1716'da İngiltere'de bitkinin tohumlarından yağ ekstraksiyonu için patent başvurusuna aittir. Ayçiçeği ancak, 1697 yılında Rusya'da yağlık amaçla kullanılan bir bitki olmuştur [12].

Helianthus cinsi; verim, abiyotik ve biyotik stres direnci gibi tarımsal açıdan önemli özellikler ve faydalı allelik varyasyonları içeren 51 yabani tür içerir [20]. Rieseberg ve Seiler [21], yaptıkları RFLP analizinde kültüre alınmış ayçiçeği genotiplerinin kültürleşme sürecinde tek bir orijinden geldiğini, bu hatların düşük allozim değişkenliği gösterdiği ve hepsinin tek bir cpDNA ile karakterize edildiğini belirlemiştir [22]. Ayrıca kültüre alınmış ayçiçeğinin gen havuzu ile yabani ayçiçeği populasyonları arasında %40-50 nükleotid farklılığı bulunmaktadır [19].

Bitki biliminde güneşi izlemeyi ve çiçeklenme gelişimini anlamak için model bir bitki olan ayçiçeği [23], nispeten kısa yetiştirme dönemine sahip olma özelliği ile temel endüstriyel bitkilerinden birini temsil eder [24]. Ayrıca, iklim değişikliğine adaptasyon bakımından umut veren küresel bir yağ bitkisi olup, kuraklık da dâhil olmak üzere çok çeşitli çevre koşullarında toleransını sürdürebilen bir bitkidir.

2.1.2. Morfolojisi, Gelişimi ve Ekolojisi

Ayçiçeği yaklaşık 150-200 cm boya sahip [bazı yabani türler 4-5 metreye ulaşabilirken yarı cüce (100-150 cm) ya da cüce (50-100 cm) genotiplerde mevcuttur] uzun bir bitkidir. Bitkinin boyu iklim ve toprak koşullarına bağlı olup, kuraklık ya da besin elementlerinin eksik olması durumunda önemli ölçüde azalır. Uzun boyun en önemli avantajları verimi pozitif yönde etkilemesidir ve pek çok çalışmada boy uzunluğu önemli bir verim kriteri olarak belirtilmiştir [22].

Yabani ayçiçeği türlerinin çoğu uç kısmında nispeten daha küçük çiçekler bulunan birden fazla sapa sahip olan kapitulumlara; kültüre alınmış ayçiçeği ise çok sayıda aken içeren tek ve büyük başlı kapitulumlara sahiptir. Ayçiçeğinin tabla şekli içbükeyden dışbükeye doğru olup, eğilimi toprak yönündedir. Tabla çapı ayçiçeği bitkisinde genel olarak 18-25 cm aralığında değişirken, bu aralık tüm genotiplerde 5-50 cm arasında değişkenlik gösterebilir. Ayrıca ayçiçeğinde önemli verim parametrelerinden biri olan tabla çapı, bitki boyuna benzer şekilde çevresel koşullardan önemli ölçüde etkilenmektedir [22]. Ayçiçeği tablası tek bir çiçek değil, karşılıklı olarak tabla zeminine bağlanan 1.000 ila 2.000 bireysel çiçekten oluşur. Kendine fertil olmayan ayçiçeği, polenlerin aktivitesi ve dölleme için başta bal arısı olmak üzere böceklerle ihtiyaç duymaktadır [25].

Ayçiçeği hem derin hem de geniş yayılım gösteren karakterize bir kök sistemine sahiptir ve bu durum su ve besin alımı açısından kolaylık sağlar. Yaprak gelişimi ile karşılaştırıldığında ayçiçeğinde kök sisteminin büyümesi daha hızlıdır ve herhangi bir sınırlayıcı faktör olmadığı zaman kökler suya ulaşabilmek için 3 metreden daha derinlere kadar uzayabilmektedir. Su ve besin emilimi ise kök sisteminin yapısı (sayısı, uzunluğu ve her bir kök ekseninin pozisyonu) ile yakından ilgilidir [26].

Ayçiçeğinin yaşam döngüsü boyunca geçirdiği fenolojik aşamalar, temelde vejetatif ve üreme aşamaları olarak sınıflandırılmış ve tanımlanmıştır (Çizelge 2.1) [27]. Kültüre alınmış ayçiçeği genellikle 60-70 günde çiçeklenme evresine, 80-100 günde

ise fizyolojik olgunluğa erişir ve toplam yetiştirme süresi genetik yapısı ve yetiştiği çevresel koşullara bağlı olarak 125-130 gün arasında değişmektedir.

Tohum ve kabuktan oluşan ayçiçeği akenleri, kolza ve soyadan daha yüksek yağ içeriğine (%44) sahiptir ve tohumlarında %18 protein, %15 selüloz, %9 su ve karbohidrat ile %14 mineral bulunur [8]. Ayçiçeği tohumu yaklaşık %70 oranında çoklu doymamış linoleik asit (C18:2) ve %20 oranında tekli doymamış oleik asit (C18:1) içerir. Çevresel koşullara bağlı olarak yağ asitlerinin konsantrasyonları değişkenlik gösterse de, tohumdaki yağ içeriğinin yaklaşık %90'ını oleik ve linoleik asit; geriye kalan %10'luk kısmını ise palmitik asit (C16:0) ve stearik asit (C18:0) oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra ayçiçeğinde ortalama tokoferol içeriği 700-1000 mg/kg olup bunun %90'ını α -tokoferol oluşturmaktadır [12]. Ayçiçeğinde yağ kalitesi; yağ asiti kompozisyonu ile tokoferoller, steroller, karotenoidler ve diğer bileşenlerin seviyeleri tarafından belirlenir. Ayrıca ayçiçek yağı kalsiyum, fosfor, nikotinik, asit, vitamin E, B1, B3 ve B6 vitaminleri bakımından iyi bir kaynaktır [22, 28, 29].

Ayçiçeğinde yağ verimi (tane sayısı, tane ağırlığı ve tanenin yağ içeriği) ve kalitesi (yağ asiti kompozisyonu) genetik olarak belirlenmekle birlikte, çevresel faktörlerden de etkilenmektedir. Toplam yetiştirme sürecinde ayçiçeği 500-600 mm'lik yağışa ihtiyaç duyar ve su ihtiyacı bakımından çiçeklenme öncesi ve sonrasındaki 20 gün en önemli dönemdir. Bu dönemlerde bitkinin su stresine maruz kalması verimi olumsuz yönde etkilenmektedir. Ayçiçeğinin su kullanım etkinliği, % 20'sini çimlenmeden tabla oluşumu arasındaki evrede, % 60'ını çiçeklenme ve tabla oluşumu evrelerinde ve geri kalan % 20'sini ise yağ dolum evresinde belirlenmiştir [13].

Ayçiçeği, mineral element miktarının yeterli olduğu, derin ve yüksek su tutma kapasitesine sahip topraklarda ve yeterli ışık koşullarında (PAR) yüksek verim potansiyeline sahiptir [30]. Ayçiçeği 6 makroelement (N, P, K, Ca, Mg ve S) ile 7 mikro elemente (Fe, Mn, Zn, Cu, B, Cl ve Mo) ihtiyaç duyar. Bu elementlerin alımı toprak su içeriği, elementlerin toprakta yayılabilirliği (pH 6.5-7.5) ve kökün durumu ile ilişkilidir [22].

Çizelge 2.1. Ayçiçeği bitkisinin (*Helianthus annuus* L.) gelişim evreleri ([27]'den modifiye edilmiştir).

Evre	Tanımlama	
Vejetatif Evreler	VE Vejetatif Olusum)	
	V (V-1, V-2, V-3 gibi)	
Üreme Evreleri	R-1	
	R-2	
	R-3	
	R-4	
Üreme Evreleri	R-5 (R-5.1, R-5.2, R-5.3, gibi ondalık sistem ile ifade edilir)	  

R-6 Çiçeklenme tamamlanır ve ışınsal çiçekler dökülmeye başlar.



R-7 Tablanın arka yüzü soluk sarıya dönüşmeye başlar.



R-8 Tablanın arka kısmı sarıdır, ancak brakteler yeşil kalır.



R-9 Brakteler sarı ve kahverengi olur ve bu aşama fizyolojik olgunluk olarak kabul edilir.

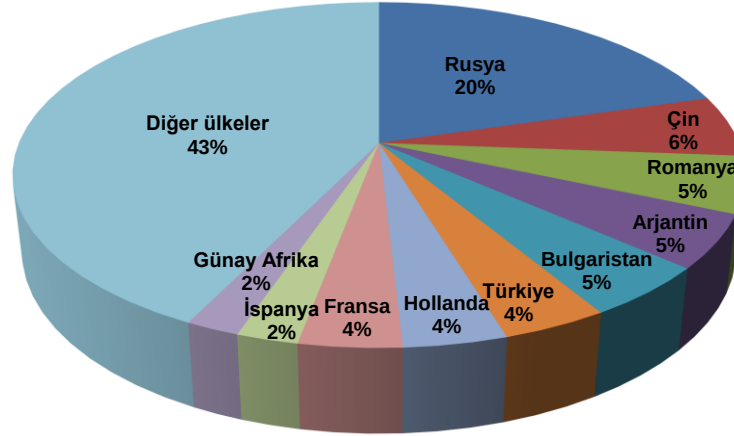


Geniş olan ayçiçeği yaprakları fototropik olup güneşi 12 derecelik açı ile takip eder. Ayçiçeğinin fotoperiyoda verdiği cevap biraz karmaşık olup; bitkiler fotoperiyottan etkilenmediği çiçek oluşum evresine kadar uzun gün ışığına ihtiyaç duyarken, çiçeklenmenin başladığı dönem ile çiçeklenme evresinde kısa gün ışığına ihtiyaç duyarlar. Ayrıca fotoperiyoda duyarsız bazı genotipler de bulunmaktadır [31].

Ayçiçeği tohumları ortalama 5°C'de çimlenebilmektedir, ancak yeterli çimlenmenin ve gelişimin olması için en az 14 ila 21°C arasındaki sıcaklıklara ihtiyacı olup toplam yetiştirme sürecinde 2600-2850°C sıcaklığa gereksinim duyar [32]. Ülkemizde ayçiçeğinin genellikle Mart sonu ile Mayıs ortasında yazlık olarak ekimi yapılmaktadır. Ayçiçeğinin yetiştirilmesi için optimum sıcaklık aralığı 23-28°C olmasına rağmen 34 °C'ye kadar çıkabilen sıcaklıklar bitkinin verimliliği üzerinde çok önemli değişikliklere neden olmaz [32].

2.1.3. Ayçiçeği'nin Türkiye ve Dünya'da Ekimi ve Kullanım Alanları

Yağlık yetiştirilen bitkiler içerisinde dünyada 4. sırada yer alan ayçiçeği, Avrupa'da kolza ile birlikte yetiştirilen en önemli 2 bitki arasında yer almaktadır [12]. FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)'nun verilerine göre 2014 yılında dünyada



Şekil 2.1. 2014 yılı verilerine göre dünyada en çok ayçiçeği üretimi yapılan ülkeler [9].

ayçiçeği üretim sıralamasında Türkiye 6. sırada yer almaktadır (Şekil 2.1). Ülkemizde yağlık ayçiçeği ekimi çoğunlukla Trakya bölgesinde (%47,2) yapılmakta olup, Orta Karadeniz (%12), Kıyı Ege ve Çukurova (%8,7) bölgelerine ek olarak son yıllarda İç Anadolu (%29,2) Bölgesi'nde önemli bir artış söz konusudur [30, 33].

Ayçiçeği içerdiği yüksek oranda doymamış yağ asitleri seviyesi ile gıda sektöründe yağ üretimi ve çerezlik için kullanımlarının yanısıra sabun, deterjan, yağlı boya, vernik, kâğıt, plastik, kozmetik ürünler için hammadde sanayinde değerlendirilmekte ve ayrıca sapları da yakacak olarak kullanılmaktadır [30]. Ayçiçeği bitkisinin yağ üretimi sonrasında elde edilen yüksek oranında protein içeren küspesi ise hayvan beslenmesinde yem olarak kullanılmaktadır. Öte yandan ayçiçeği son yıllarda gıda dışında biyodizel üretiminde kullanımıyla da enerji sektörü açısından önemli bir hammadde haline gelmiştir [30]. Park ve bahçelerde ayçiçeğinin süs bitkisi olarak kullanımları da mevcut olup, kurak alanlarda buğday ile sulak alanlarda ise pancar, legümenler ve mısır ile ekim nöbeti için de kullanılmaktadır [32].

2.1.4. Ayçiçeği Gelişimini Etkileyen Stres Faktörleri

Ayçiçeği, çevresel değişkenlerin yağ bileşimi üzerindeki etkisini incelemek açısından model bir bitki olarak sıklıkla kullanılmaktadır [34]. Ayçiçeği genellikle marjinal topraklarda ve yarı kurak koşullarda başarıyla yetiştirilebilir ve diğer tarla bitkilerine kıyasla abiyotik streslere karşı daha dayanıklı olduğu bildirilmiştir [35]. Ayçiçeğinde büyüme, gelişme, verim ile ürün kalitesi birçok abiyotik ve biyotik stres faktöründen etkilenmektedir.

Ayçiçeği hem düşük hem de yüksek sıcaklıklara toleranslı bir bitki olmasına rağmen düşük sıcaklıklara karşı toleransı daha yüksektir. Bitki topraktan yüzeye çıkış evresinde özellikle yüksek toprak sıcaklığına karşı aşırı duyarlıdır. Ayçiçeği bitkisinin olgunlaşma dönemi öncesinde ihtiyaç duyduğundan daha düşük sıcaklıklara maruz kalması bitkinin ölmesine neden olabilir. Ayrıca sıcaklık özellikle tane dolum evresinde ayçiçeğinde yağ kalitesini etkileyen en önemli faktör olup aşırı yüksek sıcaklıklar yağ yüzdesini, çimlenme ve tane dolumunu azaltmaktadır [36]. Soğuğa dayanıklı bir bitki olan ayçiçeği 4 ila 6 yapraklı evreye kadar dondan zarar görmese de -4°C altındaki sıcaklardan önemli oranda etkilenir. Ayrıca ayçiçeğinin bir diğer abiyotik stres faktörü olan tuzluluğa karşı toleransı düşük olmasına rağmen tuzlu koşullara karşı diğer yağlı bitkilere göre daha iyi performans göstermektedir [22].

Ülkemizde ayçiçeği genelde kurak şartlarda ve yazın yetiştirildiğinden, sıcak dönemlerde hüküm süren olumsuz iklim koşulları bitkinin verimini önemli ölçüde etkilemektedir [37]. Diğer yağ bitkileri ile karşılaştırıldığında ayçiçeği etkili ve gelişmiş kök sistemi, düşük suyu tolere edebilen yaprakları ile gövdesindeki tüyler sayesinde su stresine karşı daha iyi adaptasyon gösterir. Bununla birlikte su, ayçiçeği büyümesi için en sınırlayıcı faktördür [38].

Abiyotik stres faktörleri gibi birçok biyotik stres faktörü de ayçiçeğinin verimini önemli düzeyde etkilemektedir. Ayçiçeğini etkileyen biyotik stres faktörleri tüm bitkiyi etkileyen, yeşil yaprak alanını etkileyen ve doğrudan kapitulumu etkileyen biyotik stres faktörleri olmak üzere 3 grup altında toplanmış ve Çizelge 2.2’de açıklanmıştır [26].

Yabani ayçiçeği genotipleri ve bunların akrabaları bitki ıslah çalışmalarında kuraklığa, aşırı tuzluluk ve mineral yetersizliği gibi abiyotik stresler ile biyotik etmenlere toleransta pek çok önemli gen kaynağına sahiptir. *H. anomalus* ve *H. deserticola* çöl koşullarına adaptasyonları nedeniyle kuraklığa tolerans genleri bakımından mükemmel birer aday olduğu bildirilmektedir [15]. Benzer şekilde tek bir baskın gen tarafından kontrol edilen ve transpirasyonu azaltan ve güneş ışığını yansıtan tüylü ve gri (görünümlü) yaprak yapısına sahip *H. agrophyllus* su kullanım etkinliğini artırmak için faydalı özelliklere sahip bir gen kaynağı olarak önerilmektedir [39]. *H. paradoxus*’un ise sukkulent yaprak yapısı ve yaprakta sodyumu ayırabilme kapasitesi ile yüksek tuz toleransına sahip olduğu tespit edilmiştir [40].

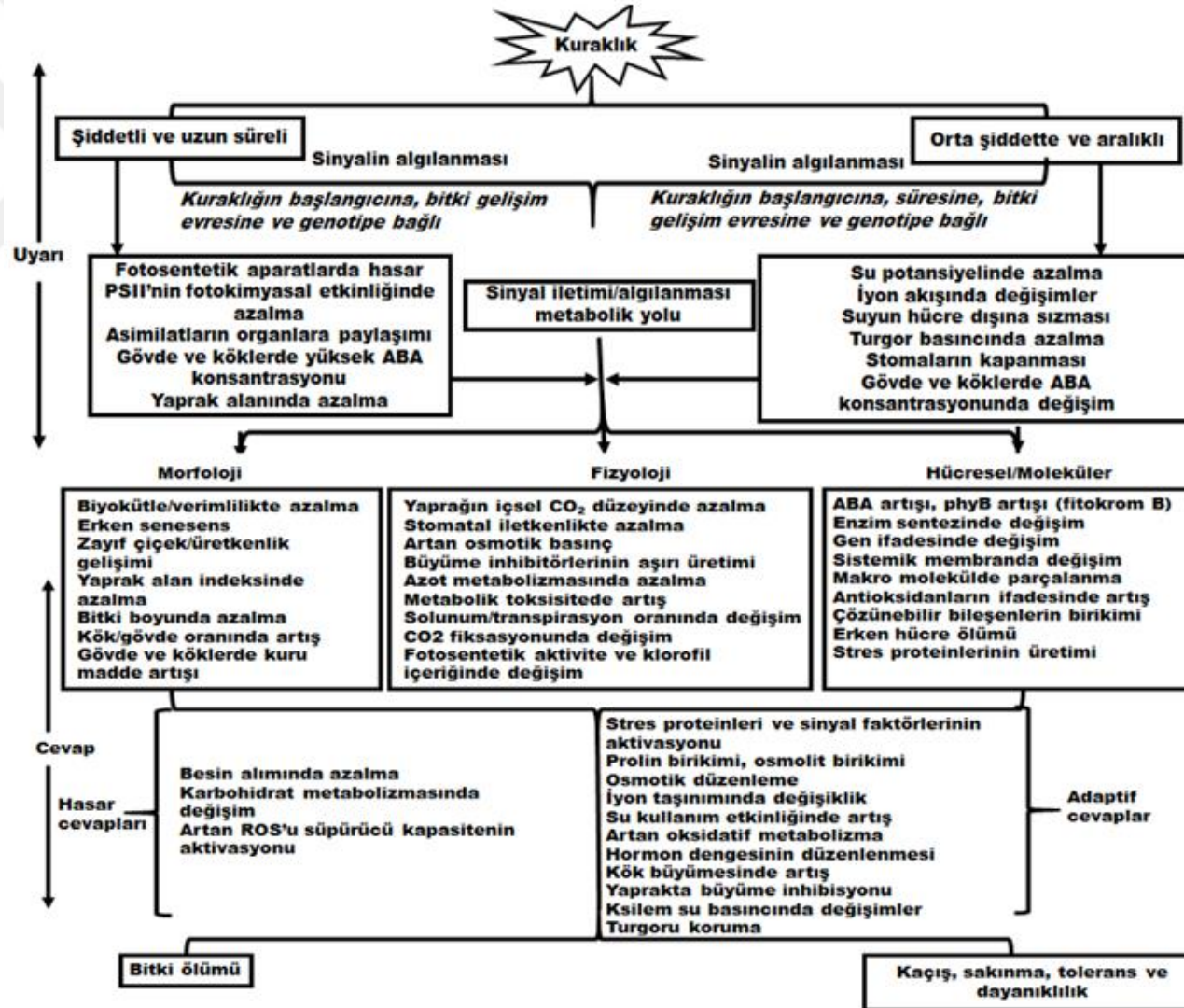
2.2. Kuraklık

Meteorolojik bir terim olan kuraklık; yağış miktarının azalması, artan sıcaklık, yer altı suyunun azalması ve transpirasyon veya buharlaşma ile sürekli su kaybının artması gibi birçok faktörün etkileşimi sonucu, topraktaki mevcut su potansiyelinin azalmasıyla ortaya çıkar [1, 2]. İklimsel modellemeler, küresel ısınmanın uzun vadeli etkileri nedeniyle kuraklığın etkisinin yakın gelecekte daha şiddetli hissedileceğini ve bunun gelişen endüstri ülkeleri için de önemli bir sorun haline geleceğini öngörmektedir [41, 42].

Bitkilerin kuraklığa karşı oluşturduğu cevaplar; stresin yoğunluğuna ve süresine, bitkinin çeşidine/türüne ve büyüme evresine bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermektedir [43-45]. Kuraklık stresi, bitkiler üzerinde büyüme ve verimi olumsuz

Çizelge 2.2. Ayçiçeğini etkileyen biyotik stres faktörleri, buna neden olan etmenler ve etki bölgeleri [12]

Etki bölgeleri	Biyotik Stres	Etmen
Tüm bitki üzerine etkileyen	Patojen	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Verticillium dahlia</i> , <i>Alternaria helianthi</i> , <i>Phomopsis helianthi</i> , <i>Plasmopara halstedii</i>
	Böcek	<i>Lepidoptera</i> (<i>Agrotis</i> spp., <i>Agrotis</i> spp., <i>Euxoa</i> spp., <i>Feltia ducens</i> , <i>Suleima helianthana</i>), <i>Coleoptera</i> (<i>Apion occidentale</i> , <i>Baris strenua</i> , <i>Lethrus apterus</i> , <i>Ligyrus gibbosus</i> , <i>Opatum sabulosum</i> , <i>Psalidium maxillosum</i> , <i>Pseudoheteronyx</i> spp., <i>Pterohelaeus</i> spp., <i>Tanymecus dilatiollis</i>), <i>Diptera</i> (<i>Strauzia longipennis</i>) <i>Orthoptera</i> (<i>Acheta deserta</i> , <i>Lacolampra</i> spp.)
Yeşil yaprak alanını etkileyen	Patojen	<i>Verticillium dahlia</i> , <i>Phomo oleracea</i> , <i>Albugo tragopogonis</i> , <i>Puccinia helianthi</i>
	Böcek	<i>Orthoptera</i> (<i>Cammula pellucida</i> , <i>Melanoplus</i> spp.), <i>Homoptera</i> (<i>Aphis helianthi</i> , <i>Brachycaudus helichrysi</i> , <i>Masonaphis masoni</i> , <i>Vanessa cardui</i>), <i>Coleoptera</i> (<i>Diabrotica speciosa</i> , <i>Zigogramma exclamationis</i>), <i>Lepidoptera</i> (<i>Chlosyne lacinia saundersii</i> , <i>Loxostege sticticalis</i> , <i>Mamestra brassicae</i> , <i>Plusia</i> spp., <i>Rachiplusia nu</i>), <i>Hemiptera</i> (<i>Galeatus helianthi</i>), <i>Thisanoptera</i> (<i>Frankliniella</i> sp., <i>Thrips</i> spp.)
Kapitulum ya da taneleri etkileyen	Patojen	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	Böcek	<i>Diptera</i> (<i>Acanthiophilus helianthi</i> , <i>Contarinia schulzi</i> , <i>Gymnocarena diffusa</i> , <i>Neothephritis finalis</i>), <i>Coleoptera</i> (<i>Cyclocephala melanocephala</i> , <i>Haplothynchites aeneus</i> , <i>Smicronyx</i> spp.), <i>Lepidoptera</i> (<i>Cochylis hoesoes</i> , <i>Helicoverpa</i> spp., <i>Homoeosoma</i> spp.), <i>Hemiptera</i> (<i>Eurydema ventral</i> , <i>Lygus rugulipennes</i> , <i>Nezara viridula</i> , <i>Nysius</i> spp.)
	Kuş	<i>Serçe</i> (<i>Passer domesticus</i> L., <i>P. Hispaniolensis</i> L.), <i>Karga</i> (<i>C. splendens</i>), <i>Papağan</i> (<i>P. eupatria</i>), <i>Güvercin</i> (<i>Zenaida auriculata</i> , <i>Streptopelia decaocto</i> L., <i>S. turtur</i>), <i>Muhabbet kuşu</i> (<i>Psittacula krameri</i> Scopoli)



Şekil 2.2. Farklı şiddette ve süredeki kuraklığın etkilerini ve bitkilerin moleküler, fizyolojik ve morfolojik düzeyde uyarana nasıl tepki verdiğini gösteren akış şeması [46].

yönde etkileyen bir dizi morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere neden olur (Şekil 2.2) [45, 46]. Bitkilerde, su içeriği ile yaprak su potansiyelinin azalması, turgor kaybı, stomaların kapanması ve hücre uzamasında ve genişlemesinde azalma ile karakterize edilen [45, 47-49] kuraklık, ayrıca aşırı ROS üretimi yoluyla lipidlerin peroksidasyonuna, proteinlerin oksidasyonuna, nükleik asitlerin zarar görmesine, enzim inhibisyonuna, programlanmış hücre ölümü (PCD) yolağının ve nihayetinde hücresel işlevlerin inaktivasyonuna neden olarak bitkilerin yaşamsal fonksiyonları üzerine tehdit oluşturabilir [50, 51].

2.2.1. Bitkilerde Kuraklıkla Meydana Gelen Değişimler

2.2.1.1. Morfolojik Değişimler

Çok boyutlu bir stres olan kuraklık, tüm bitki düzeyinde bitki büyüme sürecini olumsuz yönde etkiler. Bitkilerde kuraklıkla yaprakların genişleme ve sayısındaki azalma ile etkisini gösteren morfolojik cevap, transpirasyonun azalması ve erken yaprak senesensinin bir sonucudur [41]. Bitkilerde genellikle kuraklık koşullarında kök uzamasında ve su alımında azalma belirlenirken [47]; bazı bitkiler daha derin toprak tabakalarındaki suya ulaşabilmek için kök büyüme kapasitesini arttırarak bu koşullara adapte olabilmektedir [41]. Ayrıca kuraklıkta bitkilerde meydana gelen diğer morfo-anatomik değişiklikler ise yaprak kıvrılması, epidermal (stomatal ve kutikular) iletkenlik, stoma boyutu, yoğunluğu ve dağılımının azalması [48] ile kutikular kalınlaşma ve yaprak tüylerinin artmasıdır. Kuraklık ayrıca, kök ve gövdenin taze ve kuru biyokütlesinde azalmaya neden olmaktadır [49, 50].

2.2.1.2. Mekanik Değişimler

2.2.1.2.1. Su ve İyon Dengesindeki Değişimler

Bitkilerde taze ağırlığının yaklaşık %90'ını oluşturan su [51] çeşitli metabolik reaksiyonlar, iyon ve çözünmüş madde taşınımı, besin metabolizması ve hücresel gelişim için son derece önemlidir [52]. Bitkilerin kuraklığa maruz kalması, kök hidrolik iletkenliğinin, yaprak su potansiyelinin, nispi su içeriğinin ve transpirasyon oranının önemli düzeyde azalmasına neden olur [53-55].

Su eksikliği durumunda akuaporin seviyesindeki artış; zarların su geçirgenliğini artması ile birlikte su taşınımı kolaylaştırır ve böylece bitkide normal fizyolojik süreçlerin sürdürülmesine yardımcı olarak strese direnç sağlamada görev alır [52]. Bununla birlikte, osmolitlerin birikimi ile suyun buharlaşması azaltılarak hücrede turgorun muhafaza edilebilmesi de sağlanır [56, 57]. Bitkilerde su kaybının önlenmesi için bir

diğer cevap ise, absisik asitin (ABA) hücrel konsantrasyonun artması sonucu stomaların kapanması ve su kaybının azalmasıdır.

Su eksikliğinin en önemli etkilerinden biri de transpirasyon oranının azalmasına bağı olarak kökten besin maddelerinin alımının ve taşımasının azalmasıdır [58]. Kuraklık koşulları altında N^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} ve Cu^{2+} alımının azaldığı [59], bitki dokularında P^{2+} ve $(PO^{3-})_4$ içeriğinin düştüğü belirlenmiştir [60-64]. Düşük K^+ konsantrasyonlarının, kuraklık stresine direnci ve K^+ emilimini daha da azalttığı buna karşın önemli bir sinyal molekülü olan Ca^{2+} 'un sitosoldeki hızlı artışının hücrede dehidrasyon direncini arttırdığı bildirilmiştir [57].

2.2.1.2.2. Membran Yapısında Değişimler

Kuraklık stresinde zarların bütünlüğünün ve stabilitesinin korunması oldukça önemlidir [58]. Membranlardan su kaybı nedeniyle sıvı akışkan halden kristal faza dönüşüm sonucu, hücre hacmi azalır ve plazma zarı hücre çeperinden uzaklaşarak membran bütünlüğünün bozulmasına yol açar [65]. Bunun yanı sıra lipid peroksidasyonu sonucu membran bütünlüğünün bozulmasına neden olan bir diğer etmen de, kuraklıkla ortaya çıkan oksidatif stres ile artan ROS birikimidir.

Kuraklığa tolerans için zarda gerçekleşen olayların bir kısmını membran lipid ve yağ asidi kompozisyonunun yeniden modellenmesi içerir. Lipid çift tabakayı oluşturan galaktolipidlerden, digalaktosil-diaçilgliserol (DGDG) ve monogalaktosildiaçilgliserol (MGDG) arasındaki denge ile kloroplast membranlarında yeterli miktarda asidik sülfokinovozildiaçilgliserol (SQDG) ve fosfatidilgliserol (PG) içeriği, zarların istikrarını ve fotosentez ile ilişkili anahtar proteinlerin aktivitelerini korumak için gereklidir [66-68]. MGDG:DGDG oranındaki azalma (plastid) membranlarda kuraklığa toleransı artırır [68, 69]. Bitki zarlarının primer bileşenleri olarak görev yapan fosfolipidler ve glikolipidlerin uzun süren kuraklık koşullarında genel bir azalış gösterdiği, triaçilgliserol miktarının ise arttığı bildirilmiştir [64, 70-72].

2.2.1.3. Metabolik Değişimler

2.2.1.3.1. Kuraklığın Fotosentetik Aktiviteye Etkisi

Abiyotik stres faktörü olan kuraklık stresi doğrudan veya dolaylı olarak fotosentetik aktiviteyi etkilemektedir. Kuraklıkla birlikte fotosentez hızında meydana gelen azalmalar stomal engellemeye bağı olabileceği gibi metabolik bozukluktan da kaynaklanabilir. Stomatal düzenleme, stres koşullarında bitkilerdeki fotosentetik kapasitenin korunmasında önemli bir süreçtir [48]. Kuraklıkta; foto-inhibisyon hasarı ile

kloroplastlarda enerji dağılımının (dissipation) bozulması sonucu azalan elektron akışını içeren stomatal ve stomatal olmayan etkiler aracılığıyla fotosentetik aktivitede azalmalar meydana gelir [73].

2.2.1.3.1.1. Stomatal Engellemeler

Stomatal engelleme, kuraklığa cevap olarak stomatal iletkenliğin azalması ile fotosentezde meydana gelen düşüşü ifade etmek için kullanılır [74]. Stomaların kapanması ile gerçekleşen fotosentetik inhibisyon, su stresi etkilerinin bitki metabolizması üzerindeki başlıca ve en belirgin yansımalarından biridir. Yapılan çalışmalarda stoma kapanmasının kısa süreli düzenlenmesinde; yaprak su içeriği, toprağın nem düzeyi, atmosferik nem, hidrolik iletkenlik gibi faktörlerin etkili olduğunu belirtilmiştir [58, 75]. Yaprakta mevcut su korunurken; toprak su potansiyelinin azalması ile birlikte stomalar, köklerden üretilen ve ksilem aracılığı ile taşınan ABA gibi kimyasal sinyallere cevap olarak kapanır [76-78].

Su noksanlığına maruz kalan bitkilerde ABA kaynaklı stoma kapanma yanıtı, net CO₂ alımını baskılayarak ve karbon dengesini değiştirek fotosentezin azalmasına neden olur [79, 80]. Yüksek bitkilerdeki fotosentez oranı RuBisCO'nun aktivitesine ve ribuloz1,5-bifosfat (RuBP)'ın yenilenmesine bağlıdır ve kuraklık koşullarında genel olarak karbon asimilasyonu ve kullanımı ile ilişkili olan biyokimyasal kapasite azalır [81]. Ayrıca şiddetli kuraklık; RuBisCO'nun karboksilasyon etkinliğini önemli düzeyde azaltırken; oksijenaz aktivitesinin artmasına neden olarak CO₂ fiksasyonunu sınırlar [58]. Bu durumda, fotosistem II'nin (PSII) fazla uyarılmasını önlemek ve fotosentezin enerjisel verimliliğini düşürmek için adaptif bir cevap olarak fotorespirasyon oranı artar [82]. Buna ek olarak RuBisCO aktivaz kapasitesinin seçici olarak artırılması ise stres koşullarında kısmen fotosentezi artırabilir, ancak bu artışın düzeyi düşüktür [83].

Kuraklık koşullarında RuBisCO aktivitesinde bir düşüş; kloroplast stromasının asitleşmesi, karboksilasyon için substrat eksikliği, ATP sentaz gibi birleşme faktörünün miktarında ve/veya aktivitesinde azalma, kloroplastların ve RuBisCO'nun yapısal değişiklikleri, RuBisCO sentez ve yıkımındaki dengesizlikler, RuBisCO'nun maksimum karboksilasyon kapasitesinde azalmalar ve hasarlı plastidlerden RuBisCO'nun salınması gibi pek çok faktörden kaynaklanır [84]. Ayrıca ATP konsantrasyonlarındaki azalma nedeniyle artan RuBisCO aktivaz aktivitesi ve Calvin döngüsü enzimlerinin aktivitelerindeki azalmalar da kuraklıkta RuBisCO aktivitesini etkilemektedir [85].

2.2.1.3.1.2. Stomatal Olmayan Engellemeler

Kuraklık koşullarında bitkilerde meydana gelen stomatal olmayan engellemeler; elektron taşıma kapasitesinde, maksimum karboksilasyon oranında (V_{cmax}) ve mezofil iletkenliğinde azalma gibi metabolik sınırlamalar ile birlikte gerçekleşir. Kuraklığın şiddeti arttıkça, fotosentez üzerine stomatal olmayan engellemelerin etkisi, stomatal engellemeye karşı daha baskın hale gelir [74]. Normal koşullarda ışık, kloroplastların tilakoid zarlarında ışık toplama kompleksine (LHC) bağlanan klorofil ve karotenoid pigmentleri tarafından absorbe edilir [86]. Kuraklık stresi altında klorofil içeriğinin azalması, kuraklığın süresine ve şiddetine bağlı olup [84] bu durum fotosentez hızının azalmasında önemli bir rol oynamaktadır. Stres koşulları altında LHCII pigmentleri tarafından fotonların aşırı absorpsiyonu potansiyel olarak LHC'lerde uyarılma enerjisinin birikmesine ve fotoinhibisyona neden olabilir. Klorofil pigmentleri ile kıyaslandığında kuraklığa daha az duyarlı olan ve PSI ile PSII'nin ışık toplayıcı kompleksinde yer alan diğer önemli fotosentetik pigment grubunu oluşturan karotenoidlerdir. Bu pigment grubu kuraklık koşullarında aşırı enerjinin ısı olarak dağılımını sağlayan ksantofil döngüsünü aktive eder [81, 87, 88]. Karotenoidler ayrıca abiyotik stres sırasında üçlü klorofil moleküllerini söndürüp (^3Chl), kloroplastta oluşan tekli oksijen ($^1\text{O}_2$) ve diğer toksik reaktif oksijen türlerini detoksifiye ederek önemli bir fotokoruyucu rol oynar. Bunlara ek olarak; PSII ile ilişkili fotokimyasal reaksiyonların kuraklığa daha duyarlı olduğu ve D1 ile D2 proteinlerin miktarındaki düşüş PSII fotokimyasının kaybıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir [89]. Ayrıca, fotosentetik elektron taşıma kapasitesinde ve fotosistem aktivitesindeki değişikliklerle birlikte, kuraklıkta CO_2 asimilasyonunun engellenmesi, kloroplastta Mehler reaksiyonu yoluyla aktif oksijen türlerinin artan üretimi ile sonuçlanır [90].

Klorosolunum, kloroplastların tilakoid zarında bulunan ve plastokinon havuzu aracılığıyla elektronları NAD(P)H 'den O_2 'ye aktaran solunum elektron taşıma zincirini ifade eden yol olup hem fotokimyasal olmayan indirgemeyi hem de oksijen tüketimi ile plastokinon oksidasyonunu içeren fotosentetik elektron taşınımı ile etkileşime girer. Klorosolunum ve devirsel elektron taşıma yollarının kuraklığa toleransa önemli rol oynadığı bildirilmiştir [91].

2.2.1.3.2. Kuraklığın Solunum Metabolizması Üzerine Etkisi

Stres koşullarında bitki verimliliği büyük ölçüde fotosentez ile solunum arasındaki dengeye bağlı olup özellikle su stresi koşullarında fotosentezin bastırılması ile

solunum, bitki verimliliğini kontrol eden önemli faktör olarak devreye girmektedir [92]. Kuraklık stresinde fotosentetik aktivitenin azalmasına bağlı olarak gerek köklere gerekse yapraklara iletilen karbon bileşiklerinin azalması kök ve gövde solunumunun da azalmasına neden olur [93]. Kuraklık esnasında mitokondrial elektron taşıma zinciri (ETC) enerji metabolizmasını desteklemek için çeşitli mekanizmalara sahiptir. Ayrışım proteinleri (UCP'ler) ve alternatif dehidrogenazlar, kuraklık stresinde bu mekanizmalardan ikisini temsil etmektedir. Ayrıca mitokondriyal ETC'nin bir diğer önemli özelliği ise enerji tasarrufunu sağlamak ve enerji dengesizliklerine karşı tamponlama işlevi için iki terminal oksidaza (sitokrom oksidaz ve -alternatif oksidaz-AOX) sahip olmasıdır [94, 95]. Kuraklık koşulları altında hem sitokrom hem AOX aktiviteleri etkilenir ve bu koşullarda AOX/sitokrom oranı artar ki bu aşırı enerjinin dağıtılması için gerekliliktir. Bu bağlamda, kuraklıkta solunum aracılı karbon akışının sürdürülebilmesi ve fotosentez metabolizmasının desteklenmesi için AOX solunumu son derece önemlidir.

2.2.1.4. Kuraklıkla İndüklenen Oksidatif Değişimler

Oksidatif stres, bitkilerde biyotik ve abiyotik stres faktörleri veya gelişimsel süreçler tarafından uyarılan ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengesizlik olduğu zaman ortaya çıkan önemli bir stres etmenidir. [96]. Hücrelerdeki yüksek ROS konsantrasyonları, fotosentetik pigmentler, lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerde hasara ve ayrıca lipid peroksidasyonu yoluyla elektrolitlerin sızmasına yol açarak da hücre metabolizmasının bozulmasına neden olan oksidatif zararlara yol açar.

2.2.1.4.1. Oksidatif Streste Üretilen ROS'lar

Reaktif oksijen türleri (ROS), hem normal hem de stres koşulları altında, hücrelerde kloroplast, mitokondri, endoplazmik retikulum, plazma zarları, peroksizomlar, apoplast ve hücre çeperinde üretilir (Çizelge 2.3).

Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$); bitki hücresinde oluşan ilk ROS türü olup kloroplastlarda ve diğer hücresel bölümlerde elektron transferi sırasında O_2 'nin kısmen indirgenmesi ile üretilir [96] ve bu ROS türünden membran lipid peroksidasyonuna neden olabilecek $OH^{\bullet}$ (hidroksil radikali) ve $^1O_2$ (tekli oksijen) gibi daha reaktif ve toksik formlar sentezlenebilir [97, 98] (Çizelge 2.3). Ayrıca $O_2^{\bullet-}$ stabil bir molekül olmadığı için kendiliğinden veya SOD'un katalizlediği bir reaksiyon ile **hidrojen peroksit (H_2O_2)'e** dönüştürülür [99]. Bitkide pek çok yerde üretilen H_2O_2 , NADPH oksidaz ve ksantin

oksidaz (XOD) ile foto-oksidasyon reaksiyonları ile de üretebilir [100]. H_2O_2 molekülü düşük konsantrasyonlarda; yaşlanma [101], fotorespirasyon, fotosentez [102], stoma hareketleri ile büyüme ve gelişme [103, 104], hücre döngüsü, çeşitli streslere karşı tolerans sağlama [105] gibi önemli fizyolojik süreçlerde düzenleyici bir sinyal molekülü olarak görev alır. Yüksek konsantrasyonlarda ise hem sistein (-SH) hem de metiyonin (-SCH₃) rezidülerini oksitleme, Calvin döngüsünde Cu/Zn SOD ve Fe-SOD enzimlerini inaktive etme potansiyeline sahip olup ayrıca programlanmış hücre ölümüne neden olabilir. H_2O_2 ; $O_2^{\bullet-}$ gibi orta derecede reaktiftir ve zararı yalnızca daha reaktif ara ürünlere dönüştüğünde görülmektedir [99].

H_2O_2 ve $O_2^{\bullet-}$ 'e göre daha reaktif olan **singlet oksijen ($^1O_2$)**; kloroplastın anten sistemindeki triplet klorofilin (^3Chl) O_2 ile reaksiyonu sonucu oluşan bir ROS'dur [99] (Çizelge 2.3). ^3Chl , fotosentez sırasında enerjinin yetersiz dağılımı nedeniyle oluşur ve dioksijen ($^3O_2$) ile tepkimeye girerek son derece reaktif olan $^1O_2$ sentezlenir [99, 105] $^1O_2$ oluşumu hem PSI hem de PSII üzerinde güçlü bir olumsuz etkiye sahip olup tüm fotosentetik mekanizmayı tehdit eder [99]. $^1O_2$ 'in, PSII aktivitesinin ışık kaynaklı kaybındaki temel ROS olduğu düşünülmektedir [106, 107]. En reaktif ROS olan **hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$)**; H_2O_2 ve $O_2^{\bullet-}$ arasındaki Fenton reaksiyonu ile üretilir. Bu son derece toksik ROS'u süpürecek herhangi bir enzimatik sistem bulunmamaktadır; bu nedenle artan birikimi hücre ölümüne yol açmaktadır [105].

Kuraklık stresi altında, stomaların kapanması ve CO_2 sınırlandırılması ile fotosentezin indirgenmesi sonucunda ROS üretiminde doğrudan ve dolaylı olarak artış olur. Stomaların kapanmasına bağlı olarak Calvin döngüsünde CO_2 fiksasyonunun sınırlandırılması $NADP^+$ rejenerasyonunun azalmasına ve fotosentetik elektron taşıma zincirinde elektron transferi sisteminin aşırı indirgenmesine neden olur ve bu koşullarda Mehler reaksiyonu ile O_2 'ye doğru elektron sızıntısı daha yüksektir [100]. Ayrıca kuraklık koşullarında düşük CO_2 ve RuBisCO'nun yüksek oksijenaz aktivitesi özellikle fotorespirasyon düzeyinin artmasına neden olur. Fotorespirasyon yoluyla H_2O_2 üretiminin % 70'ten fazlasının kuraklık stresi koşullarında gerçekleştiğini bildirilmiştir [102]. Kuraklık stresi altında ROS'un aşırı üretimi, kloroplastlar ve mitokondrideki elektron taşıma sistemindeki aksaklıklardan da kaynaklanmaktadır. PSII'nin absorbladığı ışık enerjisini yeterli düzeyde fotokimyasal yola aktarılamaması ile elektronların üretimi ve kullanımı arasında bir orantısızlık meydana gelir ve bu kuantum veriminde değişikliğe neden olur. Kloroplastların fotokimyasındaki bu

değişiklikler, PSII merkezinde ve anteninde aşırı eksitasyon enerjisinin dağılmasına ve dolayısıyla $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $OH^{\bullet}$ ve $^1O_2$ ROS'ların oluşumuna neden olur [105].

2.2.1.4.2. Oksidatif Streste ROS Detoksifikasyonu

ROS'un neden olduğu oksidatif zarardan kaçınmak için yüksek bitkilerde içsel antioksidan savunma sisteminin işlevi artmaktadır [100]. Çeşitli abiyotik (tuzluluk, su kıtlığı, UV radyasyonu, ağır metaller, yüksek sıcaklık, besin maddelerinin eksikliği) ve biyotik (patojenler, mikroorganizma enfeksiyonları gibi) stres faktörleri tarafından ROS üretimi ile detoksifikasyonu arasındaki denge bozulmaktadır [105]. Detoksifikasyonda rol alan antioksidan savunma sisteminde ROS'lar enzimatik [(süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), guaiacol peroksidaz (GPX), glutatyon-S-transferaz (GST), katalaz (CAT), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR)] ve enzimatik olmayan [(askorbik asit (AA), indirgenmiş glutatyon (GSH), α -tokoferol, karotenoidler, fenolikler, prolin ve flavonoidler)] metabolitler tarafından detoksifiye edilir (Çizelge 2.4) [105, 108, 109].

2.2.1.4.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit Dismutaz (SOD); stres koşullarında ROS'un yol açtığı hasarlara karşı birincil savunma hattını oluşturan önemli bir enzimdir (Şekil 2.3) [110]. SOD enzimi $O_2^{\bullet-}$ 'yi daha stabil bir molekül olan H_2O_2 'ye dönüştürür [99]. Aktif oksijen üreten ve ROS aracılı oksidatif strese karşı savunmasız olan hücre-altı bölmelerin çoğunda SOD bulunur [100]. Metal faktörlerin varlığı temelinde SOD'lar, Mn-SOD (mitokondri ve peroksizomlarda), Fe-SOD (genellikle bitkilerde saptanmamıştır, ancak mevcut olduğunda kloroplastlarda bulunur) ve Cu/Zn-SOD (sitozol, peroksizomlar ve kloroplastlarda) olmak üzere 3 izozime sahiptir. Strese bağlı olarak ortaya çıkan SOD'ların ifadesindeki artışlar; bitkinin hayatta kalması ile oksidatif stresin hafifletilmesinde ve bitkinin streslere adaptasyonunda önemli rol oynamaktadır [111-113].

Katalaz (CAT); keşfedilen ve karakterize edilen ilk antioksidan enzim olup [100] H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü katalizleyen ve hem grubu içeren bir enzimdir (Şekil 2.3) [99]. CAT; H_2O_2 'ye karşı yüksek afiniteye sahipken, organik peroksitler için daha az özgülüğe sahiptir. Yağ asitlerinin β -oksidasyonu, fotosolunuma bağlı oksidasyon ve purin katabolizması nedeniyle H_2O_2 üretilen başlıca organel olan peroksizomlara ek olarak glioksizomlar da yüksek düzeyde H_2O_2 üretmektedir [114].

Çizelge 2.3. Farklı reaktif oksijen türleri ve özellikleri [99, 115].

ROS	*t _{1/2}	Taşıma mesafesi	Üretim Yeri	Etki şekli	DNA ile reaksiyon	Protein ile reaksiyon	Lipid ile reaksiyon	Süpürücü sistemler
Süperoksit (O ₂ • ⁻)	1-4µs	30 nm	Apoplast Kloroplast Mitokondri Peroksizom	(Fe-S) proteinleri gibi çift bağ içeren bileşikler ile reaksiyona girer.	Yok	Fe merkezi aracılığı ile	Oldukça düşük reaksiyon	SOD, Flavonoidler, Askorbat...
Hidroksil radikali (OH•)	1 µs	1 nm	Membranlar Kloroplast Mitokondri	Tüm biyomoleküllere karşı son derece reaktiftir.	Hızlı reaksiyon	Hızlı reaksiyon	Hızlı reaksiyon	Flavonoid, Prolin, Şekerler, Askorbat...
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	1 µs	1 µm	Apoplast Kloroplast Mitokondri Peroksizomlar Sitozol	Proteinleri oksitler ve O ₂ • ⁻ aracılığıyla OH• oluşturur.	Yok	Sistein ve metiyonin rezidüsü ile reaksiyon	Oldukça düşük reaksiyon	APX, CAT, GPX, POX, Askorbat Flavonoidler, Glutasyon
Singlet oksijen (¹ O ₂)	1-4 µs	30 nm	Membranlar Kloroplast Mitokondri Çekirdek	Proteinler, PUFA'lar ve DNA'yı oksitler.	G rezidüsü ile reaksiyon	Trp, His, Tyr, Met ve Cys rezidüleri ile reaksiyon	PUFA**	Karotenoidler ve α-tokoferol

* t_{1/2} : yarılanma süresi

**PUFA: çoklu doymamış yağ asitleri

Sitozol, kloroplast ve mitokondri gibi diğer hücresel bölgelerde de CAT'ın mevcut olduğu bildirilmişse de, bu bölgelerde CAT aktivitesi henüz belirlenememiştir [116].

Askorbat Peroksidaz (APX); Askorbat-Glutatyon (AsA-GSH/Asada-Halliwell-Foyer) Döngüsü'nün ilk basamağında yer alan ve yüksek bitkilerde sitozol ve kloroplastta üretilen H_2O_2 'yi ortadan kaldırarak ROS'un temizlenmesi ile hücrelerin korunmasında temel role sahip bir enzimdir (Şekil 2.3) [105]. APX enzimi; mitokondriyal (mAPX), tilakoid (tAPX), glioksizom membran formları (gmAPX), kloroplast stromal formu (sAPX) ve sitozolik form (cAPX) olmak üzere en az beş farklı izozimden oluşur. CAT'a kıyasla H_2O_2 için daha fazla özgülüğe sahip olan APX, stres koşullarında H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda daha etkin bir role sahip olduğu bildirilmiştir [117].

Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) kısa ömürlü MDHA radikalinden, askorbik asitin (AsA) yenilenmesini katalize eden bir flavin adenin dinükleotid (FAD) olup indirgeyici ajan/elektron donörü olarak NADPH'yi kullanır ve sonuç olarak hücredeki AsA havuzunu yeniler (Şekil 2.3) [100]. AsA rejenerasyonunda görev aldığı için MDHAR enziminin izozimleri-kloroplast, mitokondri, peroksizom, sitozol ve glioksizomlarda bulunur [99, 118, 119].

Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR); elektron verici/indirgeyici ajan olarak indirgenmiş glutatyonu (GSH) kullanır ve dehidroaskorbatın (DHA) AsA'ya indirgenmesini katalize eder (Şekil 2.3). DHAR da MDHAR gibi AsA havuzunu hücre içinde yeniden oluşturur, bu nedenle her iki enzimde AsA seviyesinin ve oksidatif stres koşullarında redoks durumunun düzenlenmesinde aynı derecede önemlidir [120]. DHAR'ın rolü hem simplast hem de apoplastta hücresel AsA havuzunun muhafaza edilmesi olduğu için bu enzim oldukça kritik bir göreve sahiptir ve böylece hücrenin redoks durumunu sürdürmeye katkı sağlar [121].

Glutatyon redüktaz (GR); GSSG'yi GSH'ye indirgemek için elektron donörü olarak NADPH'yi kullanan bir flavoprotein oksidoredüktazdır. Bu enzim indirgenmiş glutatyonu (GSH), MDHA ve DHA'dan askorbik asiti yenilemek için kullanır ve okside formuna dönüştürür (Şekil 2.3). Genel olarak GR, yaprak dokularındaki kloroplastlarda bulunmakla birlikte, az miktarlarda sitozol, mitokondri, glioksizom ve peroksizomlarda da bulunur [119]. APX gibi, GR askorbat-glutatyon döngüsünün ana bileşenlerden biridir. Glutatyonun etkin bir şekilde geri dönüşümü GR tarafından sağlanır ve bu nedenle GR, hücrede indirgenmiş/oksitlenmiş glutatyon (GSH/GSSG) oranını koruyarak oksidatif stres sırasında kloroplastların korunmasında önemli bir rol

oynamaktadır [117]. Ayrıca, GR özellikle stres koşullarında H_2O_2 detoksifikasyon yolunun hızlandırılması için de gereklidir [122].

Glutatyon peroksidaz (GPX) ; Sitozol, vakuol ve hücre çeperinde yer alan GPX; H_2O_2 ile organik ve lipid hidroperoksitleri (LOOH) indirgemek için GSH'yi kullanarak bitki hücrelerini oksidatif stresten koruyan ve çeşitli izozimlerden oluşan büyük bir ailenin üyesidir [102] (Şekil 2.3). Bununla birlikte, membran lipid peroksidasyonunu tamir edebilen GPX, hücresel zarları oksidatif hasardan korumada [123] ve oksidatif stresin sinyal iletiminde de görev almaktadır [124].

2.2.1.4.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidantlar

Enzimatik olmayan antioksidanlar, hücresel bileşenlerin hasardan korunması ile birlikte mitoz bölünme, hücre uzaması, yaşlanma ve hücre ölümü gibi temel süreçleri etkileyerek bitki büyümesinde ve gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır [125].

Askorbik Asit (AsA); düşük molekül ağırlıklı ve suda çözünebilen güçlü bir antioksidan olup, artan ROS düzeyi ile ilişkili olarak oksidatif strese karşı bir dizi enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonda elektron verme özelliğinden dolayı önemli bir savunma rolüne sahiptir [105, 126]. AsA'nın apoplastta ve sitozolde önemli miktarda bulunması, AsA'yı ROS'a karşı ilk savunma basamağı haline getirmektedir [127]. Bitki dokularında geniş bir dağılıma sahip olan askorbik asit, genellikle meristematik ve fotosentetik hücrelerde daha yüksek oranda bulunur ve bitki büyümesi, farklılaşma ve metabolizma gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli rol oynar. AsA; H_2O_2 , $OH^\bullet$, $^1O_2$ ve süperoksit ile tepkimeye girerek ve ayrıca tokoferoksil radikalinden α -tokoferolü yenileyerek hem zarları oksidatif hasardan korur hem de metal iyonları içeren enzimlerin aktivitelerini korumalarını sağlar [128]. Ayrıca AsA; violaksantin de-epoksidazın kofaktörü olarak görev yaparak aşırı eksitasyon enerjisinin dağıtılmasında, PSII aktivitesini fotooksidasyona karşı korumada ve downregülasyonunu önlemede görevlidir [129].

İndirgenmiş glutatyon (GSH); ROS ile indüklenen oksidatif hasara karşı hücre içi savunmada tüm hücresel bölgelerde geniş dağılım gösteren düşük molekül ağırlıklı bir tiol tripeptittir (γ -glutamil-sisteinil-glisin). GSH; hücre bölünmesi, hücre farklılaşması, hücre ölümü ve yaşlanma, patojen direnci, enzimatik aktivite ile sülfat taşınımının düzenlenmesi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, metabolitlerin konjugasyonu, protein ve nükleotid sentezi, fitoşelatin sentezi (PC) ve strese cevap genlerin ifadesi gibi birçok biyolojik süreçte önemli bir rol oynamaktadır [130, 131]. GSH; H_2O_2 , $^1O_2$,

OH• ve süperoksitin uzaklaştırılmasında görev alır ve bunu yaparken ROS veya organik serbest radikallerin varlığında yan ürün olarak GSSG oluşturacak şekilde biyomolekülleri korur. Ayrıca GSH, stres koşullarında protein tiyol gruplarının oksidasyonundan kaynaklanan protein denatürasyonunu önler. ROS'ların indirgenmesinde doğrudan rol alan GSH, tokoferol ve zeaksantin indirgenmiş halde kalmalarını sağlayarak membranları korumada dolaylı bir rol oynar [45]. H₂O₂'nin bozunması sırasında GSH/GSSG oranındaki değişim, bazı redoks sinyal yollarında önemlidir [132]. GSH, ROS'a karşı savunmada gerekli bir yardımcı substrat olmasının yanı sıra, bu antioksidantın redoks dengesindeki değişimleri algılama ve bu değişiklikleri ilgili hedef proteinlere iletme görevi de bulunmaktadır [133].

Tokoferoller; çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içeren tilakoid membranlarda yüksek oranda bulunurlar [134] ve lipofilik bir antioksidan grubunu oluşturur. Tokoferol (α , β , γ ve δ) izomerlerinden α -tokoferol; diğerlerine göre daha yüksek antioksidan kapasitesine sahip olup ROS (özellikle OH• ve ¹O₂) ve lipid radikallerini (LOO•) etkin bir şekilde uzaklaştırır. Bu durum α -tokoferolü biyolojik zarlarda önemli bir koruyucu bileşen haline getirir [135, 136]. Yalnızca fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenen tokoferoller, O₂ ile reaksiyona girerek ve fazla enerjisini bertaraf ederek hem yapısal hem de işlevsel olarak PSII'yi, kloroplast lipidlerini ve diğer membran unsurlarını korur. Ayrıca tokoferoller, lipid peroksidasyon döngüsünün de güçlü bir serbest radikal yakalayıcısı olarak görev yapar [113].

Karotenoidler; lipofilik antioksidan pigmentlerdendir ve ROS'u detoksifiye etme yeteneğine sahiptir. 450-570 nm'de ışığı absorbe eden karotenoidler, enerjiyi klorofil molekülüne aktararak fotosentezde görev alır. Buna ek olarak karotenoidler; lipid peroksidasyon ürünleri ile reaksiyona girerek fotosentetik mekanizmayı korumak, ³Chl ve uyarılmış klorofil (Chl*) ile reaksiyona girerek ¹O₂ oluşumunu önlemek ve oluşan ¹O₂'yi temizlemek ile ksantofil döngüsündeki aşırı eksitasyon enerjisini dağıtmak gibi görevlere sahiptir [113]. Ayrıca karotenoidler; PSI, ışık toplayıcı kompleks ve tilakoid membranların yapısal stabilitesinin korunmasına da yardımcı olur [137].

Prolin; bir osmolit olarak hem programlanmış hücre ölümünde etkili bir inhibitör hem de hücresel işlevlerde güçlü bir antioksidan olarak görev alır. Farklı ROS'ların olumsuz etkilerine karşı potansiyel bir enzimatik olmayan antioksidan olan prolin; osmoprotektan, protein stabilizörü, metal şelatörü [138], lipid peroksidasyon inhibitörü ile OH• ve ¹O₂'nin etkili bir süpürücüsü gibi davranır.

Flavonoidler; çiçek, meyve ve tohum pigmentasyonu, UV'ye karşı koruma, fitopatojenlere karşı savunma ve tohum çimlenmesindeki rollerine ek olarak, önemli bir sekonder ROS uzaklaştırıcısı olarak serbest radikalleri hücreye zarar vermeden nötralize ederek fotosentetik aparatların zarar görmesini önler. Flavonoidlerin antioksidatif özellikleri, lipid oluşumundaki peroksidasyon kinetiklerinin ve membranların akışkanlığının korunmasıdır. Bu değişiklikler serbest radikallerin difüzyonunu engelleyebilir ve peroksidatif reaksiyonlarını kısıtlayabilir [139, 140].

Çizelge 2.4. Farklı ROS uzaklaştırıcı antioksidanlar ve katalize ettikleri reaksiyonlar [105, 114, 141, 142].

Antioksidan	Enzim Kodu	Gerçekleştirdiği Reaksiyon – Reaksiyon yeri
SOD	EC1.15.1.1	$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ Klo*, Sit, Apo, Mit, Per
CAT	EC1.11.1.6	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2$ Per, Klo, Mit
APX	EC1.11.1.11	$H_2O_2 + 2AsA \rightarrow 2H_2O + 2MDHA$ Klo, Sit, Apo, Mit, Per
MDHAR	EC1.6.5.4	$NADPH + H^+ + 2MDHA \rightarrow 2AsA + NADP^+$ Klo, Sit, Mit
DHAR	EC1.8.5.1	$DHA + 2GSH \rightarrow AsA + GSSG$ Klo, Sit, Mit
GR	EC1.6.4.2	$NADPH + H^+ + GSSG \rightarrow 2GSH + NADP^+$ Klo, Sit, Mit
GPX	EC1.11.1.9	$2GSH + ROOH(H_2O_2) \rightarrow GSSG + ROH + H_2O (2H_2O)$ Sit, Mit
GST	EC2.5.1.18	$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$ RX +GSH→ HX + GS-R Klo, Sit, Mit
AsA	-	$O_2^{\bullet-}, H_2O_2, OH^{\bullet}$ ve $^1O_2$ süpürülmesi Klo, Sit, Apo, Mit, Per
GSH	-	$H_2O_2, OH^{\bullet}$ ve $^1O_2$ süpürülmesi Klo, Sit, Apo, Mit, Per
Tokoferol	-	$OH^{\bullet}$ ve $^1O_2, ROO^{\bullet}$ ve ROOH Membranlar

*Klo: kloroplast; Sit: Sitokrom; Apo: Apoplast; Mit: Mitokondri; Per; Peroksizom

2.2.2. Kuraklık Stres Toleransında Yer Alan Fonksiyonel Metabolitler

Bitkilerdeki kuraklık stres cevabı; stresin algılanması, sinyal iletimi ve genin ifadesi ile bir dizi protein ve diğer bileşiklerin sentezi sonucu ortaya çıkmaktadır [143]. Kuraklık toleransına cevapta yer alan proteinler genellikle, stres toleransında doğrudan görev alan (işlevsel) proteinler ile sinyal iletimi ve strese cevapta gen ifadesinin düzenlenmesinde yer alan (düzenleyici) proteinler olmak üzere iki grupta sınıflandırılır. İşlevsel proteinler grubunu; zarlar arasında suyun hareketinin düzenlenmesinde görev alan su kanal proteinleri (akuaporinler), makromoleküllerin ve zarların korunmasında görevli proteinler [geç embriyogenezis (LEA proteinleri) ısı şoku proteinleri (HSP), osmotin, antifiriz protein, şaperonlar, mRNA bağlanma proteinleri vb.], bazı ozmoprotektan moleküllerin biyosentezi için gerekli olan enzimler (şeker, prolin, glisin betain vb.) ve detoksifikasyon enzimleri (SOD, APX vb.) oluşturan; düzenleyici proteinler grubunu ise; transkripsiyon faktörleri, protein kinazlar, fosfatazlar, fosfolipazlar ile ABA biyosentezi ve algılanmasında görev alan proteinler oluşturur.

2.2.2.1. İşlevsel Proteinler

2.2.2.1.1. Akuaporinler

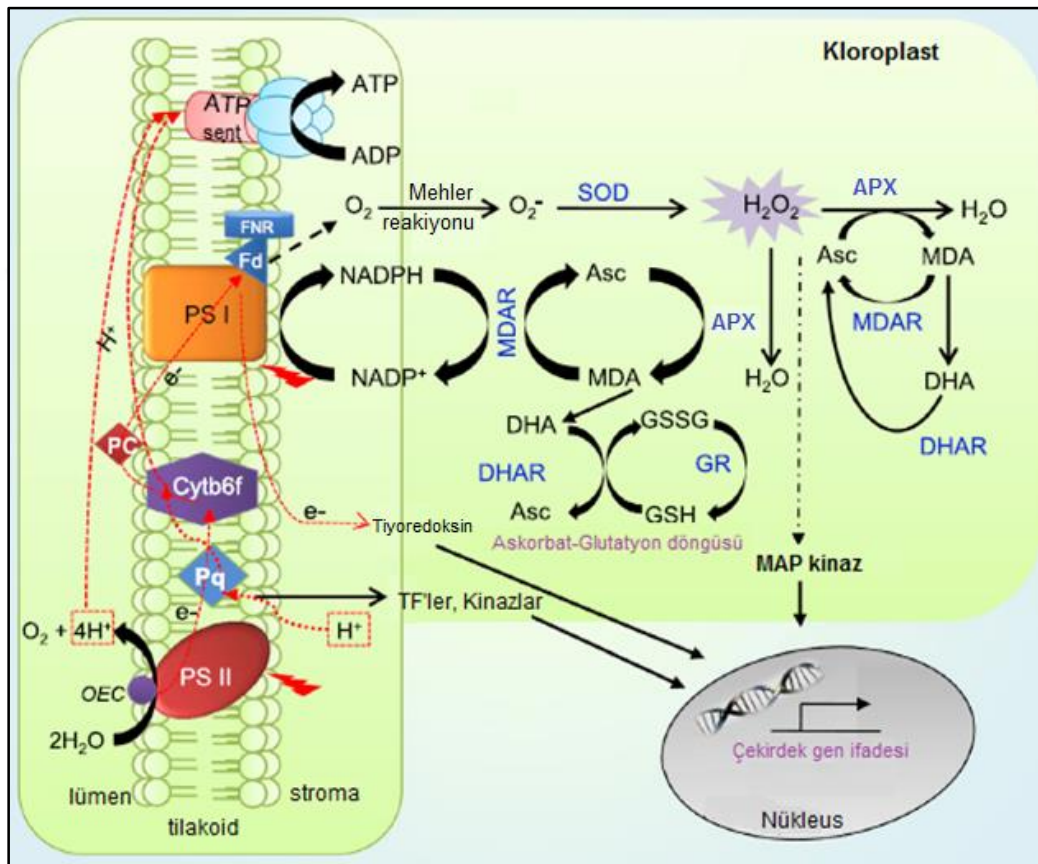
Membran proteinlerinden oldukça korunmuş bir protein ailesinin üyesi olan ve zarlar arasında suyun taşınmasını kolaylaştıran akuaporinler; suyun plazma zarı veya tonoplast boyunca taşınmasını düzenleyen (PIP'ler ve TIP'ler) proteinler, nodulin 26-benzeri integral proteinler (NIP'ler) ve küçük temel integral proteinler (SIP'ler) olmak üzere dört alt gruba ayrılır [144]. Son yıllarda, X içsel proteinleri (XIP) de çeşitli dikotiledon türlerinde tanımlanmıştır [145]. *TdPIP2;1* ifadesi arttırılmış transgenik pirinçte yabancı tiple karşılaştırıldığında kuraklık toleransının arttığı belirlenmiştir [146].

2.2.2.1.2. LEA-tip Proteinler

LEA proteinleri; geç embriyogenez sırasında bol miktarda bulunan ve tohum kuruması ile su stresine cevap olarak biriken yüksek molekül ağırlıklı protein grubunu temsil eder [147, 148]. Farklı bitki türlerinde RD (dehidrasyona cevap), ERD (dehidrasyona erken cevap), CIN (soğuk indüklenbilir), COR (soğuk ile regüle edilmiş) ve RAB (ABA'ya cevap veren) genleri LEA proteinlerini kodlar. Bu genlerin ifadesini kuraklık koşullarında ABA'ya bağımlı ve ABA'dan bağımsız sinyal yollarında C-Tekrar elementleri (DRE/CRT) tarafından düzenlenir [149].

Kuraklığa cevap olarak önemli ölçüde biriken LEA proteinleri, amino asit dizi benzerliklerine ve belirgin korunmuş bölgelerin varlığına göre yedi gruba ayrılmıştır.

Grup 1 LEA proteinlerinin artırılmış su-bağlama kapasitesine sahip olduğu tahmin edilirken, grup 5 LEA proteinlerinin su kaybı sırasında iyonları tuttuğu düşünülmektedir [150]. Grup 2 LEA proteinleri olarak bilinen dehidrinler, tuz, kuraklık ve yüksek sıcaklık gibi stres koşullarında vejetatif dokularda birikim gösterir. LEA proteinlerinin su eksikliğinde makromolekül stabilizasyonunu da sağlamaktadır [151]. Arpada LEA ifadesini sağlayan bir gen olan HVA1'in ifadesi stres koşullarında koruyucu bir rol



Şekil 2.3. Fotosentetik redoks sinyali ve ROS'ların detoksifikasyonunun şematik gösterimi [152].

Çeşitli stres faktörlerine cevap olarak oluşturulan ROS'lar ve elektron taşıma zincirinden gelen redoks sinyalleri, çekirdekte gen ifadesinde değişime yol açan sinyal iletim basamaklarını başlatır. PSI'den Ferrodoksin aracılığıyla aktarılan elektronlar Mehler reaksiyonunda süperoksit radikaline dönüştürülür. O₂⁻, ROS temizleyici bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) ile detoksifiye edilir. Bir başka ROS temizleyici enzim olan askorbat peroksidaz (APX), H₂O₂'yi H₂O'ya indirgemek için askorbat (Asc) kullanmaktadır. Serbest radikallerin APX ile temizlenmesi, monodehidroaskorbat (MDA) ve dehidroaskorbat (DHA) seviyesini artırır. MDA ve DHA'nın yüksek seviyeleri, MDA redüktaz (MDAR), DHA redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR) tarafından azaltılır. H₂O₂ mitojen-aktif protein (MAP) kinazları uyarak çekirdek gen ifadesi gibi doğrudan hücrel cevapları yönlendirebilir. Tiyoredoksinler (TR) PSI'dan elektronları alır ve LHC'yi fosforile etmede kullanır ve sonuç olarak çekirdek gen ifadesini uyarır. Benzer şekilde, plastokinon (Pq) havuzla, nükleusta transkripsiyonel sinyal iletimini tetikleyebilen bazı protein kinazların ve transkripsiyon faktörlerinin (TF'lerin) sentezlenmesine neden olur.

oyarken, transgenik pirinç bitkilerinde hem kuraklığa hem de tuza toleransı arttırdığı bildirilmiştir [153, 154]. Ayrıca, LEA proteinlerinin kuraklık ve donma streslerinde hücre hasarına karşı koruyucu şaperon benzeri fonksiyonu olduğu bildirilmiştir [155, 156].

2.2.2.1.3. Isı Şoku Proteinleri (HSP)

Isı şoku cevabı; bir dizi genin transkripsiyonunun artışı ile tüm organizmalarda ortaya çıkan, oldukça korunmuş bir biyolojik süreçtir [157]. Koruyucu proteinler olarak bilinen HSP'ler; proteinlerin sentezi, hedeflenmesi ve olgunlaşması gibi birçok hücresel süreçte önemli role sahiptir. Isı şok proteinleri ile kuraklık stres toleransı arasında pozitif korelasyon olduğunu gösteren birçok çalışmalar bulunmaktadır [158]. HSP'ler; Hsp100, Hsp 90, Hsp 70, Hsp 60 ve sHsp (küçük ısı-şok proteinleri) olmak üzere 5 korunmuş familyaya sahiptir ve bunlardan HSP70, HSP60, HSP90 ve HSP100'ün kuraklık ve tuz stresi koşullarında indüklendiği bildirilmiştir [159].

2.2.2.1.4. Osmolitler

Kuraklık stresi koşullarında meydana gelen su kaybı bitki metabolizmasında değişikliklere neden olur ve bu duruma karşı bitkiler osmotik olarak aktif çözünenleri biriktirir [47]. Bitkiler; kuraklık stresi ile başa çıkabilmek için prolin, glutamat, glisin-betain, karnitin, manitol, sorbitol, fruktanlar, polioller, trehaloz, sakkaroz, oligosakkaritler ve K⁺ gibi inorganik iyonların sentez ya da birikimleri yolu ile hücresel osmotik potansiyeli azaltıp osmotik düzenlemeye ihtiyaç duyar [41]. Strese dayanıklı transgenik bitkilerin geliştirildiği çalışmalarda, osmotik koruyucuların [amino asitler (örn., prolin), kuaterner ve diğer aminler (örn., glisin betain ve poliaminler) ve çeşitli şekerler ile şeker alkoller (örn. manitol, trehaloz ve galaktinol) gibi osmotik düzenlemede biriken pek çok organik molekül] sentezinde yer alan birçok gen kullanılmıştır [155]. Osmotik düzenleme için uyumlu çözünenlerin birikimi; bitkilerin kuraklık koşullarında hayatta kalmaları için önemli bir fizyolojik adaptasyon olup bitkilerin tuz, kuraklık ve yüksek sıcaklık gibi çeşitli abiyotik streslere karşı toleransını sağlar. Bu bileşenler, su kaybının engellenmesi ve topraktaki su alımının etkinleştirilmesi yoluyla hücre turgorunun düzenlenmesi, büyüme, gaz değişimi ve ayrıca membranların yapısal bütünlüğünün devamlılığında önemli rol oynamaktadır [41, 75, 160].

Doğada en yaygın şekilde bulunan şeker alkollerinden birisi olan **mannitol**, ROS ve hidroksil radikallerinin temizlenmesinde ve enzimlerin makro moleküler yapısını korumasında görev alır. Kuraklığa yanıt olarak **rafinoz** ve **galaktinol** gibi

oligosakkaritler de sentezlenir ve bu bileşikler, ozmotik düzenleme yerine osmotik koruyucular olarak işlev görmektedir. İndirgenmeyen bir disakkarit olan **trehaloz** ise stres koşullarında karbon ve ABA metabolizmasını düzenleyen bir sinyal molekülü olarak görev alır ve kuraklık koşullarında zarlar ile makromoleküllerin stabilizasyonunu sağlar [161, 162]. Bununla birlikte trehalozun aşırı ifade edilmesi, öncelikle PS II'yi foto-oksidasyona karşı koruyarak fotosentez için yüksek kapasitenin muhafaza edilmesine yardımcı olur [163].

Stres sırasında sitozol ve vakuolde biriken ve bir aminoasit olan **prolin**, $^1\text{O}_2$ veya $\text{HO}\cdot$ gibi ROS'ların neden olduğu hasarlara karşı bitki hücrelerini korumaktadır. Kuraklığa maruz kalan yabani genotipten daha yüksek düzeyde prolin biriktirebilen transgenik buğdayların membranlarında daha az lipid peroksidasyonunun gerçekleşmesi, prolinin kuraklıkta ROS zararlarını azaltmada rolü olduğunu göstermektedir [164]. Ayrıca prolinin dolaylı yoldan PSII'nin fotokimyasal etkinliğini korumaya yardımcı olduğu da bilinmektedir [165]. Bunlara ek olarak esasen kloroplastta biriken **glisin betain (GB)** ise kuaterner amonyum bileşiklerinden (N,N,N-trimetilglisin) birisi olup stres koşulları altında PSII'nin verimliliği ile membran bütünlüğünün korunmasını sağlar [166-168].

Biyosentetik ve hidrolitik süreçlerde görev alma ve enerji substratı olarak işlev görme ile bitki metabolizmasında önemli role sahip olan çözünür şekerler; kuraklık stresinde hücreleri iki şekilde korur: (1) dehidrasyon sırasında şekerlerin hidroksil grupları ile suyun yer değiştirmesi sonucu membranlardaki proteinler ve hidrofilik etkileşimler korunur ve (2) şekerlerin zarlar ve proteinler ile hidrojen bağı kurarak zarların ve proteinlerin denatürasyonu engellenir [47]. Çözünür şeker miktarındaki değişim, bitki türüne ve kuraklık stresinin süresi ile derecesine de bağlıdır [169]. Sperdoui ve Moustakes [170], kuraklık koşullarında diğer metabolitlerle birlikte çözünür şekerlerin birikiminin, daha yüksek bir antioksidan koruma sağlayarak kuraklığa uyumu artırdığını belirlemiştir. Bununla birlikte, çözünür şekerler hormonlar gibi birincil haberciler olarak hareket edebilir ve bitki metabolizmasında rol oynayan gen ifadesini düzenler [171].

Gelecekte yapılacak çalışmalar ile abiyotik streslere (kuraklık, tuzluluk ve yüksek sıcaklığa) toleransta osmoregülatör genlerin ifadesi ile osmotik düzenlemenin, önemli stratejiler arasında yer alacağı düşünülmektedir. Biyosentetik ve metabolik yollardaki transgenik modifikasyonların sonuçları; daha yüksek stres toleransı ile uyumlu çözünen maddelerin birikiminin bitkileri, ROS'ların oluşturduğu hasarlara karşı

koruyabileceğini ve bu moleküllerin şaperon benzeri aktiviteleri ile proteinlerin yapılarını ve işlevlerini muhafaza edebileceğini göstermektedir [150].

2.2.2.1.5. Detoksifikasyon Enzimleri

Detoksifikasyon enzimleri “2.2.1.4.2.1. Enzimatik Antioksidantlar” başlığı altında açıklanmıştır.

2.2.2.2. Düzenleyici proteinler

Transkripsiyon seviyesindeki gen regülasyonu, biyolojik süreçlerin başlıca kontrol noktalarından biridir ve transkripsiyon faktörleri ile düzenleyici proteinler bu süreçte kilit rol oynamaktadır.

2.2.2.2.1. Protein Kinazlar

Protein kinazların bir grubunu oluşturan ve stres cevaplarında etkili olup önemli bir hücrel sinyal sisteminde görev alan mitojen aktive protein kinaz (MAPK)'ların sinyal yolağı, diğer sinyal yolları ile iş birliği içerisinde [172]. MAPK yolu öncelikle birbiriyle ilişkili üç protein kinazdan oluşur. Bunlardan ilk sırada olan MAPK kinaz kinaz (MAPKKK), MAPK kinazı (MAPKK) fosforile eder ve bu da MAP kinazı (MAPK) fosforile ederek aktivasyonunu sağlar. Fosforile olan MAPK, Ser/Thr rezidülerinden transkripsiyon faktörlerini/gen düzenleyicilerini aktive eder. Tütünde, NPK1'in (bir MAPKKK) kinaz bölgesinin ifadesinin artışıyla birlikte kuraklık toleransı artarken; sera koşullarında bitkilerin yüksek fotosentetik hızlarını da koruyabildikleri bildirilmiştir [143]. Bir diğer protein kinaz grubunu oluşturan kalsiyum bağımlı protein kinazlar (CDPK'ler) ise ikincil haberci olarak görev yapan kalsiyum sinyal yolu boyunca daha ileriye sinyali iletmek için hücre içinde kalsiyum sinyalleri aracılığıyla protein sensörlerinin aktivitesini düzenler [173].

2.2.2.2.2. Transkripsiyon Faktörleri

Transkripsiyon faktörleri (TF), sinyal iletim yolunda stres cevap genlerinin düzenlenmesi yoluyla abiyotik stres cevapları ve stres adaptasyonunda önemli rol oynar. Sinyal iletimi sırasında TF'ler, stresle ilişkili genlerin promotör bölgesindeki *cis* düzenleyici elementlere bağlanır ve moleküler anahtarlar olarak ilgili genlerin sentezlenmesini doğrudan düzenlerler [174, 175]. Bitki genomundaki genlerin büyük bir kısmı (% 10 kadarı) DNA bağlanma bölgelerindeki yapısal farklılıklara göre AREB, DREB, MYB, WRKY, NAC, çekirdek faktör Y (NF-Y) ve bZIP gibi farklı gen aileleri içerisinde sınıflandırılan TF'lerini kodlar [143, 175-177]. Bu TF genlerinin bir kısmı,

kuraklık stresi altında ABA'ya bağımlı/bağımsız sinyal yolları aracılığıyla cevap oluşturmaktadır. Kuraklıkla indüklenen TF'ler Çizelge 2.5'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.5. Bitkilerde kuraklıkla indüklenen transkripsiyon faktörleri [1, 41, 50, 143, 178-191].

TF	Özellikleri ve işlevi
AREB/ABF TF	- Osmotik strese ABA sinyali sırasında genlerin ifadesini düzenleyen başlıca ABA-cevap veren element bağlanma proteini/ABRE bağlanma faktörü (AREB/ABF) olarak ifade edilen transkripsiyonel aktivatördür. - ABA'ya duyarlı gen ifadesi, promotör bölgesi içinde 8 bç uzunluğunda korunmuş bir ABRE (PyACGTGG / TC) <i>cis</i>-elementi tarafından kontrol edilir. - Yapısal olarak AREB/ABF'ler, ABA'ya bağlı gen ifadesini düzenleyen ve korunmuş bölgeler içeren dört SnRK2 fosforilasyon bölgesinden oluşur. Aktive edilmiş SnRK'lar AREB/ABF TF'leri gibi proteinleri fosforile eder ve bu proteinler ABRE <i>cis</i> elementine bağlanır. SnRK2'nin aktifleşmesi, bitkilerin kuraklığa karşı hızlı ve adaptif cevabını düzenleyen önemli mekanizmalardan birini temsil eder. - AREB/ABF aile üyelerinden AREB1/ABF2, vejetatif evrede kuraklık stresinde ABA sinyalini düzenler. - AREB1'in aşırı ifadesinin <i>Arabidopsis</i>, soya ve pirinçte kuraklık toleransını artırdığı bildirilmiştir.
MYB TF	- MYB TF'ler bitki gelişimi, primer ve sekonder metabolizmaları, hormon sentezi ve sinyal iletimi ile stres cevabını düzenleyen pek çok gen grubu tarafından kodlanır. - Kuraklık stresinde bu TF'lerin stoma hareketleri ve transpirasyon oranının ABA bağımlı düzenlenmesine katıldığı belirlenmiştir. - ABRE aracılı gen regülasyonuna ek olarak, kuraklık stresinde ABA'ya cevapta gen ifadesini düzenler. - Bu TF'ler tarafından yanal kök uzamasının baskılanmasının kuraklık tolerans mekanizmasından biri olduğu düşünülmektedir.
NAC TF	- DNA-bağlanma bölgesi ile karakterize edilir. - Promotor bölgesindeki CACG-çekirdek DNA bağlanma motifindeki NAC tanıma bölgesi ile etkileşime geçerek, kuraklıkla uyarılan ERD1 (dehidrasyona erken cevap 1) geninin transkripsiyonunu düzenler. - Bu genlerinin dokuya, gelişimsel evreye veya strese özgü olarak farklı ifade yapıları göstermesi bu genlerin bitkinin stres cevabı sırasında karmaşık sinyal ağlarında aktif katılımlarını da ortaya koymaktadır. - Bu TF'lerinin pirinç, tütün, buğday ve <i>Arabidopsis</i>'de kuraklık toleransını artırdığı bildirilmiştir.

bZIP TF	• Bitkilerde büyüme ve gelişimin düzenlenmesindeki rollerinin yanı sıra kuraklık gibi abiyotik stres cevabı açısından da önemli işlevleri düzenleyen ve temel bölge lōsin fermuarı olarak adlandırılan (bZIP) transkripsiyon faktörleridir. • ABA ile indüklenebilen bu TF'leri, ABRE'nin spesifik promotör bölgesi ile bağlandıktan sonra strese-bağılı genlerin ifade edilmesini sağlar. • Bu ailenin genlerinin çoğunlukla köklerde, yaprak vasküler dokularında ve bekçi hücrelerinde aktif olduğu belirlenmiştir. • bZIP TF'lerin kuraklıkta verilen cevapları iyileştirmedeki potansiyeli <i>Arabidopsis</i>'te GmbZIP1'in artan ifadesi ile gösterilmiştir. • Ayrıca çimen ve soyadan <i>Arabidopsis</i>'e aktarılan bZIP genlerinin artan ifadesi kuraklık toleransına sahip bir fenotipin oluşmasına neden olmuştur. • Benzer şekilde <i>OsbZIP16</i> ve <i>OsbZIP23</i>'ü aşırı ifade eden transgenik pirinç bitkilerinde de yabani tip ile karşılaştırıldığında; kuraklık toleransının önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir. • Yapılan çalışmalar ABA sinyal yolunda görev alan bZIP TF'lerinin kuraklık toleransına sahip genotipler geliştirmek için kullanılabileceğini göstermektedir.
DREB TF	• ABA bağımsız metabolik yolda görev alan ve dehidrasyona cevap veren element bağlama (DREB) proteini olarak adlandırılan bu TF'leri; DRE/CRT <i>cis</i>-elementine bağlanır. • DREB1 / CBF'yi aşırı ifade eden domates, soya ve tütünde kuraklığa karşı toleransı artıran strese duyarlı genlerin ifade olduğu belirlenmiştir. • DREB'ler kendi içerisinde 6 alt gruba ayrılmış ve bunlardan temel iki alt grup A-1 ve A-2 sırasıyla DREB-1 ve DREB-2 genleri olarak belirtilmiştir. • DREB1 genleri, ABA bağımsız ve ABA bağımlı kuraklık cevapları arasında köprü görevi görmektedir. • DREB2A ve DREB2B gibi TF'leri osmotik stres genlerinin DRE-<i>cis</i> elementini aktive ederek hücrenin osmotik dengesini korumada görev alırlar. • DREB2 proteinlerinin önemli bir özelliğı, osmotik stresin erken evresinde transkripsiyon sonrası modifikasyon ile aktiveleştirilmelerinin gerekliliğı olup bu aktif form, sinyal yolunda daha ilerideki genlerin aktivasyonu ile kuraklık cevabını indüklemeye yeteneğıne sahiptir. • Yapılan çalışmalar kuraklık stresinde DREB2A ifadesinin enerji kaybını en aza indirgenmesi ile ilişkili olduğunu ve DREB2A'nın tuz stresine, DREB2B'nin ise kuraklık stresine cevapta gen ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir.
WRKY TF	• Bu TF'leri W kutusu olarak adlandırılan korunmuş bir sekansa bağlanarak gen ekspresyonunu düzenlenmesinde görev alır. • Tohum çimlenmesi ve stres cevabı sırasında ABA sinyal yolunun pozitif düzenleyicileri olan WRKY18 ve WRKY60 zayıf transkripsiyonel aktivatör olarak rol alırken, ABA sinyal yolunun negatif düzenleyicisi olan WRKY40; DREB1A/CBF3, DREB2A ve MYB2 gen promotörlerine bağlanarak bu genlerin ifadelerini baskılar.
NF-Y TF	• NF-YA, NF-YB ve NF-YC olmak üzere üç farklı altbirime sahip olan heterotrimerik proteinler olup hedef genlerin promotör bölgesindeki CCAAT kutusuna spesifik olarak bağlanırlar. • NF-Y transkripsiyon faktörlerinin özellikle kuraklık stresine cevap ve toleransta rol alması ile ilişkili çalışmalar yapılmıştır. • NF-Y'nin B alt biriminin aşırı ifadesi, mısırın kuraklığa dayanıklılığını artırdığı bildirilmiştir.

2.2.2.2.3. Küçük RNA'lar

Son zamanlarda, abiyotik streslere karşı gen ifadesinin düzenleyicileri olarak dikkat çeken küçük RNA'lar, mRNA translasyonunu etkileyerek biyolojik süreçleri düzenler

[143]. Kodlanmayan küçük RNA'ların iki farklı çeşidi vardır: microRNA'lar (miRNA'lar) ve small interfering RNA'lar (siRNA'lar). Biyolojik süreçleri miRNA'lar, mRNA bozunumu veya translasyonel baskılama ile etkilerken; siRNA'lar DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve mRNA bozunumu mekanizmaları ile transkripsiyonel veya transkripsiyon sonrası seviyede etkiler. Bitkilerde kuraklık sinyalinde miRNA'lar önemli düzenleyicilerdir ve hedefi olan genler metabolizma ve sinyal iletiminde anahtar rollere sahiptir [178, 179]. miRNA'lar; kuraklıkla ilişkili tüm hücrel yolaklarda bulunurlar ve hedeflenen TF'lerin ya da genlerin ifadesini düzenleyerek kuraklık tolerans mekanizmasında kilit rol oynamaktadır [180, 181].

Kuraklık stresinde bitkilerin oluşturduğu cevaplar dinamiktir. Stresin algılanmasında çeşitli sinyal iletim yolları devreye girer ve bu yollardaki basamaklarda çapraz geçişler olabilir [182] (Şekil 2.4). Kuraklığa cevapta gen promotorleri bir DRE/CRT bölgesi içerir ve ABA-bağımsız DREB/CBF TF'si bu bölgeye bağlanarak ABA-bağımlı DREB2A ve DREB2C proteinlerinin AREB/ABF ile ilişki kurması da ABA'ya bağımlı ve bağımsız sinyal ve düzenleyici yollar arasında bir işbirliği olduğunu göstermektedir.

2.2.3. Kuraklık ve Fitohormonlar

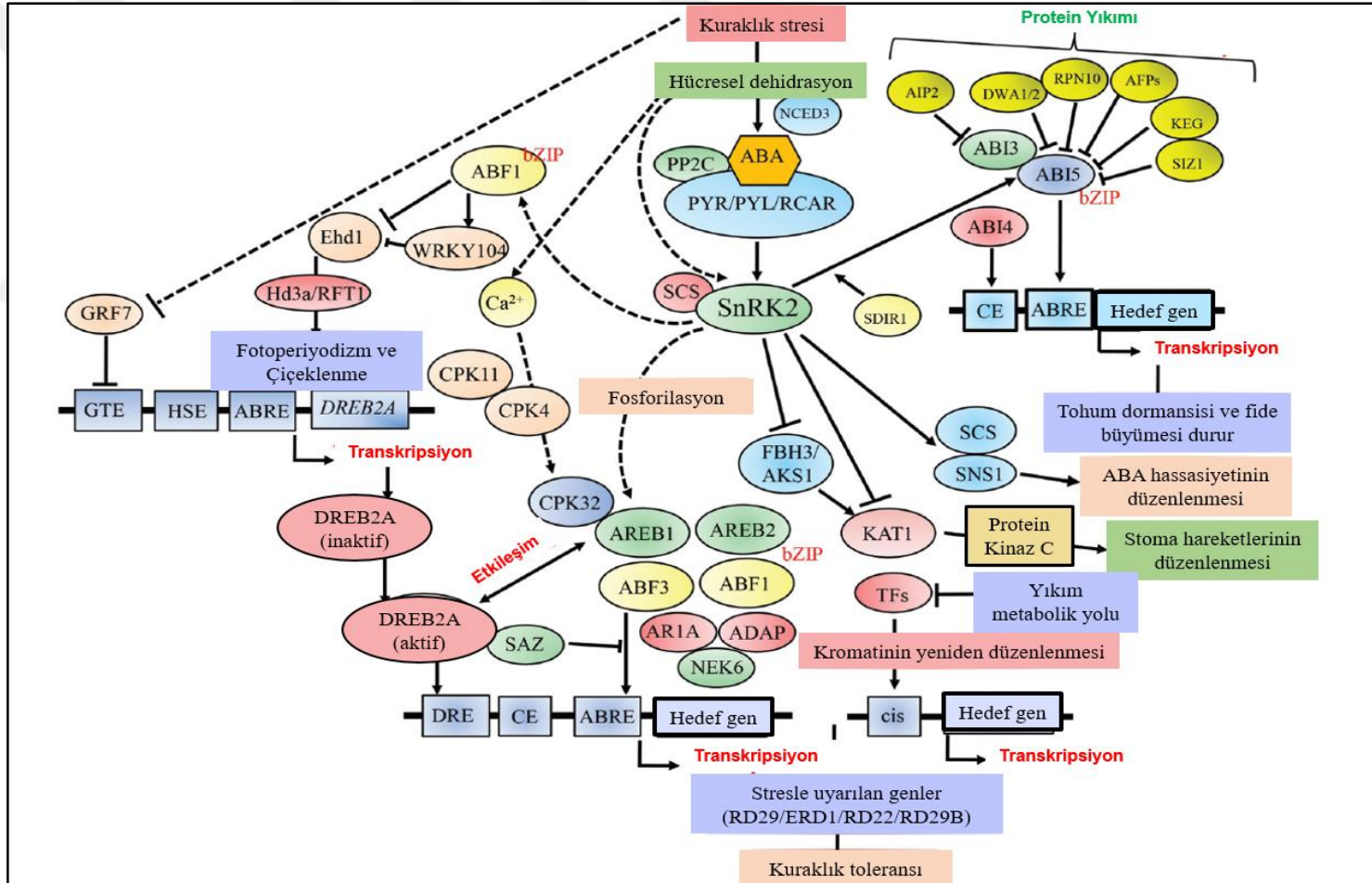
Fitohormonlar (FH); oksin (IAA), sitokinin (CK), gibberelik asit (GA), absisik asit (ABA), jasmonik asit (JA), etilen (ET), salisilik asit (SA) ve az sayıdaki diğer hormonları (brassinosteroidler -BR-, nitrik oksit -NO-, poliaminler ve strigolakton) içeren bitki büyüme düzenleyicileridir. Hormonlar, bitkilerin büyüme ve gelişmesi esnasında düzenleyici işlevlerinin yanı sıra çevresel streslere cevapların oluşturulmasında yer alan çeşitli sinyal iletim yollarında anahtar rollere sahiptir [184]. Oksinler, GA'lar ve sitokininler bitkiler için öncelikle gelişim süreçlerinde rol oynarken; stres cevaplarını ya da stres koşullarında büyümeyi düzenlerler. ABA, JA, etilen ve SA ise çeşitli abiyotik ve biyotik stres cevaplarına aracılık eder (Çizelge 2.6) [192].

2.2.4. Kuraklıkla Meydana Gelen Proteom Değişimleri

Belirli bir zaman ve koşulda tüm proteinlerin ifadesinin geniş bir haritasını temsil eden PROTEOM terimi (genOM tarafından ifade edilen PROTEinler); bir hücrenin, dokunun veya organizmanın proteinlerinin kantitatif toplamı olarak da tanımlanabilir. Proteomik ayrıca proteinlerin saptanması, miktarlarının belirlenmesi, translasyon sonrası modifikasyonların belirlenmesinin yanı sıra protein-protein etkileşimlerinin incelenmesini de kapsamaktadır [203].

Bitkilerde abiyotik stres toleransının araştırılmasında önemli bir işlem olarak ortaya çıkan proteomik, stres veya toleransla ilişkili yeni proteinlerin hızlı bir şekilde tanımlanmasına ve incelenmesine imkan vermektedir [204]. Hem model hem de model olmayan bitkiler için mevcut genomik bilgiye ek olarak, biyoinformatik analizler ve analitik araçların gelişimi; proteomiği bitkilerin yaşam döngüsü ile abiyotik/ biyotik gen ifadesindeki ABRE elementi için birleşim elemanı oluşturur [183]. DREB1A/CBF3, streslere verilen cevaplardaki önemli sinyal metabolizmaları ve biyokimyasal yolları aydınlatan önemli bir yaklaşım yapar [203]. Proteomik ile stres koşulları altındaki proteom kompozisyonundaki değişiklikleri ve bunun yanı sıra bitkinin strese uyumunu sağlayan mekanizmalarda yer alan anahtar proteinlerin tanımlanması da mümkün olmaktadır. Bununla birlikte, bir proteinin, hücre altı yerleşimi, translasyon sonrası modifikasyonlar (PTM) ve etkileşimde olduğu diğer metabolitlere bağlı olarak gerçekleştirdiği farklı fonksiyonlar nedeniyle, organel proteomlarının, PTM'lerin ve protein-protein etkileşimlerinin araştırılması son derece önemlidir.

Abiyotik stres çalışmalarında, stres uygulanan bitkiler ile kontrol gruplarının proteomlarını karşılaştırarak protein birikimindeki değişiklikleri fenotipik tepki ile ilişkilendirmeye çalışmak ve strese karşı farklı duyarlılığı olan genotipler arasındaki karşılaştırmalar (duyarlı/ toleranslı), toleranslı genotiplerde farklı olarak zengin proteinlerin tahmini etkisini anlamak için yaygın bir uygulamadır. Bitkilerin strese verdiği cevaplar dinamik bir süreç olup; stresin yoğunluğu, süresi ve stres uygulanan bitkinin gelişim evresi ile ilişkilidir. Bitki stres cevabı başlangıç, uyum, koruma, tükenme ile iyileşme gibi safhalardan oluşup her bir safha kendine özgü transkriptom, proteom ve metabolom değişiklikleri ile karakterizedir [203]. Bitkiler tarafından kuraklığı da içeren çevresel streslere karşı geliştirilen moleküler ve hücresel seviyelerdeki stratejilerin büyük bir çoğunluğunu genler tarafından doğrudan kontrol edilen ve proteinler tarafından işlevsel hale getirilen çeşitli fizyolojik süreçlerdeki değişimler oluşturmaktadır [204, 205]. Strese verilen cevapta proteinler, yalnızca metabolit seviyelerindeki değişimleri katalizleyen enzimleri içermekle kalmaz, aynı zamanda transkripsiyon ve translasyon bileşenlerini de içerir ve transkript/protein seviyelerinde bitki stres cevabını da düzenler. Ayrıca proteinler plazma zarında, hücre sitoplazması ve iskeleti ile birlikte hücre içi bölgelerin kompozisyonunda değişikliklere neden olan doğrudan stres uyumu işlevlerine sahiptirler [203].



Şekli 2.4. Bitkilerde hücresel dehidrasyonda anahtar role sahip farklı TF'lerinin transkripsiyonel düzenleme modeli [1].

PP2C-PYR/PYL/RCAR kompleksi AREB/ABF-SnRK2 yolunu pozitif düzenler. SnRK2 daha sonra stres ve aynı zamanda tohum olgunlaşmasında FBH3/AKS1, SNS1 ve AREB/ABF'leri içeren diğer TF'leri düzenler. Fosforile AREB/ABF TF'leri AREB1, AREB2, ABF3 ve ABF1 hedef genlerinin promotor bölgesine bağlanır ve dehidrasyona cevap olarak ifadelerini aktifleştirir. ABA bağımsız gen ifadesinin en önemli TF'si olan DREB2A'nın ifadesini GRF7 baskılar. PP2C-PYR/PYL/RCAR, pirabaktin direnç 1/ PYR1 benzeri/ ABA reseptörlerinin düzenleyici bileşenleridir; PP2C, protein fosfataz 2 C, CE, eşleşme elementi, GTE,GRF7'yi hedef alan cis element, HSE, ısı şoku elementi, TF, transkripsiyon faktörü.

Çizelge 2.6. Kuraklıkla indüklenen fitohormonlar [57, 108, 192-202].

FH	Özellikleri
Absisik asit (ABA)	- Fitohormonlar arasında "stres hormonu" olarak da adlandırılan ABA bitkilerin abiyotik stres adaptasyonunda oluşturduğu cevaplarda farklı rollere sahiptir. - Çevresel streslere cevap olarak özellikle kuraklıkta ABA, suyun tasarrufunu sağlamak için stomaların kapanması ile transpirasyon aktivitesini engelleme ve yaprak genişlemesinin azalmasında hayati bir rol oynamanın yanı sıra; strese cevap veren genlerin ifadesi; LEA proteinleri, dehidrinler, diğer koruyucu proteinler, osmoprotektanlar ve antioksidan enzimlerin sentezinin düzenlemesi ve protein kinazlar/ fosfatazların yardımıyla iyon kanallarının aktivasyonu veya inaktivasyonunu sağlayan kimyasal sinyal molekül işlevi görür.
Oksin [IAA (indol-3-asetik asit)]	- Stres koşullarında bitki büyümesinin yönlendirilmesinde hayati önem taşıyan oksin hücrese seviyede hücre bölünmesini, uzamasını ve farklılaşmasını etkiler. - Bu hormon; kök yapısı, ROS metabolizması ve ABA'ya cevap olarak gen ifadesini değiştirerek kuraklık toleransı üzerindeki etkisini gösterir. - Oksinin stoma hareketlerini etkileme fonksiyonuna ek olarak akuaporin fonksiyonunu da etkiler ve bu şekilde hem akuaporin dağılımını düzenleyerek hemde yanal kök oluşumunun teşvik ederek kökte su taşınımını artırır.
Sitokininler (CK)	- Bitkilerin su stresi koşullarına adaptasyonda CK, ABA ile birlikte çalışmaktadır ve kuraklık koşullarında CK azalması ve ABA birikimi ABA/CK oranını artırır. ABA tarafından stoma hareketlerinin düzenlenmesi ile birlikte azalan CK'nin apikal dominansı artırarak kuraklık stresine adaptasyonda yardımcı olur. Stresle indüklenen CK'ler ve ABA'daki değişimler erken yaprak senesensini teşvik eder ve bitkide yaprak miktarı ve sonuç olarak su kaybı azalır. - CK biyosentezinde hız sınırlayıcı basamağı kontrol eden izopenteniltransferaz (IPT) enzimine ait genin ifadesinin artırıldığı transgenik bütün bitkilerinde, su verimliliği ile kuraklık toleransında artış olduğu belirlenmiştir. Ayrıca IPT'nin aşırı ifadesinin birçok bitki türünde kuraklık koşullarında bitki performansını iyileştirdiği tespit edilmiştir.
Salisilik asit (SA)	- ABA ile birlikte SA, kuraklık cevabının düzenlenmesinde görev alır ve SA birikimi stomaların kapanması ve kuraklık toleransının artması ile ilişkilidir. - Kuraklığa maruz kalan dışsal SA uygulaması, stomatal iletkenlik ile birlikte net CO₂ asimilasyon oranının artmasına ve sonuçta bitki kuru ağırlığının artışına neden olmuştur.
Etilen (ET)	- Kuraklık stresine karşı oluşan sinyalizasyon sırasında ABA ve JA arasındaki etkileşime benzer şekilde etkileşim JA ve ET arasında gerçekleşir ve bu iki hormon bitkide savunma genlerini düzenlemek için işbirliği yaparak abiyotik stres toleransını düzenler. - Kuraklık koşullarında stomaların kapanması üzerine ET'nin rolünün, bekçi hücrelerinde NADPH oksidaz aracılı ROS üretimi yolunu uyararak stoma kapanması tetiklemesi olduğu yapılan bazı çalışmalarda bildirilmektedir. - Ayrıca kuraklık koşullarında etilen, flavonol birikimini uyararak hem ROS konsantrasyonunu hem de ABA'nın uyardığı stoma kapanma oranını azaltır.
Strigolakton (SL)	- Önemli bir sinyal molekül grubunu oluşturan SL'ler, bitkilerin değişen çevresel koşullara gelişimsel adaptasyonlarının anahtar düzenleyicileri konumunda olduğu bildirilmiştir. - SL ve ABA'nın stoma hareketleri ve fonksiyonu düzenleyerek stres sinyallerinin iletiminde önemli bir rol oynadığı ve dışsal SL uygulamasının kuraklığa toleransı artırarak SL'nin stres cevabında pozitif bir düzenleyici olduğunu bildirilmiştir.

Brassinosteroidler (BR)	- Dışsal BR uygulamasının, net fotosentetik aktivite (PSII etkinliği, eksitasyon enerjisinin dağılımı), nispi su içeriğini ve antioksidan enzim aktivitesini artırarak kuraklık stresinin etkisini önemli ölçüde bitkilere tolerans sağladığı belirlenmiştir. - BR tarafından indüklenen kuraklık toleransı hem yapısal hem de düzenleyici proteinleri kodlayan gen ifadesindeki değişiklikleri de içerir. <i>A. thaliana</i>'da WRKY transkripsiyon faktörlerinden WRKY46, WRKY54 ve WRKY70'in BR aracılı büyümede pozitif ve kuraklık cevabında ise negatif olarak yer alan önemli sinyal bileşenleri olduğu belirlenmiştir.
Giberellinler (GA)	<i>A. thaliana</i>'da gen ifadesinde değişikliğe neden olan kuraklık ve osmotik stresin, GA içeriğinde de azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Proteomik yaklaşım, kuraklık stresine karşı oluşturulan cevapları ve stres cevabında yer alan mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlayan yararlı bilgiler sunmaktadır. Kuraklıkla değişen proteinlerin ifade dinamikleri ve PTM ile bu proteinlerin işlevleri ve etkileşimleri hakkında doğrudan fikir edinmek; biyolojik markör seçimi ve transgenik stratejiler aracılığıyla yeni özelliklere sahip kuraklığa toleranslı bitkilerin üretimi için önemli bilgiler sağlamaktadır (Şekil 2.5) [206].

Kuraklık stresi bitkinin tüm organlarında morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeylerde bir takım değişiklikler meydana getirir. Proteomik ve biyoinformatik analizler, bitkilerde kuraklığa cevapta yer alan proteinlerin kapsamlı olarak tanımlanması için iyi bir araçtır. Genel olarak, kuraklık bitkilerde; sinyal iletimi, karbohidrat ve enerji metabolizması (glikoliz, Calvin döngüsü, ATP biyosentezi vb.) azot ve amino asit metabolizması, protein metabolizması, transkripsiyon, savunma metabolizması, protein sentezi, katlanması ve yıkımı, fotosentez ve fotosolunum, membran ve taşıyım, hücre yapısı ve hücre döngüsü ile yağ asidi metabolizması, protein katlama ve şaperon aktivitelerine katılan proteinler, diğer koruyucu proteinleri (LEA, PR proteinleri gb.) içeren protein ağında önemli değişikliklere neden olur [207, 208]. Son yıllarda proteomik çalışmalardan elde edilen bulgular ile kuraklıkta bu metabolik yollar ve bu yollarda yer alan önemli proteinlerin ifade değişimleri aşağıda listelenmiştir.

2.2.4.1. Sinyal İletimi ile İlgili Proteom Değişimleri

Bitkilerde en önemli hücre sinyal metabolik yollarından birini oluşturan G-proteinlerinin en büyük monomerik ailesini oluşturan küçük GTPaz Rab proteinlerinin abiyotik stres

cevaplarında yer aldığı belirlenmiştir [209]. Son yıllarda proteomik çalışmalar, G protein alt birimlerinin (alfa ve beta alt birimi), küçük G proteinlerinin (Ras-ilişkili protein Rab7 ve Ras-ilişkili çekirdek protein Ran vb.) ve Ran-bağlayıcı protein 1'in kuraklık uygulanmış yapraklarda arttığını göstermiştir [208]. G protein alfa alt birimi kuraklık stresinin düzenlenmesinde olumlu bir rol oynarken [210] *Arabidopsis*'deki G protein beta alt birimi kuraklık toleransını olumsuz şekilde düzenlemektedir [211, 212]. Kuraklık stresinde ikincil haberci olarak görev alan kalsiyum protein kinaz aktivitesi ile gen ifadesini düzenler [213]. Kuraklığa cevapta, kalmodulin (CaM), kalsiyum algılama reseptörü (CaSR), kalretikulin (CRT) ve kalsiyum bağımlı protein kinaz (CDPK) gibi çeşitli kalsiyum bağlanma proteinlerinin (CaBs) proteomik çalışmalarda değişim göstermiştir. CRT'yi aşırı ifade eden tütün bitkilerinin kuraklığa tolerans gösterdiği bildirilmiştir [214]. Bitkilerin kuraklık toleransında negatif düzenleyici olarak bilinen, protein fosfataz 2C (PP2C) ve fosfolipaz D (PLD)'nin ve CDPK'ların protein miktarı ve fosforilasyon seviyesinin de değişim gösterdiği bildirilmiştir [215, 216].

14-3-3 proteinleri; sinyal iletimi, membran reseptörleri ve transkripsiyon aktivasyonu da olmak üzere bitkilerde düzenleyici süreçlere katılan hücre içi dimerik fosfoerin/treonin bağlanma molekülleri olup; proteomik çalışmalarda pirinç, buğday ve mısır gibi bitkilerde 14-3-3 protein ailesi ve 14-3-3 benzeri proteinlerinin bazı üyelerinin kuraklıkta farklı cevaplar oluşturduğu belirlenmiştir [217-221]. H⁺-ATPaz'ların pozitif düzenleyicisi olarak bilinen 14-3-3 proteinleri ABA sinyal yolunun düzenlenmesi yoluyla kuraklık stres cevabında rol almaktadır. Ayrıca, yapılan çalışmalarda pamuk bitkisinde kuraklık koşullarında etilen sinyal yolunda yer alan [222] etilene-cevap transkripsiyon faktörünü (ERF) ile mısırdaki oksin bağlanma [216] proteininin (ABP) bazı üyelerinin ifadelerinin uyarıldığı belirlenmiştir.

2.2.4.2. Metabolik Yollarda Meydana Gelen Proteomik Değişimler

2.2.4.2.1. Savunma Metabolizması

ROS uzaklaştıran savunma sistemi ile ilgili çeşitli bitkilerde meydana gelen proteom değişimlerini ortaya koyan birçok çalışma bulunmaktadır. Proteomik çalışmalarda, bitkileri ROS hasarından koruyan enzimlerden ilk sırada yer alan enzimlerden SOD'un ifadesinin buğday [223], tütün [224], pirinç [225], *Rhododendron chrysanthum*'da [226] değişim gösterdiği; meşe [227], kuraklığa dayanıklı pirinç yapraklarında [228] ve buğdayda [229] ise POD'ların ifadesinin arttığı belirlenmiştir. H₂O₂'e yüksek afinite

gösteren etkili ROS uzaklaştırıcılarından GPX düzeyi tütün, kolza ve orman gülü bitkisinde kuraklıkla beraber artış göstermiştir [226, 230, 231].

Kuraklığa cevapta önemli bir antioksidan yolunu oluşturan AsA-GSH metabolik yolunda yer alan pek çok protein ifadesi kuraklık koşullarında artış göstermiştir. H_2O_2 'yi suya dönüştüren hidrojen peroksit detoksifikasyon sisteminin anahtar enzimlerinden olan APX ifadesi soya [232], ekmeklik buğday [223], pirinç [233], kolza [234] gibi pek çok bitkide değişim göstermiştir. GSH döngüsünde, glutatyon redüktaz (GR) GSSG'nin GSH'ye indirgenmesini katalizleyen bir hız sınırlayıcı enzim olarak görev yapar. Ayrıca, askorbatın indirgenmiş halde kalmasını sağlayabilen iki enzim olan DHAR ve MDHAR ifadeleri de stresle birlikte pirinç ve buğdayda [225, 229] artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak ROS temizlenmesinde görev alan poliamin oksidaz [229], glutamat sistein ligaz, metilglioksil, metionin sülfoksid redüktaz [235] gibi pek çok enzim ifadesi kuraklık koşullarında artmıştır.

Patojen ilişkili (PR) proteinler, patojen enfeksiyonuna yanıt olarak indüklenen bir grup bitki proteini olup biyolojik fonksiyonlarına veya birincil yapı benzerliğine bağlı olarak 17 farklı aileye (PR-1/PR-17) sınıflandırılmıştır [236, 237]. Kuraklık koşullarında bitki proteomunda kitinaz, hastalık direnç proteini (DRP), polifenol oksidaz (PPO), patojen savunma-ilşkili protein 10 (PR10) gibi patojen ilişkili pek çok proteinin ifadesi artış göstermiştir. *Eucalyptus sp.* [238] ve bermuda çimeninde [239] temel kitinaz ifadeleri artmıştır. *B. hygrometrica*'da [240] polifenol oksidazın ifadesinin ve aktivitesinin artması su noksanlığına adaptasyonda bu proteinin önemini ifade etmektedir. Ayrıca, Wu ve ark. [241], PR10 proteininin artan ifadesinin tütünde kuraklığı da içeren pek çok strese toleransı artırdığını belirlemiştir.

Kuraklık toleransı için son derece önemli olan ve **osmotik düzenleme ile ilişkili**; LEA, dehidrin, betain aldehit dehidrogenaz gibi bazı proteinlerinin pirinç [242], buğday [243], mısır [216], ekmeklik buğday [244] ve kolza [231] yapraklarda birikimi kuraklıkla beraber artmıştır. Grup 2 LEA proteinleri olarak bilinen dehidrinlerin mısırdaki kuraklıkta artan fosforilasyonu ile protein yapısının stabilizasyonu ve şaperon benzeri aktivite gösterdiği belirlenmiştir [233]. Bitkilerin kuraklığa adaptasyonunda pozitif etki gösteren ve betain aldehiti, glisin betaine çeviren BADH'in arpada [245] kuraklıkla ifadesi artmıştır.

2.2.4.2.2. Fotosentez, Fotosolunum ve Karbohidrat Metabolizması

Stoma kapanmasına bağılı olarak su stresinin başlıca zararlı etkilerinden biri fotosentezin inhibisyonu olup fotosentezle ilişkili proteinlerin genelinde azalış görülmektedir. Fotosentezde yer alan önemli proteinlerden ışık toplayıcı klorofil a/b bağlanma proteinleri, karbonik anhidraz, sedoheptuloz-1,7-bisfosfataz, ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/ oksijenaz büyük altbirimi (RbcL), ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz /oksijenaz küçük altbirimi (RbcS), oksijen oluşumunu artırıcı protein 1 ve 2 (OEE1 ve OEE2), fosforibulokinaz, fruktoz 1,6 bisfosfat aldolaz, gliseraldehit-3- fosfat dehidrogenaz (GAPDH), fosfogliserat kinaz (PGK), rubisko aktivaz (RCA) gibi pek çok proteinin ifadesi kuraklık koşullarında stresin süresine, şiddetine ve uygulanan bitkilerin gelişim evrelerine göre farklı düzeylerde artış ya da azalışlar göstermiştir [225, 234, 246-250].

Kuraklıkla birlikte, foto-inhibisyona karşı fotosentetik mekanizmayı koruyan fotosolunumda yer alan bazı proteinlerin ifadelerinde azalma belirlenirken; glikol oksitaz, glisin dehidrojenaz, serin glioksilat aminotransferaz ve serin transhidroksimetil transferaz gibi enzimlerin *M. domestica*'da orta şiddetli kuraklıkta önemli düzeyde artış göstermiştir [251].

Glikoliz/Glukoneogeneziste yer alan fosfoglukomutaz pirinçte [228] azalırken, *C. lanatus*'da [252] kuraklığa cevap olarak artış göstermiştir. Fruktoz-bisfosfat aldolaz (FBPA) ifadesi *M. domestica*'da [251] kuraklığa duyarlı genotiplerde azalırken, toleranslıda artmıştır. Sitozolik FBPA ve GAPDH'in kuraklık toleransı ile pozitif ilişkisi vardır. Kuraklık koşulları altında elektron taşıma zincirinde yer alan proteinler [231, 250] ile ATP sentaz alt üniteleri (kloroplastik ve mitokondriyal) bitkinin fizyolojik aktivitesini sürdürebilmesi için enerji üretimini artırmak ve stres hasarını engellemek için ifade düzeylerini değiştirmiştir [205, 223, 225, 234, 246, 253].

2.2.4.2.3. Azot ve Protein Metabolizması

Bitkilerde kuraklıkla birlikte **azot ve protein metabolizmalarında** yer alan önemli bazı enzimlerin ifadelerinde azalmalar gözlenmiştir. Kuraklık stresi glutamik asiti substratı olarak kullanan ve amonyumun glutamine özümlemesini gerçekleştiren glutamin sentetaz 1 ve 2 ile glutamat sentaz (GOGAT) protein miktarını pek çok bitki çeşidinde azaltmıştır [208, 224, 234, 246, 247, 254]. *P. pratensis*'de aspartat aminotransferaz ile alanin aminotransferaz miktarları kuraklıkla azalmıştır [255]. S-adenosil-L-metionin (SAM) döngüsü DNA metilasyonu, gen ifadesi ve hücre çeper metabolizması üzerinde

önemli rollere sahip olup kuraklık koşullarında bu döngüde yer alan anahtar enzimler meşe [256], buğday [246], mısır [216] ve darıda [205] artış göstermiştir. Amino gruplarının, diğer amino asitlere aktarımında görev alan aminotransferazların (aspartat aminotransferaz -AST- ve alanin aminotransferaz -ALAT-) ifadelerinin kuraklıkta azalması, amino asitlerin rol aldığı çeşitli metabolitlerin sentezinin inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir [255, 257].

Bitkilerde temel metabolik süreçlerden **protein sentez ve yıkımı** ile ilişkili proteinlerden kuraklığa cevapta yer alanların % 16'sının yapısal protein sentezinde görev aldığını ortaya konulmuştur. Protein sentezinde yer alan ribozomal protein (RP), uzama faktörü (EF), translasyon başlatma faktörü (TIF), tRNA sentaz (TRS) ve ribozom yenilenme faktörü (RRF) gibi pek çok proteinin miktarı kuraklık koşullarında artış göstermiştir [208]. Kuraklıkta proteazomlar, proteazlar ve peptidazlar da dâhil olmak üzere kuraklık protein yıkımıyla ilgili proteinler artış gösterir. Bitkilerin kuraklık toleransının pozitif düzenleyicilerinden olan E3 ubikuitin ligazın fosforilasyon seviyesi kuraklıkta ekmeklik buğday ve mısır yapraklarında önemli ölçüde artış göstermiştir [215, 258].

2.2.4.2.4. Yağ Asiti Metabolizması

Su stresi altında lipid kompozisyonundaki değişiklikler, zar bütünlüğünün koruması için önemlidir. Yağ asitlerinin biyosentezine katılan dört protein (asetil-koenzim A karboksilaz karboksil transferaz, asil taşıyıcı protein, enoil-asil taşıyıcı protein redüktaz ve lipoksijenaz 6) ile yıkımında görev alan üç proteinin (tiyolaz I, tiyolaz II ve asil-CoA dehidrogenaz) kuraklık koşullarında düzeyinin ve yapısının değişimine bağlı olarak yağ asiti/lipid metabolizmasının etkilendiği birçok çalışma bildirilmiştir [259, 260]. Zhao ve ark. [261], kuraklıkta mısır yapraklarında yağ asiti desaturaz ifadesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Açıl taşıyıcı protein miktarının *Parthenium hysterophorus*'da artarken [262], arpada azaldığı tespit edilmiştir [263]. Cao ve ark. [264] ise *Amygdalus mira*'da kuraklık koşullarında enoil-ACP redüktaz proteinlerinin kuraklıkla azalıp sonrasında yeniden sulama ile arttığını belirlemiştir. Bununla birlikte membran lipidlerinden doymamış yağ asitlerinin, *C. dactylon*'da yaprak dehidrasyon toleransına büyük katkı sağladığı tespit edilmiştir. Ayrıca kuraklıktan sonraki rehidrasyon sürecinde ise *Parkinsonia aculeata*'nın yapraklarında kloroplast lipidleri (monogalaktoşildiaçilgliserol ve digalaktoşildiaçilgliserol) ile plastidial lipidler (fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin) miktarlarının arttığı ve tolerans geliştirdiği saptanmıştır [69].

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Bitki materyali

Tez çalışmasında kullanılan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) genotipleri T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü'nden temin edilmiştir ve genotipler aşağıda listelenmiştir.

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan ayçiçeği genotipleri.

Kullanılan Ayçiçeği Genotipleri

Ayçiçeği Çeşitleri		
1- Hornet	4- Kaan	7- Coral
2- Tunca	5- Duna	8-Tarsan-1018
3- Sirena	6- Şems	9- Bosfora
Ayçiçeği Melezleri		
<i>Helianthus annuus</i> X <i>Helianthus agrophyllus</i>		
<i>Helianthus annuus</i> X <i>Helianthus deserticola</i>		
Atasal Tür		<i>Helianthus agrophyllus</i>

3.2. Bitki Yetiştirme Yöntemi

Yaklaşık aynı morfoloji ve büyüklüğe sahip, embriyosu ve tohum kabuğu sağlam olan tohumlar seçilerek kabuk sterilizasyonu işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemde, seçilen tohumlar %5'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) ile 3 dk sterilize edilmiş, 10 kez distile su ile yıkanmış ve sonrasında iki saat distile su ile imbibisyona bırakılmıştır. Ayçiçeği çeşitlerine ait 4'er adet tohum her uygulama için üç saksıya ekilmiştir. 14 X 13 cm (üst çap X yükseklik) boyutundaki plastik saksılarda yetiştirme ortamı olarak 800 g toprak kullanılmıştır ve bu toprak Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Haymana tarım arazisi bölgesinden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan toprağının bazı fiziksel ve kimyasal analizleri Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, Toprak Analiz Laboratuvarı'nda yapılmış ve analiz sonuçları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Bu analiz sonuçlarına göre toprağın azot ve fosfor içerikleri bakımından yetersiz potasyum içeriği bakımından ise yeterli olduğu belirlenmiştir. Toprakta ilgili besin elementleri yetersiz olduğu için süreç zarfında bir sorun oluşturmaması adına 100 ppm amonyum nitrat ve 50 ppm KH₂PO₄ gübrelerinden gerekli miktarlarda saksılara

Çizelge 3.2. Tez çalışmasında kullanılan deneme toprağının bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları.

% N	ppm P	ppm K	pH	EC(dS/m)	% Kireç	% O.M	Tekstür
0.06	7.6	315	8	0.54	19.76	1.345	Kil

uygulanmıştır. Ekimden sonra uygulamaya kadar geçen süre ile hasat günlerine kadar saksıların günlük ağırlıkları tartılarak son ağırlık tarla kapasitesine eşit olacak şekilde gün aşırı saksılar sulanmıştır. 25+2°C sıcaklık ve % 50-60 nem koşullarına sahip olan kontrollü iklim odasında tohumların ekimini takiben 5 gün boyunca saksılar karanlıkta (üzeri kapatılarak) tutulmuş ve çimlenme sağlanmıştır. 5. günün sonrasında bitkiler 25+2°C sıcaklık, % 40-55 nem, 16 saat ışık/8 saat karanlık fotoperiyodu ve 250 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ışık şiddetine sahip olan iklim odasında 40 gün boyunca büyütülmüştür.

3.3. I. AŞAMA: KURAKLIĞA TOLERANSIN BELİRLENMESİ

3.3.1. Bitki Materyali

Bu aşamada 9 adet ayçiçeği çeşidi kullanılmıştır.

3.3.2. Uygulamalar

Kontrollü iklim odasında 40 gün boyunca yetiştirilen çiçeklenme öncesi dönemdeki ayçiçeği çeşitlerine; orta şiddette kuraklık (7 gün) ve şiddetli kuraklık (9 gün) olmak üzere sulamaksızın kuraklık uygulanmış ve her iki stres grubu için de 5'er gün yeniden sulama ile iyileşme uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada çeşitlere yapılan uygulamalara ait kısaltmalar aşağıda listelenmiştir (Şekil 3.1).

C: 40 günlük kontrol grubu bitkileri

C_M: Orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına ait 47 günlük kontrol grubu bitkileri

M: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 7 gün -orta şiddette- kuraklık uygulanan bitkiler

C_{RM}: R_M uygulamasına ait 52 günlük kontrol grubu bitkileri

R_M: 7 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler

C_S: Şiddetli kuraklık (S) uygulamasına ait 49 günlük kontrol grubu bitkileri

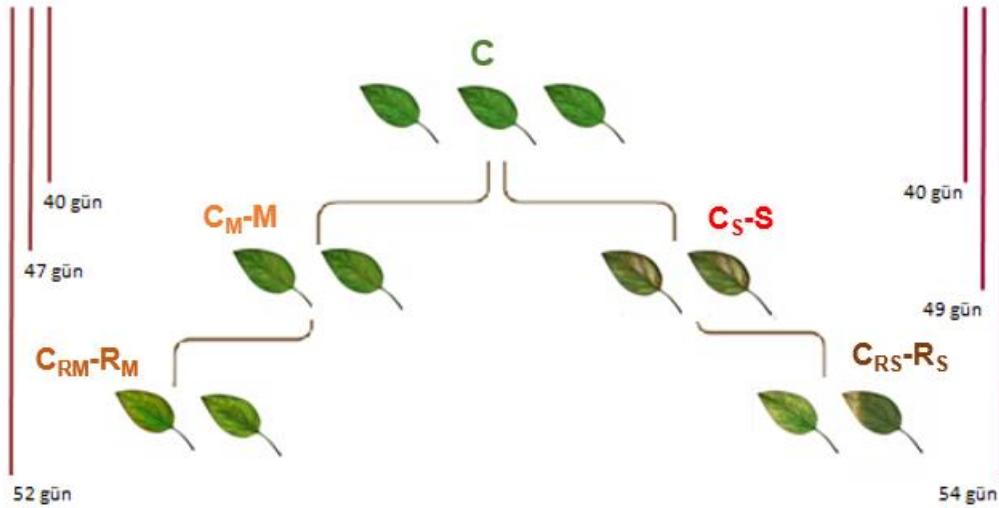
S: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 9 gün - şiddetli- kuraklık uygulanan bitkiler

C_{RS}: R_S uygulamasına ait 54 günlük kontrol grubu bitkileri

R_S: 9 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler

Ayçiçeği çeşitlerinde çiçeklenmenin hemen öncesinde 40. günde kontrol grubunun (C) ilk hasadı yapılmıştır. Daha sonra saksılar rastgele seçilerek gruplandırılmış ve 2 farklı kuraklık stresi (M-S) ile iyileşme (R_M - R_S) uygulamaları olmak üzere toplamda 4 farklı uygulamaya maruz bırakılmıştır. İlk gruptaki bitkilere 7 gün sulamaksızın -orta şiddette- kuraklık uygulanmış ve bu 7 gün sonrasında kendi kontrol grubu (C_M) ile 2'şer bitki kullanılarak hasat yapılmıştır. Benzer şekilde ikinci gruptaki bitkiler için de 9 gün sulamaksızın -şiddetli kuraklık- uygulanmış ve sonrasında kendi kontrol grubu (C_S) ile bu bitkilerin hasadı yapılmıştır. Üçüncü sırada orta şiddette kuraklık ve sonrasında 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan R_M grubu bitkilerinin de kendi kontrol grubu (C_{RM}) ile ve son olarak şiddetli kuraklık ve sonrasında 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan R_S grubu bitkilerde de kendi kontrol grubu (C_{RS}) kullanılarak hasat edilmiştir.

Bu aşamada polifazik klorofil a floresansı kinetikleri, yaprakta fotosentetik pigment içeriği ve yaprak dokularındaki membran hasarı analizleri yapılarak ayçiçeği



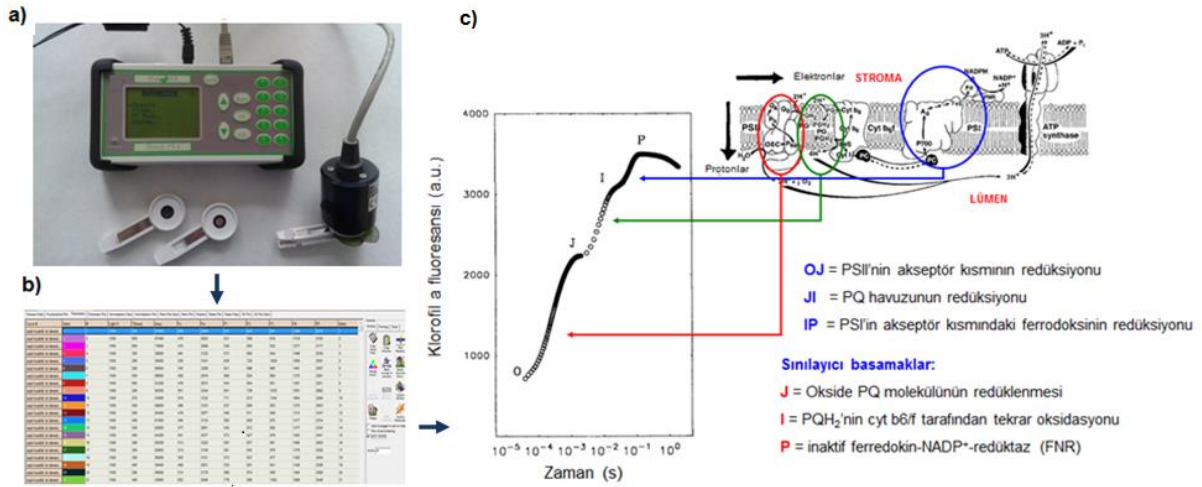
Şekil 3.1. Orta ve şiddetli kuraklık uygulamaları ile iyileşme gruplarına ait deneme düzeni

çeşitlerinde 2 farklı şiddette kuraklık (M-S) ve bunlara ait iyileşme (R_M - R_S) uygulamalarının meydana getirdiği değişiklikler ve bitkilerin tolerans düzeyleri belirlenmiş ve sıralanmıştır.

3.3.3. Ölçüm ve Analizler

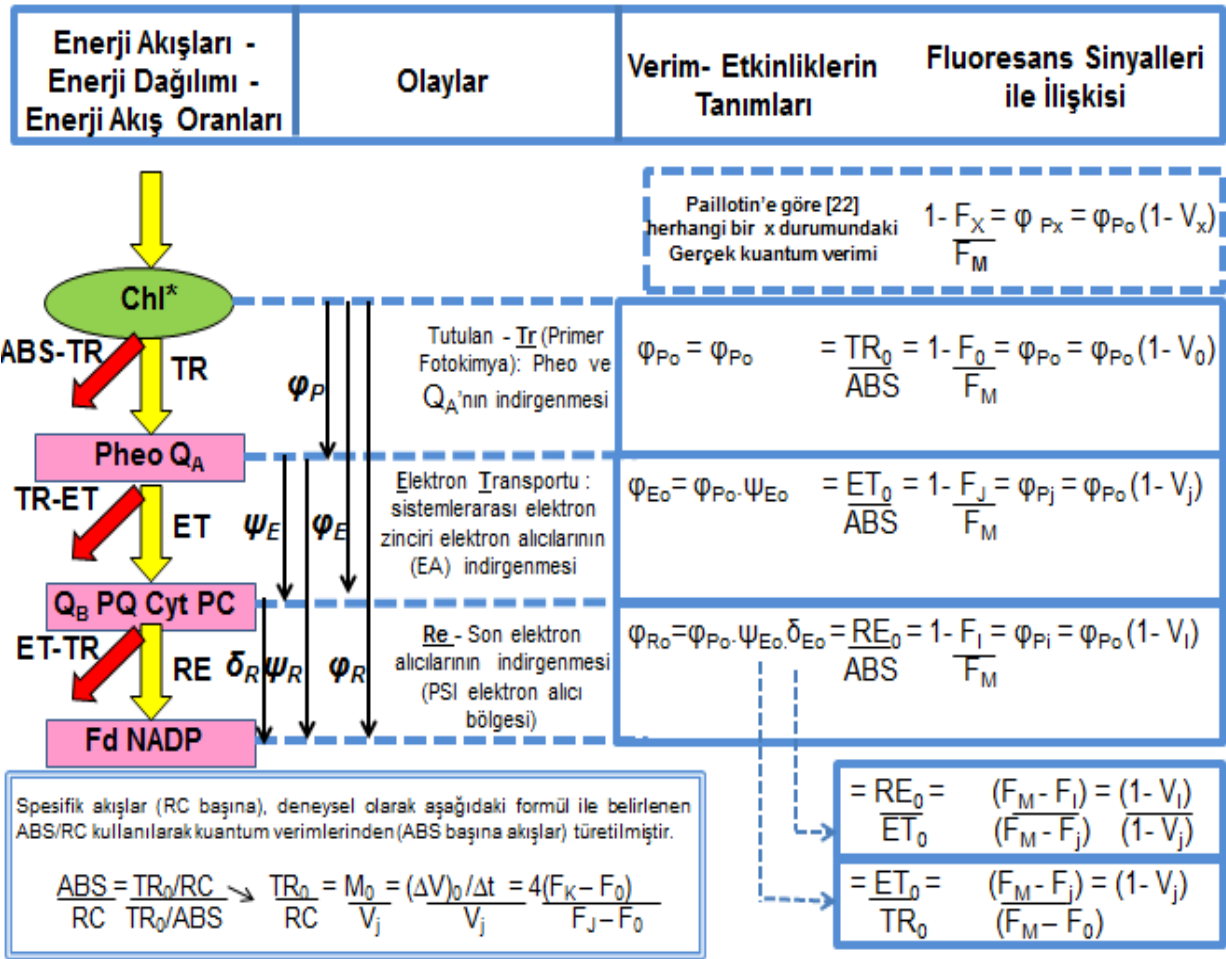
3.3.3.1. Klorofil a Floresans Kinetikleri

Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamaları için fotosentetik sistemlerin enerjistik davranışlarında meydana gelen değişimlerin belirlenmesi, fotosentetik aparatların yapısal ve fonksiyonel durumlarını anlamamızı sağlayan polifazik klorofil a floresans kinetik ölçümleriyle yapılmıştır [265]. Polifazik klorofil a floresans (OJIP transientleri) ölçümleri için Portatif Floresans Ölçüm Cihazı (HandyPEA, Hansatech Ltd.) kullanılmıştır. OJIP polifazik klorofil a floresans verileri, tilakoid zarlardaki enerji akışı teorisini temel alan JIP testi ile biyofiziksel parametrelere çevrilerek fotosistemlerin durumu, fonksiyonu ve yapısı hakkında oldukça detaylı bilgiler elde edilmesini sağlamaktadır (Şekil 3.2). Bu analiz fotosentezin biyofiziksel yönü ile floresans sinyalleri ve floresansın analitik ifadeleri arasındaki ilişkinin anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Enerji akışlarını ve bunların dağılımlarıyla birlikte etkinlik/verim olarak tanımlanan enerji akış oranlarını sunan JIP testinin şematik özeti Şekil 3.3'de verilmiştir [266].



Şekil 3.2. a) Handypea cihazının genel görünümü, b) Biolyzer HP3 programı ile analiz görüntüsü ve c) Bitkiler tarafından sergilenen tipik polifazik klorofil a flouresansı [267].

Polifazik klorofil a floresans ölçümleri yapılmadan önce kontrol ve stres gruplarına ait bitki örnekleri 30 dakika karanlığa adapte edilmiş ve yaprağa özel klipsler kullanılarak 6 tekrarlı olacak şekilde ölçümler yapılmıştır. Fluorometre, floresansı kırmızı ışıkla (maximum 650 nm'de emisyon) uyarır ve 700 nm üzerindeki floresansı algılar. Ölçümler 3 adet düzenli ışık yayan diyodun ürettiği bir saniyelik tek güçlü ışık pulsu ($3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tüm PSII reaksiyon merkezlerinin kapanması için yeterli olan



Şekil 3.3. JIP-testinin ve enerji akışlarının şematik özeti: Alınan, tutulan ve sistemde depolanan ya da kaybolan akışları (geniş oklar) gösterilmiştir. Enerji akış oranları olarak adlandırılan etkinlik/verim (çizgi oklar)'de gösterilmiştir ve bu oranlar sonrasında OJIP fluoresans geçişlerinden seçilen fluoresans sinyalleri ile ilişkilendirilmiştir. Etkinlikler, belirli fizyolojik koşullarda (örn; karanlığa adapte) fotosentetik örneğin başlangıç koşullarını (tüm reaksiyon merkezleri -RC- açık; alt simge '0') ifade eder. Kuantum verimlerinden (absorbsiyon temelli etkinlik yani ABS başına akışlar) spesifik akışların (RC başına akışlar; başlangıç koşulları) türetilmesi de gösterilmiştir. Akışlar; absorpsiyonu (ABS), yakalamayı (TR_0) yani Pheo ve Q_A 'nın indirgenmesi, Q_A 'dan sistemler arası elektron alıcılarına elektron transportunu (ET_0) ve PSI'in elektron alıcı tarafında son elektron alıcısının indirgenmesini (RE_0) ifade eder [266].

eksitasyon şiddeti) ile 4 mm'lik yaprak alanında gerçekleştirilmiştir. Hızlı fluoresans kinetikleri (minimum fluoresans, F_0 - maksimum fluoresans, F_M) 10 μ s'den 1 s'ye kadar kaydedilmektedir ve 20 μ s'de kaydedilen fluoresans şiddeti minimum fluoresans (F_0) olarak kabul edilmektedir [268]. Biolyzer HP3 programı kullanılarak elde edilen veriler analiz edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen JIP testinin bazı parametreleri Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Analizler sonucunda elde edilen fluoresans parametreleri kullanılarak bitkilerin fizyolojik durumu ve canlılığı hakkında yararlı ve kantitatif bilgi veren ve PSI ile PSII'deki fotokimyasal olayları ifade eden fotosentetik performans indeksleri (PI_{abs} ve PI_{top}) hesaplanmış; bu hesapların sonucunda ayçiçeği her iki kuraklık uygulaması ve bunların iyileştirme koşullarına verdikleri cevaplar tespit edilmiştir.

PI_{abs} : Performans indeksi (PI_{abs}), bitkilerin fizyolojik durumu ve canlılığı hakkında yararlı ve kantitatif bilgi veren ve fotokimyasal olayları ifade eden bir klorofil fluoresans parametresidir $[\gamma RC/(1 - \gamma RC)] \times [\phi Po/(1 - \phi Po)] \times [\psi o/(1 - \psi o)]$. Performans indeksi (PI_{abs}), bir tek çoklu-parametrik ifadede fotosentetik aktivitenin üç ana fonksiyonel basamağı (ışık enerjisi absorpsiyonu, eksitasyon enerjisinin yakalanması ve eksitasyon enerjisinin elektron taşınımına dönüşümü) ile bir PSII reaksiyon merkezi kompleksini birleştirir[269, 270].

PI_{top} :Toplam performans indeksi (PI_{top}), bitkilerin fizyolojik durumu ve canlılığı hakkında yararlı ve kantitatif bilgi veren ve fotokimyasal olayları ifade eden bir klorofil fluoresans parametresidir. Performans indeksi (PI_{top}) $[\gamma RC/(1 - \gamma RC)] \times [\phi Po/(1 - \phi Po)] \times [\psi o/(1 - \psi o)]^* [(\delta Ro/(1 - \delta Ro))]$, PSII tarafından absorblanan foton veya uyarılma enerjisinin PSI son alıcılarının indirgenmesi için kullanımını ifade eder. Bu parametre, ışık enerjisi absorpsiyonu, eksitasyon enerjisinin yakalanması ve eksitasyon enerjisinin elektron taşınımına dönüşümü ile bu enerjinin PSI son alıcılarına iletimi hakkında bilgi verir [265].

PI_{abs} ve PI_{top} verileri kullanılarak kuraklık faktör indeksi (KFI), $KFI = \log A + 2 \log B$ ile Strauss vd. [271] ve Oukarroum vd. [272]'nin kullandığı KFI'nın modifikasyonu sonucu elde edilen iyileşme faktör indeksi (IFI), $IFI = \log A + 2 \log B$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Bu formülde A orta derecedeki kuraklığa maruz kalan (IFI'da ise orta derecedeki kuraklığı takiben iyileşme uygulanan) bitkilerin ortalama nispi performans indeksini (PI), B ise şiddetli kuraklığa maruz kalan (IFI'da ise şiddetli kuraklığı takiben iyileşme uygulanan) bitkilerin ortalama nispi performans indeksini (PI) ifade etmektedir. Ortalama nispi PI değerleri ise PI kuraklık/PI kontrol formülü kullanılarak hesaplanır.

Çizelge 3.3. JIP-testinde kullanılan bazı terimlerin, tanımlamaların ve formüllerin özeti [265, 266, 273].

Teknik ve hesaplanan fluoresans parametreleri	
$F_0 \equiv F_{20\mu s}$	Minimum fluoresans intensitesi (O basamağı) ; PSII'nin tüm reaksiyon merkezleri açık
$F_L \equiv F_{150\mu s}$	150 μs 'deki fluoresans intensitesi
$F_K \equiv F_{300\mu s}$	300 μs 'deki fluoresans intensitesi
$F_J \equiv F_{2ms}$	2 ms'deki fluoresans intensitesi (J basamağı)
$F_I \equiv F_{30ms}$	30 ms'deki fluoresans intensitesi (I basamağı)
$F_P \equiv F_M$	Maksimum fluoresans intensitesi (P basamağı);PSII'nin tüm reaksiyon merkezleri kapalı
T_{FM}	Maksimum fluoresans intensitesi F_M 'e ulaşıldığı zaman
Area	Fluoresans eğrisinin F_0 ile F_M değeri üzerinde kalan ve Q_A 'nın tam indirgenmesi için transfer edilmesi gereken elektron sayısı hakkında bilgi sağlayan toplam alan
M_0 (dV/dt) ₀	$4(F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$ Relative değişken klorofil fluoresans eğrisi V_t ($F_0 \equiv F_{50\mu s}$ için)'nin tahmini başlangıç eğimi (ms^{-1} 'deki) veya fotokimyanın başlangıç hızı
V_J	$(F_J - F_0)/(F_M - F_0)$ J basamağında relative değişken fluoresans
V_I	$(F_I - F_0)/(F_M - F_0)$ I basamağında relative değişken fluoresans
S_M	$Area/F_V$ Her bir reaksiyon merkezi için toplam elektron taşıyıcıları
Kuantum etkinliği veya akış oranları	
$\phi_{P_0} = TR_0/ABS$	$F_V/F_M = [1 - (F_0/F_M)]$ t=0'da primer fotokimyanın maksimum kuantum verimi
$\psi_0 = ET_0/TR_0$	$(1 - V_J)$ t=0'da tutulan eksitonun Q_A 'dan elektron transport zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliği
$PHI(E_0) = ET_0/ABS$	$[1 - (F_0/F_M)] \psi_0$ t=0'da elektron transportunun maksimum verimi
$\delta R_0 = RE_0/ET_0$	$(1 - V_I)/(1 - V_J)$ İndirgenmiş sistemler arası elektron alıcılarının bir elektronu, PSI son elektron alıcılarına hareket ettirme etkinliği

$\phi R_0 = RE_0/ABS$	$\phi P_0. \psi_0. \delta R_0$ Q_A^{-1} 'dan PSI son elektron alıcılarına elektron transportun kuantum verimi
Spesifik akışlar- Her bir reaksiyon merkezi başına enerji akışları	
ABS/RC	$M_0 (1/V_J) (1/\phi P_0)$ Reaksiyon merkezi (RC) başına absorpsiyon akışı (PSII anten klorofilleri için); t= 0'da absorplanan enerji akışı veya ortalama anten büyüklüğü
TR_0/RC	$M_0 (1/V_J)$ t= 0'da yakalanan enerji akışı (reaksiyon merkezi başına)
ET_0/RC	$M_0(1/V_J) \psi_0$ t= 0'da elektron transportu (reaksiyon merkezi başına)
DI_0/RC	$(ABS/RC) - (TR_0/RC)$ t= 0'da yayılan enerji akışı (reaksiyon merkezi başına); Fotokimya dışında kaybedilen enerji
Fenomenolojik akışlar - Ölçüm yapılan yaprak alanı bazında enerji akışları	
$ABS/CS_0 \approx F_0$	t= 0'da absorblanan enerji akışı
TR_0/CS_0	$\phi P_0.(ABS/CS_0)$ t= 0'da yakalanan enerji akışı
ET_0/CS_0	$\phi P_0. \psi_0.(ABS/CS_0)$ t= 0'da elektron transportu
DI_0/CS_0	$(ABS/CS_0) - (TR_0/CS_0)$ Bir PSII'de fotokimya dışında kaybedilen enerji
RC/CS_0	$\phi P_0.(V_J/M_0).F_0$ t= t_{FM} 'da aktif PSII reaksiyon merkezleri miktarı
Performans indeksleri	
Pl_{abs}	$[\gamma RC/(1 - \gamma RC)] \times [\phi P_0/(1 - \phi P_0)] \times [\psi_0/(1 - \psi_0)]$ PSII tarafından foton absorpsiyonundan sistemler arası elektron alıcılarının indirgenmesine kadarki enerji korunumunun performans indeksi (Potansiyel)
Pl_{top}	$[\gamma RC/(1 - \gamma RC)] \times [\phi P_0/(1 - \phi P_0)] \times [\psi_0/(1 - \psi_0)] \times [(\delta R_0/(1 - \delta R_0))]$ Toplam performans indeksi, PSI'in son elektron alıcısına kadar olan performans

3.3.3.2. Fizyolojik Ölçümler

3.3.3.2.1. Yaprak Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi

Stres ve iyileşme grupları ile bunların kontrol grubu bitkilerinin yaprak dokularındaki nispi su içeriğini belirlemek için ayçiçeği genotiplerine ait bitkilerden 3 tekrarlı ve her tekrardan iki bitki olmak üzere 6 adet bitkiden (n=6) yaprak diskleri (R=0.5 cm) çıkartılmış ve tartılmıştır (taze ağırlık). Tartılan diskler 5 ml distile su içeren falkon tüplere konulmuş ve tüpler çalkalayıcıda 100 rpm'de 24 saat çalkalanmıştır. Bu süre sonunda hidrate hale gelen yaprak diskleri tekrar tartılarak turgor durumundaki ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra bu yaprak diskleri 80°C'lik etüvde 48 saat kurutulmuş ve ağırlıkları yeniden tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Yaprak dokularındaki nispi su içeriği (NSİ) (%) = $(TA - KA) / (HA - KA) \times 100$ formülünden Farrant [274]'a göre hesaplanmıştır. (TA, taze ağırlık; HA, hidrate ağırlık; KA, kuru ağırlık)

3.3.3.3. Biyokimyasal Ölçümler

3.3.3.3.1. Yapraklardaki Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi

Kontrol, stres ve iyileşme grubuna ait bitkilerde toplam klorofil (a+b) ve karotenoid (ksantofil+β-karoten) miktarları (mg ml⁻¹cm⁻²) Lichtenthaler [275]'a göre belirlenmiştir. Bunun için kontrol, stres ve iyileşme grubuna ait bitkilerden 3 tekrarlı olacak şekilde ve her bir örnekten 1 adet olmak üzere toplam 3 adet yaprak diski (R=0.6 cm) alınmış ve bu örnekler 1 ml %100'lük aseton içeren 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine konularak pigmentlerin yaprak dokusundan çözeltiye geçmesi için 1 hafta buzdolabında (+4°C), karanlıkta bekletilmiştir. Bu süre sonrasında örnekler 14000 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüjlenmiş ve spektrofotometrede (Spectro UV-Vis Double Beam PC) 470, 644,8 ve 661,6 nm dalga boylarında örneklerin absorbanları okunmuştur.

3.3.3.3.2. Yapraklardaki İyon Sızıntısı Oranının Belirlenmesi

Kontrol, stres ve iyileşme grubuna ait bitkilerde yaprak dokularındaki iyon sızıntısı oranı Redmann vd. [276]'nin modifiye edilmiş metoduna göre analiz edilmiştir. Her bir uygulamaya ait bitki örneklerinden 6 tekrarlı olacak şekilde 5'er adet yaprak diski (R=0,6 cm) alınmış ve 10 ml distile su içeren kapaklı tüplere konulmuştur. 24 saat boyunca 100 rpm'de çalkalama işlemi sonrasında tüplerden çıkarılan yaprak diskleri sıvı azot ile muamele edilmiş ve tüplerdeki çözeltilerden alınan örneklerin 280 nm dalga boyunda spektrofotometre ile (Spektro UV-Vis Double Beam PC) absorban değerleri okunmuştur (A280).

Bu işlem sonrasında sıvı azot ile muamele edilmiş yaprak diskleri tekrar kendi tüplere konularak yine 24 saat 100 rpm'de tüpler çalkalanmıştır. En son basamakta diskler tüplerden çıkartılmış ve tüpte kalan çözeltilerin absorban değerleri aynı şekilde yeniden okunmuştur (A'280). Yaprak dokularındaki iyon sızıntısı oranı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{İyon sızıntısı} = A_{280}/A'_{280} \quad (3.1)$$

3.3.4. Puanlama

Puanlamada kullanılan Hasar indeksi (%) ve İyileşme derecesi (%) aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

Hasar İndeksi (%):

$$(\text{Kuraklık stresi} - \text{Kontrol}) / [1 - (\text{Kontrol}/100)] * 100 \quad (3.2)$$

Kuraklık stresi: M ve S

Kuraklık gruplarının kontrolleri: C_M ve C_S

Bu hesaplama Glerum [277]'den modifiye edilerek alınmıştır.

İyileşme Derecesi (%):

$$[(\text{İyileşme} - \text{Kuraklık stresi}) / (\text{Kontrol} - \text{Kuraklık stresi})] * 100 \quad (3.3)$$

İyileşme (stres sonrası 5 gün yeniden sulama): R_M ve R_S

İyileşme gruplarının kontrolleri: C_{RM} ve C_{RS}

Bu hesaplama Blumenthal vd. [278]'den modifiye edilerek alınmıştır.

Puanlar, PI_{abs} ve PI_{top} için hesaplanan kuraklık faktör indeksi (KFI) ve iyileşme faktör indeksi (IFI) kullanılarak; toplam klorofil (a+b), karotenoid ve iyon sızıntısı için hesaplanan hasar indeksi (%) ve iyileşme dereceleri (%) kullanılarak genotiplere göre ayrı ayrı hesaplanmıştır. Bu hesaplamalarda kullanmak için seçilen parametrelerden stresle azalanlar için (PI_{abs} , PI_{top} , klorofil (a+b) ve karotenoid) parametre değeri en yüksek olan çeşide en düşük puan (1 puan) stresle artan parametre (iyon sızıntısı) için ise, parametre değeri en düşük olan çeşide en yüksek puan (1 puan) verilerek hesaplamalar yapılmıştır. Her bir parametre için ayçiçeği genotiplerinin aldığı puanlar, toplam puan olarak hesaplanmış ve sınıflandırılmaları yapılmıştır.

3.4. II. AŞAMA: SEÇİLEN GENOTİPLERDE KURAKLIĞA TOLERANSIN AYRINTILI ANALİZLERLE İNCELENMESİ

3.4.1. Bitki Materyali

Bu aşamada I. aşama sonuçlarına göre belirlenen kuraklığa dayanıklı (Şems ve Tarsan-1018), orta derecede dayanıklı (Tunca) ve duyarlı (Kaan) çeşitler ile birlikte atasal ayçiçeği melezleri olan *H. annuus* x *H. agrophyllus* ile *H. annuus* x *H. deserticola* kullanılmıştır.

Ha*Ha: *H. annuus* x *H. agrophyllus*

Ha*Hd: *H. annuus* x *H. deserticola*

3.4.2. Uygulamalar

40 gün boyunca kontrollü koşullarda yetiştirilen ayçiçeği genotiplerine ait bitkilere şiddetli (9 gün) kuraklık ile sonrasında iyileşme (5 gün) uygulanmıştır (Şekil 3.4). Uygulama grubundaki bitkilere kuraklık stresi sulama yapılmaksızın, iyileşme uygulaması ise yeniden sulama yapılarak gerçekleştirilmiştir. Yetiştirilen bitkilerin kuraklık uygulama grubu, iyileşme grubu ve bunların aynı yaştaki kontrol gruplarına ait rumuzların açıklaması sırası ile aşağıda verilmiştir.

C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler

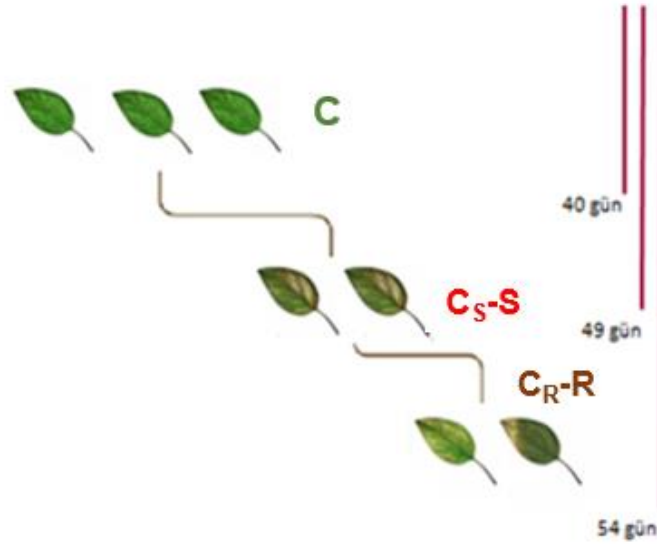
Cs: 9 gün kuraklığa (S) maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri

S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalan 49 günlük stres grubu bitkileri

CR: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri

R: 9 gün kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri

Kuraklık uygulamasının başlatıldığı ekimden sonraki 40. günde ilk kontrol grubunun (C) hasadı yapılmıştır. 40 günlük bitkiler kuraklık ve iyileşme olmak üzere 2 farklı uygulamaya maruz bırakılmıştır. Birinci uygulamada yer alan bitkiler 9 gün boyunca sulamaksızın kuraklığa maruz bırakılmıştır ve 9. gün sonunda bu bitki grubu (S) ile bu gruba ait kontrol grubu (Cs) hasat edilmiştir. İkinci uygulamayı, kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulanan iyileşme grubu bitkileri oluşturmaktadır ve bu uygulamada hasat işlemi, 5 günlük iyileşme uygulamasının sonunda bu iyileşme grubu (R) ile bu gruba ait kontrol grubunda (CR) gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.4. Kuraklık ve iyileşme uygulamasına ait deneme düzeni

Bu basamakta, genotiplerde kuraklığın ve iyileşme koşullarının etkisi; morfolojik (bitki boyu, yaprak sayısı, ağırlık değişimleri), fizyolojik (yaprak gerçek su içeriği), fotosentetik (fotokimyasal ölçümler), biyokimyasal (klorofil ve karotenoid içeriği, lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit ile antosiyanin ve flavonoid içeriği) ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, APX, GR, POD, CAT ve ALR) ölçümleriyle incelenmiştir. Bu şekilde kuraklığın fotosentetik performans üzerine etkisi ile kuraklık stresine toleransta antioksidan savunma sistemlerinin rolü ortaya konulmaya çalışılmıştır.

3.4.3. Ölçüm ve Analizler

3.4.3.1. Morfolojik Ölçümler

3.4.3.1.1. Bitki Boyu ve Yaprak Sayısı Ölçümleri

Kontrol ve uygulama grubundaki ayçiçeği fidelerinin toprak hizasından sürgün ucuna kadar olan uzunlukları ölçülerek bitki boyu (mm. bitki⁻¹) kaydedilmiş ve yaprak sayıları (adet bitki⁻¹) belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen bu verilere göre bitki boyu tolerans indeksi (BBTI-%) ve iyileşme potansiyeli (IP-%) hesaplanmıştır [10, 278]

$$\text{BBTI (\%)} = (\text{Strese maruz kalan bitkilerin boyu} / \text{Kontrol bitkilerinin boyu}) \times 100 \quad (3.4)$$

$$\text{IP (\%)} = (\text{Yeniden sulama uygulanan bitkilerin boyu} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin boyu}) / (\text{Kontrol bitkilerinin boyu} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin boyu}) \times 100 \quad (3.5)$$

3.4.3.1.2. Taze ve Kuru Ağırlık Ölçümleri

Ayçiçeği çeşitlerine ait bitkilerin toprak üstü aksamı 3 tekrarlı (n=3) olacak şekilde tartılarak fidelerin taze ağırlıkları (gr. bitki⁻¹), taze ağırlığı belirlenen bitkilerin, 80°C'lik

etüvde 48 saat kurutulup yeniden tartılmasıyla kuru ağırlıkları (gr. bitki⁻¹) belirlenmiştir. Elde edilen bu verilere göre, taze ağırlık tolerans indeksi (TATI) ve kuru ağırlık tolerans indeksi (KATI-%) ve iyileşme potansiyeli (IP-%) hesaplanmıştır [10, 278].

$$\text{TATI (\%)} = \left(\frac{\text{Strese maruz kalan bitkilerin taze ağırlığı}}{\text{Kontrol bitkilerinin taze ağırlığı}} \right) \times 100 \quad (3.6)$$

$$\text{KATI (\%)} = \left(\frac{\text{Strese maruz kalan bitkilerin kuru ağırlığı}}{\text{Kontrol bitkilerinin kuru ağırlığı}} \right) \times 100 \quad (3.7)$$

$$\text{IP (\%)} = \left(\frac{\text{Yeniden sulama uygulanan bitkilerin taze/kuru ağırlığı} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin taze/kuru ağırlığı}}{\text{Kontrol bitkilerinin taze/kuru ağırlığı} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin taze/kuru ağırlığı}} \right) \times 100 \quad (3.8)$$

3.4.3.2. Fizyolojik Ölçümler

3.4.3.2.1. Yapraklardaki Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi

Stres ve iyileşme grupları ile bunların kontrol grubundaki bitkilerin yaprak dokularındaki nispi su içeriği (NSİ-%) (mg ml⁻¹cm⁻²) Farrant [274]'a göre hesaplanmıştır. (Yöntem 1. aşamada açıklanmıştır).

3.4.3.3. Fotosentetik Ölçümler

3.4.3.3.1. Fotokimyasal Ölçümler

Klorofil a floresans ölçümleri için, taşınabilir, Modüle Floresans Ölçüm Sistemi (FMS-2, Hansatech Ltd.) kullanılmıştır. Modüle floresans sisteminden alınan klorofil a floresans sinyalleri uygun paket programına transfer edilerek, klorofil floresans parametreleri hesaplanmıştır. 30 dakika karanlık adaptasyonundan sonra, 0.2 µmol m⁻²s⁻¹ ışık şiddetinde çok düşük ışık pulsu kullanılarak minimum floresans (F_0) belirlenmiştir. Daha sonra doygun ışık pulsu (7500 µmol m⁻²s⁻¹) verilerek karanlıkta adapte edilmiş durumdaki maksimum floresans (F_M) değeri belirlenmiştir. Karanlıkla adapte edilmiş, yapraklarda PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği ($\Phi P_{00} = F_V/F_M$), değişken floresansın (F_V), maksimum floresansa oranı olarak ifade edilir ve $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$ formülünden hesaplanır [279]. Ayrıca PSII'nin donör (verici) kısmındaki O₂ oluşturan kompleksin etkinliğini ifade eden F_V/F_0 , $[(F_M - F_0)/F_0]$ formülünden hesaplanır. Karanlıkta adapte edilmiş yaprak ölçümünden sonra, aktinik ışık (250 µmol m⁻²s⁻¹) verilmesi ile klorofil a floresansındaki ışık ile teşvik edilen değişiklikler F_0' (ışık ile doygun durumdaki minimum klorofil a floresans) ve F_M' (ışık ile doygun durumda maksimum floresans) belirlenmiştir. Işık ile adapte edilmiş durumdaki yapraklarda, PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliği $\Phi PSII = (F_M' - F_S/F_M')$ formülünden Genty vd.[280]'ne göre hesaplanmıştır. Buradaki F_S ışıkla adapte edilmiş yapraklardaki

dinamik denge durumundaki fluoresansı ifade etmektedir. Bunun yanı sıra, PSII'nin eksitasyon enerjisini yakalama etkinliği $\Phi_{exc} = F_V'/F_M'$, $[F_V'/F_M' = (F_M' - F_0')/F_M']$ de Genty vd. [280]'ne göre hesaplanmıştır. Aktinik ışık kapatılıp, kırmızı ötesi ışık ($7 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) açıldığında elektron taşıma hızı (ETH), $[(F_M' - F_S) / F_M'] \times \text{PAR} \times 0.84 \times 0.5$] formülünden hesaplanır. Burada PAR (fotosentetik aktif radyasyon), 0.84 (yaprak absorpsiyonu için ortalama faktör) ve 0.5 katsayısı ise iki fotosistem (PSI ve PSII) arasındaki absorbe edilen fotonların teorik olarak eşit paylaşıldığını ifade eder. Tüm sistemdeki, fotokimyasal kullanım $[q_P = (F_M' - F_S) / F_M' - F_0']$ ve fotokimyasal olmayan kullanım $[NPQ = (F_M - F_M')/F_M']$ da Genty vd. [280]'ne göre hesaplanmıştır.

3.4.3.4. Biyokimyasal Ölçümler

3.4.3.4.1. Yaprak Dokularındaki Fotosentetik Pigment Miktarının Belirlenmesi

Stres ve iyileşme grupları ile bunların kontrol grubundaki bitkilerin yaprak dokularındaki toplam klorofil (a+b) ve karotenoid (ksantofil+ β -karoten) miktarları ($\text{mg ml}^{-1}\text{cm}^{-2}$) Lichtenthaler [275]'a göre belirlenmiştir (Yöntem 1. aşamada açıklanmıştır).

3.4.3.4.2. Yaprak Dokularında Malondialdehit (MDA) ve Hidrojen peroksit (H_2O_2) Miktarının Belirlenmesi

Yaprak dokularındaki membran hasarının son ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarı ile oksidatif stres sonucu oluşan ve bir aktif oksijen çeşidi olan hidrojen peroksit (H_2O_2)'in miktarı Esterbauer ve Cheeseman [281]'in metodu kullanılarak belirlenmiştir. Kontrol ve stres grubundaki bitkilerden alınan 0,1 g yaprak örneği 4 ml %0.1 trikloroasetik asit (TCA) ile 4°C 'de homojenize edilmiştir. Homojenat 10000 rpm 'de 15 dakika santrifüj edilmiştir ve elde edilen süpernatandan aşağıda belirtilen yöntemler izlenerek MDA ve H_2O_2 miktarı belirlenmiştir:

MDA miktarını belirlemek için cam tüpe alınan 0.5 ml süpernatanın üzerine 1 ml TCA-TBA-HCl (%15 trikloroasetik asit, %0.375 tiobarbitürik asit, 0.25 N HCl) ajanı ve 0,5 ml pH'sı 7.6 olan 0.1 M tris/HCl tamponunundan eklenmiştir. Reaksiyon karışımı, 97°C 'lik su banyosunda 45 dakika reaksiyona sokulmuştur ve buradan çıkarılan tüpler buz banyosuna konularak reaksiyon durdurulmuştur. Bu işlemten sonra reaksiyon karışımı 10000 rpm 'de 5 dk santrifüjlenip spektrofotometrede (Spektro UV-Vis Double Beam PC) 532 ve 600 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki MDA miktarı nmol g T.A.^{-1} olarak belirlenmiştir.

H_2O_2 miktarını belirlemek için cam tüpe alınan 0.5 ml süpernatanın üzerine 0.5 ml pH'sı 7.6 olan 0.1 M tris/HCl tamponu ve 1 ml 1 M KI eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 90 dk

karanlıkta bekletilmiş ve spektrofotometrede (Spektro UV-Vis Double Beam PC) 390 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki H₂O₂ miktarı standart eğri kullanılarak ve $\mu\text{mol g T.A.}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

3.4.3.4.3. Yaprak Dokularında Antosiyanin ve Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Kuraklık ve iyileşme grupları ile bunların kontrol gruplarındaki bitkilerin yaprak dokularındaki antosiyanin içeriği Mancinelli [282]'ye, flavonoid içeriği ise Mirecki ve Teramura [283]'ya göre belirlenmiştir. Her iki yöntemle göre 0.1 gr taze yaprak örneği 6 ml %79 metanol, %20 distile su ve %1 HCl'den oluşan çözelti eklenerek homojenize edilmiştir. Homojenat +4°C'de 10000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmiş ve elde edilen süpernatandan aşağıda belirtilen yöntemler izlenerek antosiyanin ve flavonoid içeriği belirlenmiştir:

Yaprak dokularındaki antosiyanin içeriğini belirleyebilmek için, elde edilen süpernatanın spektrofotometrede (Spektro UV-Vis Double Beam PC) 530 ve 657 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuş ve yaprak dokularındaki antosiyanin miktarı ($\text{mg ml}^{-1} \text{gTA}^{-1}$) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Antosiyanin} = A_{530} - (A_{657}/3) \quad (3.9)$$

Yaprak dokularındaki flavonoid içeriğini belirleyebilmek için, elde edilen süpernatanın spektrofotometrede (Spektro UV-Vis Double Beam PC) 300 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki flavonoid miktarı kontrole göre yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.4.3.4.4. Yaprak Dokularında Glisin Betain İçeriğinin Belirlenmesi

Kuraklık ve iyileşme grupları ile bunların kontrol gruplarındaki bitkilerin yaprak dokularındaki glisin betain içeriği Grieve ve Grattan [284]'a göre belirlenmiştir. Bitki örnekleri 80°C'de 4 gün kurutulmuştur. Her bir örnek için 0.05 gr kuru bitki materyali ependorf tüplere aktarılmış ve üzerlerine 1 ml distile su ilave edilerek vortekslenmiştir. Örnekler oda sıcaklığında 24 saat 250 rpm'de çalkalanmıştır. Sonrasında 3000 g'de 5 dakika santrifüj edilen örneklerden 25 μl süpernatan yeni tüplere aktarılmıştır. Glisin betain için ayrılan örneklerin üzerine 1:1 oranında 2N H₂SO₄ ilave edilerek 1 saat buz üzerinde karıştırılmıştır. Daha sonra örneklerin üzerine 20 μl soğuk KI-I₂ çözeltisi ilave edilerek dikkatlice vortekslenip örnekler + 4°C'de 16 saat bekletilmiştir. Ertesi gün tüpler 10000 g'de 15 dakika ve 0°C'de santrifüj edilip süpernatan dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Dipte kalan kristaller 900 μl 1-2 dikloroetanda çözündürülmüştür.

Kuvvetlice vortekslenerek kristallerin çözünmesi sağlandıktan sonra 30 dakika 80°C'de inkübe edilip, 496 nm dalga boyunda (UV-1800, UV-Vis Spektrophotometer, SHIMADZU) absorbans değerleri okunmuştur.

3.4.3.5. Antioksidan Enzim Aktivite Ölçümleri

3.4.3.5.1. Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Enzim aktiviteleri protein miktarlarına bağlı olarak hesaplandığı için öncelikle tüm enzim özütlerinin protein içerikleri belirlenmiştir.

Kontrol ve stres grubundaki ayçiçeği genotiplerine ait yaprak örneklerinin protein konsantrasyonları, Bradford [285] metoduna göre sığır serum albümini (BSA) standardı kullanılarak belirlenmiştir. Bradford çözeltisinin hazırlanması için; 500 mg Coomassie Blue G, 50-70 ml suda çözülerek bu çözelti içine sırasıyla 250 ml %95'lik etanol ve 500 ml %85'lik fosforik asit eklenip karıştırılır. Daha sonra bu çözelti 1 L'ye tamamlanır ve +4°C'de karanlıkta tutulur. Bu yoğun Bradford çözeltisi (5X) kullanılmadan önce 5 kez (1X) seyreltilmiştir.

20 µl örnek çözelti ile 480 µl distile su karıştırıldıktan sonra, karışıma 5 ml Bradford çözeltisi (1X) eklenmiştir. Bu karışım 10 saniye vortekslendikten sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Çözeltinin absorbans değerleri spektrofotometrede (Spektro UV-Vis Double Beam PC) 595 nm dalga boyunda üç tekrarlı olacak şekilde okunmuştur.

3.4.3.5.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim aktivitesi, nitrobluetetrazolyum'un (NBT) fotokimyasal indirgenmesini esas alan yöntemle göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir [286]. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan 0.5 g taze yaprak örneği sıvı azotta havanda ezildikten sonra 100 mM potasyum fosfat (pH 7.0) ve 1 mM Na₂EDTA içeren 1.5 ml'lik süspansiyon çözeltiye eklenmiştir. Bu karışım +4°C'de 14000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmiş ve enzimi içeren süpernatant kısmı ayrılmıştır. 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8), 9.9 mM L-metiyonin, 57 µM NBT ve %1 Triton X-100 ile karıştırılmış ve bu karışımdan alınan 1 ml çözeltiye 20 µl süpernatant eklenmiştir. Örneğin konulmasını takiben reaksiyonu başlatmak için üzerine 10µl riboflavin ilave edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra tüpler 375 µmol. m⁻².s⁻¹ ışık yoğunluğunda floresan ışığına maruz bırakılmış ve absorbans değerler köre karşı spektrofotometrede (Spektro UV-Vis Double Beam PC) 560 nm dalga boyunda okunmuştur. Toplam SOD aktivitesi ünite mg protein⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesinin aktivitesi, NBT

redüksiyonunda %50'lik bir inhibisyon yaratmak için gereken SOD miktarı olarak tanımlanmıştır.

3.4.3.5.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi

Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) enzim aktivitesi Wang vd. [287]'nin metoduna göre belirlenmiştir. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan taze yapraklar (0.5 g) sıvı azotla havanda ezildikten sonra 50 mM Tris-HCl (pH 7.2), 1 mM Na₂EDTA ve 2 mM askorbat içeren 1.5 ml'lik süspansiyon çözeltisine eklenmiştir. Bu karışım +4°C'de 12000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra 75 µg protein içeren enzime 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 6.6), 2.5 mM askorbat ve 10 mM H₂O₂ ile son hacim 1 ml olacak şekilde ilave edilmiştir. H₂O₂'nin eklenmesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Askorbatın okside olması nedeniyle askorbat konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Bu azalma spektrofotometrik olarak 290 nm dalga boyundaki absorbans değerlerinin enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmesiyle değerlendirilmiştir. Toplam APX enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2.8 mM.cm⁻¹) kullanılarak başlangıç hızından (nmol askorbat dk⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.4.3.5.4. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Belirlenmesi

Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) enzim aktivitesi Rao vd. [288]'nin metodu ile belirlenmiştir. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan 0.5 g taze yaprak örneği sıvı azotta havanda ezildikten sonra 100 mM potasyum fosfat (pH 7.0) ve 1 mM Na₂EDTA içeren 1.5 ml'lik süspansiyon çözeltiye eklenmiştir. Bu karışım 14000 g ve +4°C'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant enzim ölçümü için ayrılmıştır. 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 2 mM Na₂EDTA, 0.5 mM GSSG, 0.2 mM NADPH ve 100 µg protein içeren enzim ekstraktı son hacim 1 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon, ortama NADPH'in eklenmesiyle başlamıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 340 nm'de okunmuştur. NADPH'in enzimatik olmayan oksidasyonu için 340 nm dalga boyunda GSSG eklenmeyerek kaydedilen azalışla düzeltme yapılmıştır. Toplam GR enzim aktivitesi, NADPH'in ekstinksiyon katsayısı (6.2 mM.cm⁻¹) kullanılarak enzimatik olmayan oksidasyon çıkarıldıktan sonra reaksiyon başlangıç hızından (nmol NADPH dk⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.4.3.5.5. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi Bergmeyer [289]'e göre belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 3 ml olup 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 20.1 mM

guaiakol, 12.3 mM H₂O₂ ve enzim özütü içermektedir. Reaksiyon enzim özütünün ilavesiyle başlatılmış ve 10 dakikalık süre içerisinde izlenmiştir. Toplam POD enzim aktivitesi, guaiakol'ün ekstinksiyon katsayısı (6.39 mM.cm⁻¹, 436 nm) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından (nmol H₂O₂.dk⁻¹.mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.4.3.5.6. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) enzim aktivitesi Chance ve Maehly [290]'in metodu ile belirlenmiştir. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan 0.5 g taze yaprak örneği sıvı azotla havanda ezildikten sonra 50 mM tris-HCl (pH 7.8) içeren 1 ml'lik süspansiyon çözeltisine eklenmiştir. Bu karışım 14000 g ve +4°C'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant enzim ölçümü için ayrılmıştır. 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 100 mM H₂O₂ çözeltisi ve 100 µg protein içeren enzim ekstraktı hazırlanmıştır. Reaksiyon, ortama H₂O₂'nin eklenmesiyle başlamıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 240 nm'de okunmuştur. Toplam CAT enzim aktivitesi, H₂O₂'nin ekstinksiyon katsayısı (40 mM cm⁻¹; 240 nm) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından (nmol H₂O₂ dk⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.4.3.5.7. Aldoz Redüktaz (ALR) Aktivitesinin Belirlenmesi

Aldoz redüktaz (ALR; EC 1.1.1.21) enzim aktivitesi Mundree vd. [291]'nin modifiye metoduna göre analiz edilmiştir. Bitkilerden alınan taze yaprak örneklerine (0.5 g) eşit miktarda PVP eklenerek sıvı azotta özütlendikten sonra, dokuya oranı 1/20 olacak şekilde tampon çözeltisi [20 mM KH₂PO₄ (pH 7.5), 0.5mM EDTA, 1 mM fenilmetilsülfonil florid (PMSF) ve 0,5 mM DTT] eklenmiştir. Homojenat 10000 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra sırasıyla %40 ve %100 satürasyon için amonyum sülfat ile doyurulmuştur. Çökelen proteinler, ekstraksiyon tamponu ile çözündürülmüş ve Sephadex-G25 kolonundan geçirilerek tuzlarından arındırılmıştır. 100 mM KH₂PO₄ (pH 6.9), 0.15 mM NADPH, 50 mM gliseraldehit ve 100 µg protein içeren enzim ekstraktı son hacim 1 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon, ortama gliseraldehit'in eklenmesiyle başlatılmıştır ve örneklerin absorbansı spektrofotometrik olarak 340 nm'de okunmuştur. ALR enzim aktivitesi, NADPH'in ekstinksiyon katsayısı (6.2 mM.cm⁻¹) kullanılarak enzimatik olmayan oksidasyon çıkarıldıktan sonra reaksiyon başlangıç hızından (nmol NADPH dk⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.4.4. Puanlama

Puanlamada kullanılan Hasar indeksi (%) ve İyileşme derecesi (%) aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

Hasar İndeksi (%):

$$(Kuraklık\ stresi - Kontrol) / [1 - (Kontrol/100)] * 100 \quad (3.10)$$

Kuraklık stresi: S

Kuraklık grubunun kontrolü: C_S

Bu hesaplama Glerum [277]'dan modifiye edilerek alınmıştır.

İyileşme Derecesi (%):

$$[(İyileşme - Kuraklık\ stresi) / (Kontrol - Kuraklık\ stresi)] * 100 \quad (3.11)$$

İyileşme (stres sonrası 5 gün yeniden sulama): R

İyileşme grubunun kontrolü: C_R

Bu hesaplama Blumenthal vd. [278]'den modifiye edilerek alınmıştır.

Tezin bu aşamasında kullanılan tüm parametrelerden hasar indeksi (%) ve iyileşme dereceleri (%) genotipler için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Bu hesaplamalarda kullanmak için seçilen parametrelerden stresle azalanlar için (bitki boyu, yaprak sayısı gibi) parametre değeri en yüksek olan çeşide en düşük puan (1 puan) stresle artan parametre (MDA, H₂O₂ gibi) için ise, parametre değeri en düşük olan çeşide en düşük puan (1 puan) verilerek hesaplamalar yapılmıştır. Her bir parametre için ayçiçeği genotiplerinin aldığı puanlar, toplam puan olarak hesaplanmış ve sınıflandırılmaları yapılmıştır.

3.5. III. AŞAMA: AYÇİÇEĞİ PROTEOMUNDAKİ DEĞİŞİMLER

3.5.1. Bitki Materyali

Bu aşamada, II. aşama sonuçlarına göre seçilen genotipler ile birlikte atasal ayçiçeği türü Çizelge 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. III. aşamada kullanılan ayçiçeği genotipleri

III. Aşamada Kullanılan Ayçiçeği Genotipleri	
Yerel	Atasal
1- <i>Helianthus annuus</i> L.(Tarsan-1018-toleranslı)	<i>Helianthus agrophyllus</i>
2- <i>Helianthus annuus</i> L. (Tunca-duyarlı)	Alchemy

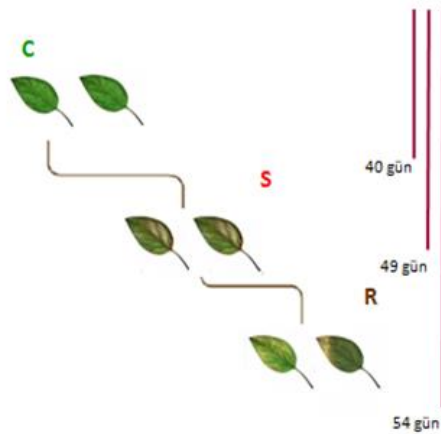
3.5.2. Uygulamalar

Kontrollü iklim odasında 40 gün boyunca yetiştirilen çiçeklenme öncesi dönemdeki ayçiçeği genotiplerine; 9 gün sulamaksızın kuraklık uygulanmış ve sonrasında 5 gün yeniden sulama ile iyileşme uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada genotiplerine yapılan uygulamalara ait kısaltmalar aşağıda listelenmiştir (Şekil 3.5).

C: 40 günlük kontrol grubu bitkileri

S: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 9 gün kuraklık uygulanan bitkiler

R: 9 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler



Şekil 3.5. Kontrol, kuraklık uygulaması ile iyileşme gruplarına ait deneme düzeni
Ayçiçeği genotiplerinde çiçeklenmenin hemen öncesinde 40. günde kontrol grubunun (C) hasadı yapılmıştır. Sonrasında bitkiler 9 gün sulamaksızın kuraklık (S) uygulanmış;

bunu takiben de 5 gün sulama ile iyileşme uygulaması (R) gerçekleştirilmiştir. Kuraklık ve iyileşme uygulamaları sonrasında her grup belirlenen sürelerde hasat edilmiştir.

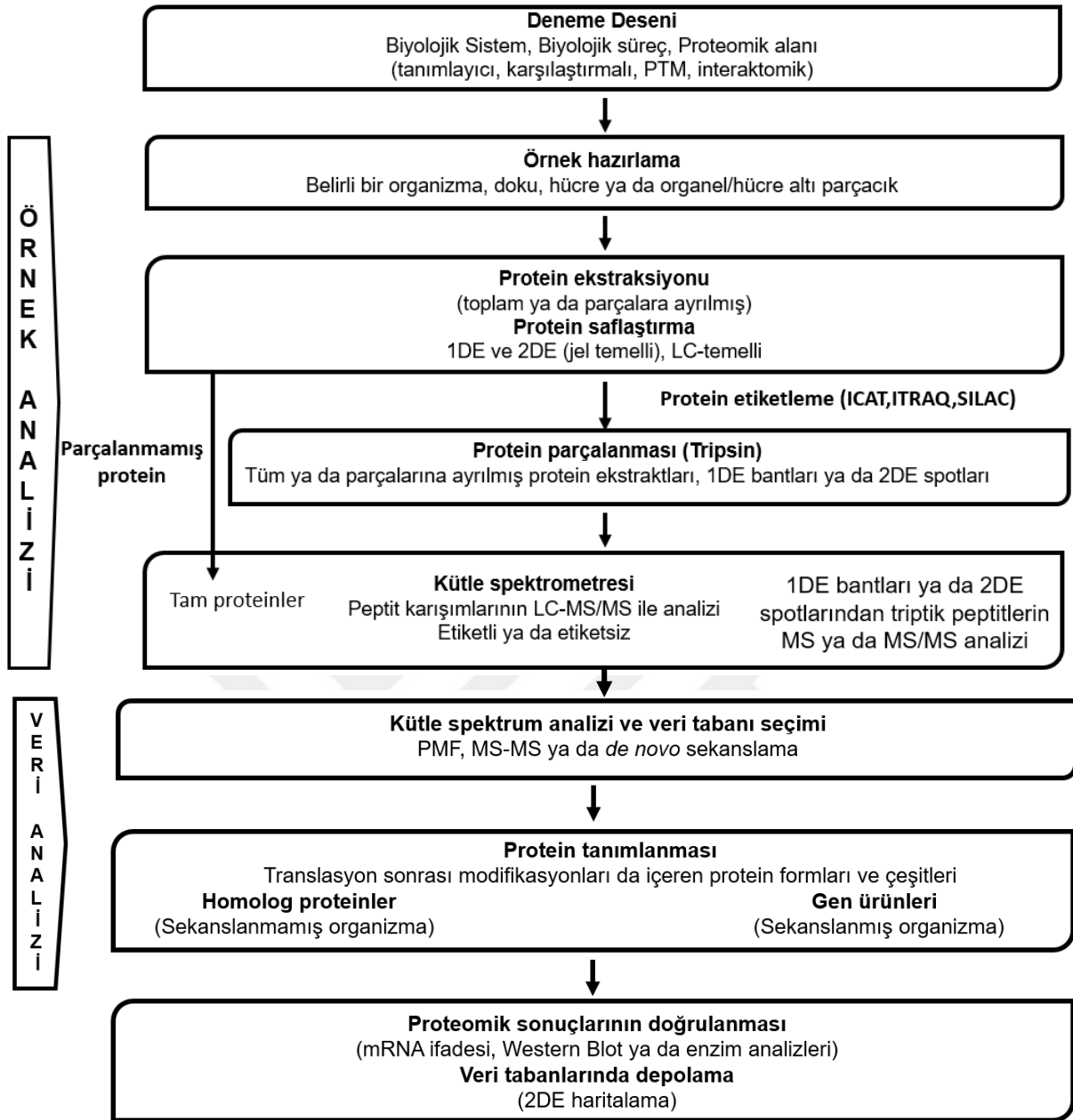
3.5.3. Proteomik Analizler

3.5.3.1. Toplam Protein Ekstraksiyonu

Ayçiçeği genotiplerinin yapraklarından protein ekstraksiyonu Hurkman ve Tanaka [292] ile Ahsan ve Komatsu [293]'dan modifiye edilen fenol ekstraksiyon metoduna göre yapılmıştır. Kuraklık ve iyileşme grupları ile bunların kontrol gruplarındaki bitkilerin yapraklarından alınan 2 gr taze yaprak örneği sıvı azotla öğütülmüştür ve 8 ml soğuk Mg/NP-40 ekstraksiyon tamponuyla [0.5 M Trisma-HCl (pH 8.3), 0.7 M sukroz, 20 mM MgCl₂, %2 NP-40, %2 β-merkaptoetanol (β-ME) ve 1mM PMSF] homojenize edilmiştir. 10 dk buz üzerinde inkübe edilen homojenata Tris-HCl ile doyurulmuş fenolden (pH 8.0) eşit miktarda eklenmiştir. Homojenat 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 15 dk 5300 rpm'de +4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjün ardından proteinlerin toplandığı üstteki fenol faz ayrı bir tüpe alınmıştır ve üzerine 5.5 ml soğuk Mg/NP-40 ekstraksiyon tamponu eklenmiştir. Homojenat tekrar oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildikten sonra santrifüj edilmiştir (15 dk, 5300 rpm, +4°C). Ayrı bir tüpe alınan fenolik fazdaki proteinlerin üzerine çözeltinin 4 katı hacminde 0.1 M amonyum asetat içeren soğuk metanol eklenerek bir gece boyunca -20°C'de çöktürülmüştür. Ertesi gün çökelen proteinleri toplamak için tüpler 10 dk 12000 rpm'de +4°C'de santrifüj edilmiştir ve sonrasında süpernatant kısmı atılmıştır. Tüpte kalan protein pellet kısmı 3 kez 0.1 M amonyum asetat içeren soğuk metanolle çöktürülmüş ve iki kez de soğuk aseton ile yıkanmıştır. Her çöktürme ve yıkama sonrasında protein pelleti 10 dk 12000 rpm'de +4°C'de santrifüj edilmiştir. İşlemler sona erdiğinde protein pellet oda sıcaklığında kurutulmuştur ve kullanılabildiği kadar -20°C'de saklanmıştır (Şekil 3.6).

3.5.3.2. Proteinlerin Çözdürülmesi ve Toplam Protein Miktarının Tayini

-20°C'den alınan protein pelletlere 500 µl rehidrasyon tamponu [7 M Üre, 2 M Thioüre, %4 CHAPS, 65 mM DTT, %0.2'lik Amfolit (pH 3-10/pH5-8)] ilave edilmiş ve proteinler 5 dk vortekslendikten sonra 7 dk ultrasonikasyonlu su banyosunda tutularak çözdürülmüştür. Çözünmeyen parçacıkların atılması için örnekler 10000 rpm'de 5 dk +4°C'de santrifüj edilmiş ve süpernatant yeni bir ependorf tüpe aktarılmıştır. Aktarma işleminden sonra toplam protein konsantrasyonu Ramagli ve Rodriguez [295] metodu ile belirlenmiştir.



Şekil 3.6. Proteomik deneyin iş akış şeması [294].

3.5.3.3. İki-yönlü Poliakrilamid Jel Elektrofrez (2-D)

Proteom içeriğindeki değişimler iki-yönlü (2-D) poliakrilamid jel elektrofrez [İzoelektrik fokuslama(IEF)+Sodyum dedosil sülfat-poliakrilamid jel elektrofrez (SDS-PAGE)] tekniği kullanılarak belirlenmiştir. IEF öncesinde 500 µg protein içeren 300 µl'lik rehidrasyon tamponu ile pH 3-10 gradiyentine sahip 17 cm'lik doğrusal immobilize pH gradiyent (IPG) stripleri (ReadyStrip, Bio-Rad, USA) laboratuvar koşullarında 16 saat süresince pasif olarak rehidrate edilmiştir. Rehidrasyondan sonra IEF işlemi, PROTEAN® i12™ IEF Cell (Bio-Rad, USA) cihazında 30 dk 250 V; 2 saat 10.000 V ve

sonrasında toplamda 70.000 V olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Stripler ikinci ayrıma kadar -80°C'de saklanmıştır.

İkinci ayırım aşamasında IPG stripleri 15'er dk boyunca sırasıyla dengeleme tamponu I (6 M urea, 1.5 M Tris-HCl, %2 SDS, %20 gliserol ve %2 DTT) ve dengeleme tamponu II (6 M urea, 1.5 M Tris-HCl, %2 SDS, %20 gliserol ve %2.5 iyodoasetamid) ile çalkalanarak dengelenmiştir. Dengeleme aşamasından sonra ikinci ayırım için, stripler 1.5 mm kalınlığında %12'lik SDS poliakrilamid jellere [%30 akrilamid/bisakrilamid, 1.5 M Tris-HCl tamponu pH 8.8, %10 SDS, %10 amonyum persülfat ve TEMED] [295] transfer edilmiş ve kuyucuğun üzeri bromfenol mavisini içeren %5'lik overlay agoroz ile doldurulmuştur. Protein standartı olarak 10-250 kDa aralığında yüksek bant netliğine sahip boyanmayan doğal protein standartı (Precision Plus Protein™ Unstained Standards, Biorad) kullanılmıştır. Elektroforetik yürüme PROTEAN II XL Cell (Bio-Rad, USA) sisteminde (jel başına başlangıçta 20 mA 30 dk; sonrasında 35 mA yaklaşık 7 saat; 16°C'de) bromfenol mavisinin çizgisi jelin en altına ulaşana kadar gerçekleştirilmiştir. Kuraklık ve iyileşme grupları ile bunların kontrol gruplarındaki her bir örnek için 3 tekrar olacak şekilde 3'er adet 2-D jel hazırlanmıştır.

3.5.3.4. Jellerin Boyanması ve Görüntü Analizi

2-D ayrımı yapılan proteinlere ait jeller; kütle spektrometre analizleri için hazırlayıcı, yüksek duyarlılığa ve daha kısa uygulama süresine sahip Oriole™ Fluorescent Gel Stain boyası (Bio-Rad, USA) ile 90 dk karanlık koşullarda çalkalayıcı üzerinde (60 rpm/dk) muamele edilmiştir.

Proteomik analizler için hazır hale getirilen jellerin daha sonraki işlemleri Kocaeli Üniversitesi DEKART Protein Araştırmaları ve Proteom Bilimi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Boyanan jeller VersaDoc sistemi (BioRad, USA) ile uygun ışık kaynağı ve filtreler kullanılarak görüntülenmiştir. Jellerin analiz için uygun boyutlarda görüntüleri QuantityOne programı (BioRad, USA) kullanılarak elde edilmiştir. Protein beneklerinin analizi ve jellerin karşılaştırması PDQuest Advanced programı (versiyon 8.0.1, BioRad, USA) ile yapılmıştır. Bu aşamada jellerdeki beneklerin genotip içi ve genotipler arasındaki varlıkları tespit edilmiştir ve benek hacmindeki değişimler program aracılığıyla normalizasyonu yapılarak belirlenmiştir.

3.5.3.5. Jeldeki Proteinlerin Tripsin ile Kesimi

Belirlenen protein benekleri jellerden EXQuest Spot Cutter (Bio-Rad) cihazı ile 1,5 mm'lik otomatize uçlar kullanarak kesilmiştir. Elde edilen benekler 96 kuyucuklu plaka içerisine konulmuştur.

Protein beneklerinin triptik kesimi için In-Gel Tryptic Digestion Kiti (Thermo Scientific) kullanılmıştır. Plakalarda tüplere aktarılan jel parçaları 2 g/L amonyum bikarbonat içeren %50'lik asetronitril (ACN) çözeltisi ile 37°C'de 30 dk muamele edilmiştir (Boya uzaklaştırılma basamağı). Jel parçalarının üzerindeki sıvı faz uzaklaştırıldıktan sonra tüplerde 50 mM Tris(2-karboksietil)fosfin çözeltisi içeren 2 g/L amonyum bikarbonat çözeltisi eklenmiştir ve 60°C'de 10 dk muamele edilmiştir (İndirgenme basamağı). İşlem sonunda jel üzerindeki sıvı faz uzaklaştırılmıştır ve proteinleri alkilemek için jel parçacıkları 100 mM iodoasetamid ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir (Alkilasyon basamağı).

İnkübasyon sonunda tekrardan sıvı faz uzaklaştırılmıştır ve jel parçaları öncelikle 2 g/L amonyum bikarbonat içeren %50 ACN çözeltisi ile 37°C'de 15 dk; sonrasında ise konsantre ACN ile oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiştir. Çözeltinin uzaklaştırılmasından sonra jel parçaları oda sıcaklığında kurutulmuştur ve üzerine aktive edilmiş tripsin (10ng/μL) eklenerek 37°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüplerin içerisindeki çözelti yeni bir tüpe alınmıştır ve vakum konsantratör (Eppendorf concentrator plus, Germany) ile kurutulmuştur. Kurutulan örnekler 10 μL %0.1'lik trifloroasetik asit (TFA) eklenerek kütle spektrometre analizleri için hazır hale getirilmiştir.

3.5.3.6. Kütle Spektrometresi Analizleri

Kütle spektrometresi analizlerinde; %0.1'lik TFA'da çözünmüş peptitler ZipTip C18 (Millipore, USA) kullanılarak konsantre hale getirilmiştir ve matriks çözeltisi (%50 ACN ve %0.1 TFA ile doyurulmuş 10 mg L⁻¹ α-siyano-4-hidroksisinnamik asit) ile karıştırılmıştır. Daha sonra 2 μL çözelti MALDI plakasına yerleştirilmiştir ve kuruması beklenmiştir. Kütle spektrometresi analizleri, AB Sciex TOF/TOF 5800 kütle spektrometresi cihazı (Applied Biosystems, Framingham, 69 MA, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MALDI kalibrasyonu eksternal (dışsal) veya internal (içsel) kalibrant kullanılarak yapılmıştır ve her bir spektrum için ortalama 200 lazer vuruşu kullanılmıştır. Elde edilen tüm spektrumlar (m/z), MASCOT bilgi bankasında analiz edilmiştir.

Kütle spektrumu (m/z 800–3000) pozitif iyon reflektör modunda elde edilmiştir. Bir protein beneği için MS modundan elde edilen 10 pik, MS/MS fragmentasyonu için seçilmiştir. MS/MS modu 1 kV'lık çarpışma (collision) enerjisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çarpışma teşvikli fragmentasyon için çarpışma gazı olarak hava kullanılmıştır. Öncü MS spektrumları için internal kalibrasyon olarak otolitik tripsin peptitleri kullanılmıştır. Glu-Fib fragmentleri ile elde edilen eksternal kalibrasyon ise MS/MS spektrumlarına uygulanmıştır. MS verileri GPS Explorer (Applied Biosystem) ve MASCOT (Matrix Science, London, UK) yazılımları kullanılarak veri tabanlarına karşı taranmıştır.

3.5.3.7. Biyoinformatik Analizler

Genotiplerde tanımlanan ortak proteinleri belirlemek için Venny 2.1.0 programı (<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) kullanılmıştır. Tanımlanmış proteinlerin birbirleri ile etkileşimini belirleyebilmek için STRING veri tabanı kullanılarak analiz yapılmıştır (<https://string-db.org/>). Ayrıca fotosentez ve karbohidrat metabolizması ile ilişkili proteinlerin metabolik yollardaki yerleri KEGG veri tabanı kullanılarak elde edilmiştir (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

3.6. İstatistiksel Analizler

Denemeler, rasgele deneme deseninde, 3 tekrarlı ve her bir tekrarda da 4 bitki (n=12) olmak üzere 9 deneme tekrarı olacak şekilde düzenlenmiştir. Her bir değişken için farklı sayıda kullanılan örneklem sayısı (n=) ilgili şekil altında verilmiştir. Denemelerden elde edilen verilere, istatistik paket programı (MiniTab 16) kullanılarak istatistiki varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Analizlerden ölçülebilen değerler doğrudan, sayı değerleri de karekök dönüşümleri yapılarak analiz edilmiştir. Her bir değişken için uygulamalar ile genotipler arasındaki farkın önem kontrolü Anlamlı Önemli Fark (AÖF) %5 düzeyinde hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

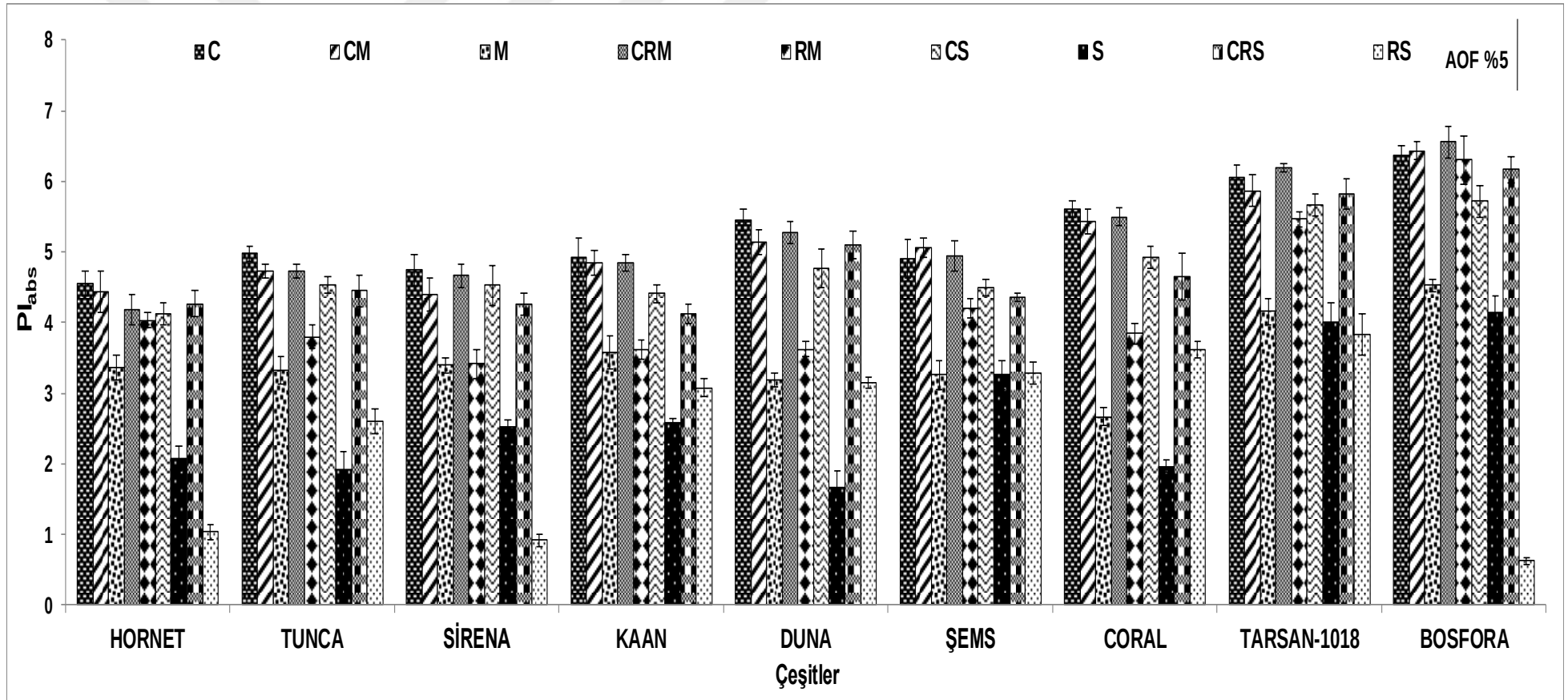
4.1. Tezin I. Aşamasından Elde Edilen Bulgular

4.1.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Yapraklarda Fotokimyasal Etkinlik

4.1.1.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarındaki Fotosentetik Performans İndeksi (PI_{abs})

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarının ayçiçeği çeşitlerinde yapraklardaki PI_{abs} (Performans indeksi) üzerine etkisi incelendiğinde (Şekil 4.1) çeşitlerin kontrol grupları arasında (C, C_M , C_{RM} , C_S ve C_{RS}) istatistiksel olarak önemli bir değişim bulunmamıştır. Orta ve şiddetli kuraklık uygulamaları (M ve S) kendi kontrolleri (C_M ve C_S) ile karşılaştırıldığında; M'de C_M 'ye göre Sirena hariç her iki kuraklık uygulamasında da tüm çeşitlerdeki azalmalar istatistiksel olarak önemlidir. En fazla azalışın, orta şiddetli kuraklık (M) uygulamasında Coral'da (%51), şiddetli kuraklık (S) uygulamasında ise Duna'da (%65) olduğu tespit edilmiştir. Çeşitlerde PI_{abs} değeri, orta şiddetli kuraklığı takip eden 5 gün sulama ile iyileşme uygulamalarında (R_M) orta şiddetli kuraklık (M) uygulamasına göre Coral (% 44), Tarsan-1018 (% 31) ve Bosfora'da (% 39) önemli düzeyde artmıştır ve yine bu uygulamada kendi kontrolüne (C_{RM}) göre PI_{abs} değerinin Sirena (%27), Kaan (%25), Duna (%31) ve Coral 'da (%30) önemli düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık (S) uygulanan bitkilerde PI_{abs} değerinin, orta şiddetli kuraklık (M) uygulamasına göre Hornet (%42), Tunca (%42) ve Duna'da (%48) anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, 9 gün kuraklığı (S) takip eden 5 gün sulama ile iyileşme uygulamasında (R_S) kendi kontrolüne (C_{RS}) göre Coral hariç tüm çeşitlerdeki PI_{abs} değerindeki farkın önemli olduğu belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık sonrasında 5 gün sulama ile iyileşme (R_S) uygulanan ayçiçeği bitkilerinde performans indeksi, şiddetli kuraklığa göre (S); Coral (%84) ve Duna (%88) çeşitlerinde artış gösterirken; Bosfora (%85) ve Sirena (%64) çeşitlerinde önemli düzeyde azalmıştır. Şiddetli kuraklığı takip eden 5 gün sulama ile iyileşme uygulamasında (R_S), orta şiddetli kuraklığı takip eden 5 gün sulama ile iyileşme uygulamasına göre (R_M) PI_{abs} değeri Tunca, Duna, Şems ve Coral hariç diğer çeşitlerde azalmıştır ve en fazla azalış Sirena (%73), Hornet (%74) ve Bosfora (%90) çeşidinde belirlenmiştir.

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarına ait tüm kontrol gruplarının çeşitler arasındaki farkları incelendiğinde; 40 günlük kontrol bitkilerinde (C), Tarsan-1018 ve Bosfora, çeşitleri



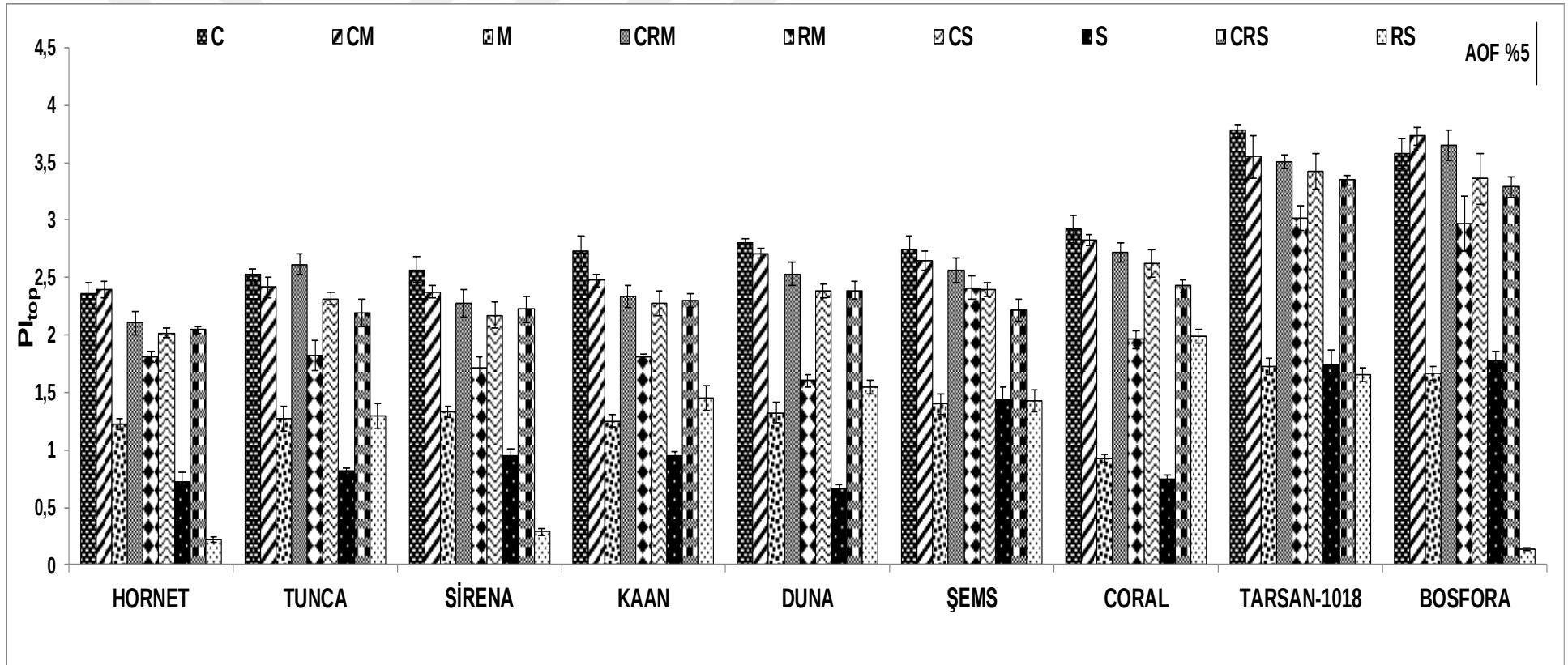
Şekil 4.1. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının performans indeksi (PI_{abs}) üzerine etkisi

(C: 40 günlük kontrol grubu bitkileri, CM: Orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına ait 47 günlük kontrol grubu bitkileri, M: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 7 gün -orta şiddette- kuraklık uygulanan bitkiler, CRM: R_M uygulamasına ait 52 günlük kontrol grubu bitkileri, R_M: 7 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler, C_S: Şiddetli kuraklık (S) uygulamasına ait 49 günlük kontrol grubu bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 9 gün - şiddetli- kuraklık uygulanan bitkiler, CR_S: R₂ uygulamasına ait 54 günlük kontrol grubu bitkileri, R_S: 9 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler)

ile Hornet, Tunca, Sirena, Kaan ve Şems genotipleri arasındaki fark ile Hornet, Duna ve Coral arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1). Orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına ait 47 günlük kontrol grubu (C_M) bitkilerinde ise Tarsan-1018 ve Bosfora çeşitleri ile diğer çeşitler arasındaki fark önemlidir. R_M uygulamasına ait 52 günlük kontrol grubu bitkilerinde (C_{RM}) PI_{abs} değeri Hornet çeşidi ile Duna, Coral, Tarsan-1018 ve Bosfora çeşitlerinden ayrıca Tarsan-1018 ve Bosfora'da, Hornet, Tunca, Sirena, Kaan, Duna ve Şems çeşitlerinden farklılık göstermiştir. Şiddetli kuraklık uygulamasının kontrolünde (C_S) ise Bosfora ve Tarsan-1018 çeşitleri ile Hornet, Tunca, Sirena, Kaan ve Şems çeşitlerinin PI_{abs} değerlerinin önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık uygulaması sonrasında 5 gün sulama ile iyileşme (R_S) uygulanan bitkilerin kontrolünde (C_{RS}) ise Bosfora ve Tarsan-1018 çeşitleri ile Hornet, Tunca, Sirena, Kaan, Şems ve Coral genotiplerinin PI_{abs} değerlerinin önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir. Orta şiddette kuraklık (M) ile orta şiddette kuraklık uygulamasını takiben 5 gün sulama ile iyileşme (R_M) uygulanan genotipler arasında ise Bosfora ve Tarsan-1018 çeşitleri diğer tüm genotiplerden farklılık göstermiştir. Ayrıca, 9 günlük şiddetli kuraklık uygulamasında (S) ise Tarsan-1018 ve Bosfora çeşitleri ile (Şems hariç) diğer tüm genotiplerle arasındaki farklar ve Şems ile Hornet, Tunca, Duna ve Coral arasındaki farklar PI_{abs} değerleri bakımından önemlidir. 9 gün kuraklığı (S) takip eden 5 gün sulama ile iyileşme uygulamasında (R_S); Hornet, Sirena ve Bosfora ile diğer çeşitler arasındaki farklar ve Tunca ile Tarsan-1018 ve Coral arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir.

4.1.1.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarındaki Fotosentetik Toplam Performans İndeksi (PI_{top})

Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının yapraklardaki PI_{top} (Toplam performans indeksi)'a etkileri incelendiğinde (Şekil 4.2), çeşitlerin kontrol bitkileri arasında istatistiksel olarak önemli bir değişim bulunmamıştır. Bununla birlikte M ve S uygulamaları kendi kontrolleri (C_M ve C_S) ile karşılaştırıldığında; her iki uygulamada da kontrollerine göre PI_{top} değeri önemli düzeyde azalmıştır. M uygulamasında PI_{top} değeri yaklaşık %50 oranında azalmış ve en fazla azalış %67 ile Coral genotipinde görülmüştür. Benzer şekilde S uygulamasında istatistiksel olarak tüm genotiplerde (Hornet'de %64, Tunca'da %65, Sirena'da %56, Kaan'da %58, Duna ve Coral'da %72, Şems'de %40, Tarsan-1018'de %49 ve Bosfora'da %47 oranında) önemli azalmalar meydana gelmiştir. R_M 'de M'ye göre PI_{top} değeri Tunca, Sirena, Kaan ve



Şekil 4.2. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının toplam performans indeksi (PI_{top}) üzerine etkisi

(C: 40 günlük kontrol grubu bitkileri, CM: Orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına ait 47 günlük kontrol grubu bitkileri, M: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 7 gün -orta şiddette- kuraklık uygulanan bitkiler, CRM: R_M uygulamasına ait 52 günlük kontrol grubu bitkileri, R_M: 7 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler, C_S: Şiddetli kuraklık (S) uygulamasına ait 49 günlük kontrol grubu bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 9 gün - şiddetli- kuraklık uygulanan bitkiler, CRS: R₂ uygulamasına ait 54 günlük kontrol grubu bitkileri, R_S: 9 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler)

Duna hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmış olup en fazla artışlar sırasıyla 2,1 ve 1,7 kat artış ile Coral ve Tarsan-1018 ile Bosfora'da tespit edilmiştir. R_M kendi kontrolü (C_{RM}) ile kıyaslandığında ise Pl_{top} değerinin Hornet (%14), Tunca (%30), Sirena (%25), Duna (%37), Coral (%28) ve Bosfora'da (%19) önemli düzeyde düşüktür. S ile M uygulanan bitkiler kıyaslandığında ise Pl_{top} değerinin sadece Duna'daki azalışın (%50) istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. R_S 'de C_{RS} 'ye göre Coral hariç diğer genotiplerdeki azalmaların önemli olduğu belirlenmiştir ve en fazla azalışlar Hornet (%89), Sirena (%87), Bosfora (%96) çeşitlerinde belirlenmiştir. S ile R_S uygulanan ayçiçeği bitkileri kıyaslandığında (R_S 'de S'ye göre) Bosfora (%92) ve Sirena (%70) çeşitlerdeki azalışlar ile Coral (1,6 kat) ve Duna'daki (1,4 kat) artışlar istatistiksel olarak önemli düzeydedir. Her iki kuraklık uygulamasına ait iyileşme (R_M-R_S) uygulamaları arasında, R_S 'de R_M 'ye göre Hornet (%88), Sirena (%83), Şems (%41), Tarsan-1018 (%45) ve Bosfora'daki (%96) azalışlar önemlidir.

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarına ait tüm kontrol gruplarının çeşitler arasındaki farkları incelendiğinde (Şekil 4.2), Pl_{top} değeri açısından C, C_{RM} ve C_S uygulamalarında, Tarsan-1018 ve Bosfora ile diğer genotipler arasındaki farklar ve Hornet ile Coral arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir. C_M ve C_{RS} gruplarında ise; Tarsan-1018 ve Bosfora ile diğer çeşitler arasındaki farklılık önemlidir. M uygulamasında Coral çeşidi Tarsan-1018 ve Bosfora'dan farklılık gösterirken; bu uygulamayı takiben 5 gün sulama ile iyileşme (R_M) uygulamasında ve şiddetli kuraklık uygulamasında (S) Şems çeşidi ile diğer genotiplere ve Tarsan-1018 ile Bosfora; Hornet, Tunca, Sirena, Kaan, Duna ve Coral'dan farklılık göstermiştir. R_S ise; Hornet, Sirena ve Bosfora çeşitleri ile diğer tüm genotipler arasındaki fark ile Şems ve Tunca ile Coral çeşitleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir.

4.1.1.3. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında İncelenen Bazı JIP Test Parametreleri

Ayçiçeği çeşitlerinde reaksiyon merkezi başına fotokimya dışında kaybedilen enerji miktarını ifade eden DI_0/RC değerleri, her iki kuraklık uygulamasında (M-S) bu uygulamaların kontrol gruplarına (C_M-C_S) göre ve orta/ şiddetli kuraklığı takip eden 5 gün sulama ile iyileşme (R_M-R_S) uygulamalarının kontrol gruplarına ($C_{RM}-C_{RS}$) göre artış göstermiştir (Şekil 4.3-A). R_M 'de M uygulamasına göre Tunca (%3) ve Sirena (%8) çeşitlerinde artış gösterirken, R_S 'de S'ye göre Hornet (%60), Sirena (%106), Tarsan-1018 (%13) ve Bosfora (%194) çeşitlerinde artış; Tunca (%14), Duna (%32) ve Coral

(31) çeşitlerinde azalış tespit edilmiştir. Şiddetli kuraklık (S) ile orta şiddette kuraklık (M) uygulamaları kendi aralarında kıyaslandığında (S'de M'ye göre) tüm çeşitlerde DI_0/RC değeri artarken, en fazla artışın Hornet (%19), Tunca (%36), Duna (%44) ve Coral (%17) çeşitlerinde olduğu belirlenmiştir. R_S 'de DI_0/RC değeri, R_M 'ye göre tüm çeşitlerde artmış olup, Hornet ve Sirena'da 1 kat, Bosfora'da ise 2,6 katlık artış tespit edilmiştir.

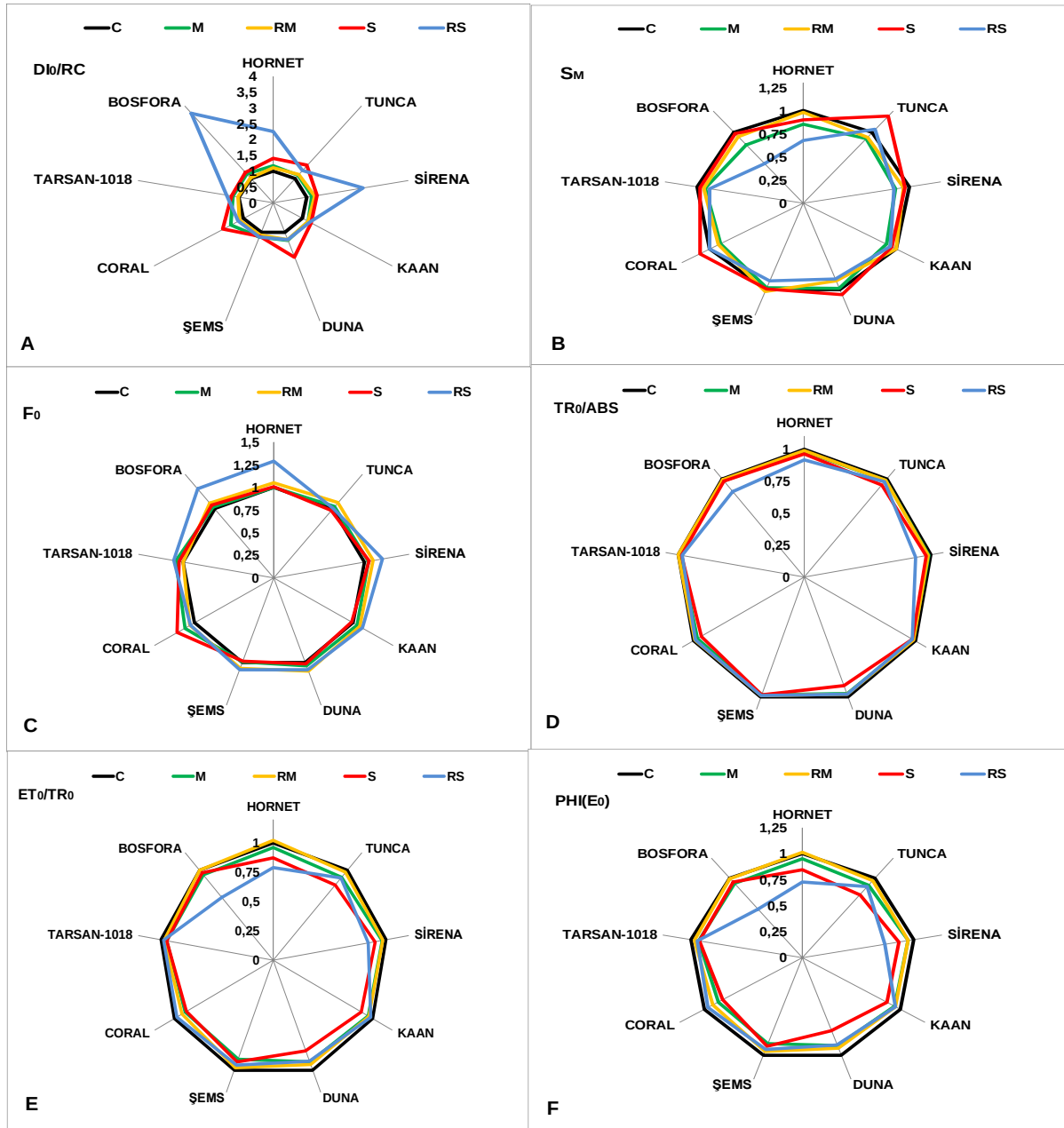
Reaksiyon merkezi başına elektron taşıyıcılarının toplamını ifade eden S_M değeri tüm çeşitlerde, orta şiddette kuraklık (M) uygulamasında kendi kontrolüne (C_M) göre %2 ile %20 arasında azalış göstermiştir (Şekil 4.3-B). R_M uygulamasında ise C_{RM} 'ye göre Şems (%2'lik artış) çeşidi hariç diğer tüm genotiplerde yaklaşık %5'lik bir azalış belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık uygulamasında C_S 'ye göre genel bir azalış söz konusu iken, yalnızca Tunca (%23), Duna (%6) ve Coral (%10) genotiplerinde artış tespit edilmiştir. Bu uygulamanın sonrasında 5 gün sulama ile iyileşme (R_S) uygulanan bitkilerin S_M değeri kendi kontrol grubuna göre (C_{RS}) Hornet, Sirena, Duna, Şems, Tarsan-1018 ve Bosfora çeşitlerinde sırasıyla %33, %14, %12, %10, %12 ve %44 daha düşük olup; yalnızca Tunca çeşidinde %4'lük artış belirlenmiştir. 7 gün kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R_M), orta şiddetli kuraklık (M) uygulamasına göre Hornet (%16), Sirena (%9), Kaan (%12) ve Bosfora (%14) çeşitlerinde önemli artışlar tespit edilmiştir. Şiddetli kuraklığı takip eden 5 gün sulama ile iyileşme uygulamasında (R_S) ise şiddetli kuraklık uygulamasına (S) göre tüm çeşitlerde S_M değeri azalış gösterirken; en fazla azalış %43 ile Bosfora çeşidinde gözlenmiştir. S_M değeri şiddetli kuraklık (S) uygulamasında orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına göre tüm çeşitlerde artış göstermiş olup, Tunca (%35), Coral (%24) ve Bosfora (%19) çeşitlerindeki artışlar en yüksek değerdedir. 9 gün kuraklık uygulaması sonrasında 5 gün sulama ile iyileşme (R_S) uygulanan bitkilerin S_M değeri, 7 gün kuraklık uygulamasını takiben 5 gün sulama ile iyileşme (R_M) uygulanan bitkilere göre (Tunca ve Coral hariç) tüm çeşitlerde azalmış olup en fazla azalış %40 ile Bosfora çeşidinde tespit edilmiştir.

Eksite olan antendeki klorofil a moleküllerinin eksitasyon enerjisini reaksiyon merkezlerine aktarmadan önceki floresans yaymasını ifade eden F_0 (minimum floresans) değerleri kuraklık ve iyileşme gruplarına ait ayçiçeği genotiplerinde (Şekil 4.3-C); orta şiddetli kuraklık uygulamasında (M) kendi kontrolüne (C_M) göre Şems hariç; şiddetli kuraklık uygulamasında (S) ise kendi kontrolüne (C_S) göre Tunca, Kaan

ve Şems hariç ve her iki kuraklığın iyileşme (R_M-R_S) uygulamalarında kontrol gruplarına ($C_{RM}-C_{RS}$) göre tüm çeşitlerde artış göstermiştir. F_0 değeri genotiplerde, 7 gün kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R_M), orta şiddetli kuraklık (M) uygulamasına göre (Coral ve Tarsan-1018 hariç) tüm genotiplerde artmıştır. Benzer şekilde 9 gün kuraklığı takip eden 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R_S), şiddetli kuraklık (S) uygulamasına göre (Coral hariç) tüm genotiplerde artmış ve en fazla artışlar Hornet (%29), Sirena (%14), Şems (%10), Kaan (%13) ve Bosfora (%22) çeşitlerinde görülmüştür. Şiddetli kuraklık (S) ile orta şiddette kuraklık (M) uygulamaları kendi aralarında kıyaslandığında F_0 değeri, Tunca, Kaan, Duna, Şems ve Tarsan-1018 çeşitlerinde azalırken; Coral genotipinde %8'lik bir artış göstermiştir. Her iki kuraklık uygulamasının 5 gün sulama ile iyileşme gruplarında ise R_S 'de R_M 'ye göre Hornet (%23), Tarsan-1018 (%11) ve Bosfora (%19) çeşitlerinde F_0 değeri artmış; diğer genotiplerde ise azalmıştır.

Her iki kuraklık uygulaması (M-S) ile bu uygulamalara ait 5 gün sulama ile iyileşme (R_M-R_S) uygulanan bitkilerde primer fotokimyanın maksimum kuantum verimini ifade eden **TR₀/ABS** değerleri (Şekil 4.3-D) bu uygulamaların kendi kontrolleri ile kıyaslandığında; tüm çeşitlerde yaklaşık %2'lik (Bosfora ve Sirena hariç) azalış belirlenmiştir. Orta şiddette kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R_M), orta şiddetli kuraklık (M) uygulamasına göre meydana gelen değişimler (artış ve/veya azalış) önemli bulunmamıştır. R_S 'de ise, S'ye göre Sirena (%9) ve Bosfora (%11) çeşitlerinde azalış; Duna'da ise %8'lik artış tespit edilmiştir. S ile M uygulamaları ve bu uygulamalara ait 5 gün sulama ile iyileşme (R_M-R_S) uygulamaları kendi aralarında kıyaslandığında S'de M'ye göre ve R_S 'de R_M 'ye göre **TR₀/ABS** değeri tüm çeşitlerde (Şems hariç) azalmıştır.

Tutulan eksitonun PSII'nin primer kinon alıcısından elektron taşınım zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliğini ifade eden **ET₀/TR₀** ve elektron taşınımının maksimum verimini ifade eden **PHI(E₀)** değerleri bakımından her iki kuraklık uygulaması (M-S) kendi kontrolleri ile; R_S de C_{RS} ile kıyaslandığında kontrollere göre tüm çeşitlerde genel bir azalış belirlenmiştir (Şekil 4.3-E ve Şekil 4.3-F). R_M ile C_{RM} karşılaştırıldığında ise kontrole göre (Hornet ve Bosfora hariç) çeşitlerde **ET₀/TR₀** değerinde azalış belirlenmiştir. M ve R_M karşılaştırıldığında (R_M 'de M'ye göre) tüm çeşitlerde **ET₀/TR₀** değeri bakımından genel bir artış tespit edilmiştir. R_S 'de S'ye göre



Şekil 4.3. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının D_{lo}/RC -(A); S_m -(B); F_0 -(C); TR_0/ABS -(D); ET_0/TR_0 -(E) ve $\Phi I(E_0)$ -(F) üzerine etkisi.

Hornet (sırasıyla %10 ve %14), Sirena (sırasıyla %7 ve %15) ve Bosfora (sırasıyla %28 ve %36) çeşitlerinde ET_0/TR_0 ve $\Phi I(E_0)$ değerleri azalmış; Tunca, Kaan, Duna ve Coral çeşitlerinde ise ET_0/TR_0 değeri %11 ve $\Phi I(E_0)$ değeri ise yaklaşık %15 artmıştır. Her iki kuraklık uygulaması (M-S) birbirleri ile karşılaştırıldığında (S'de M'ye göre); Şems ve Bosfora (%2'lik artış) hariç diğer tüm çeşitlerde azalmıştır. ET_0/TR_0 ve $\Phi I(E_0)$ değerleri R_S 'de R_M 'ye göre (Coral ve Kaan hariç) tüm çeşitlerde azalış

belirlenmiş olup bu en fazla azalış Bosfora (sırasıyla %30 ve %39) çeşidinde saptanmıştır.

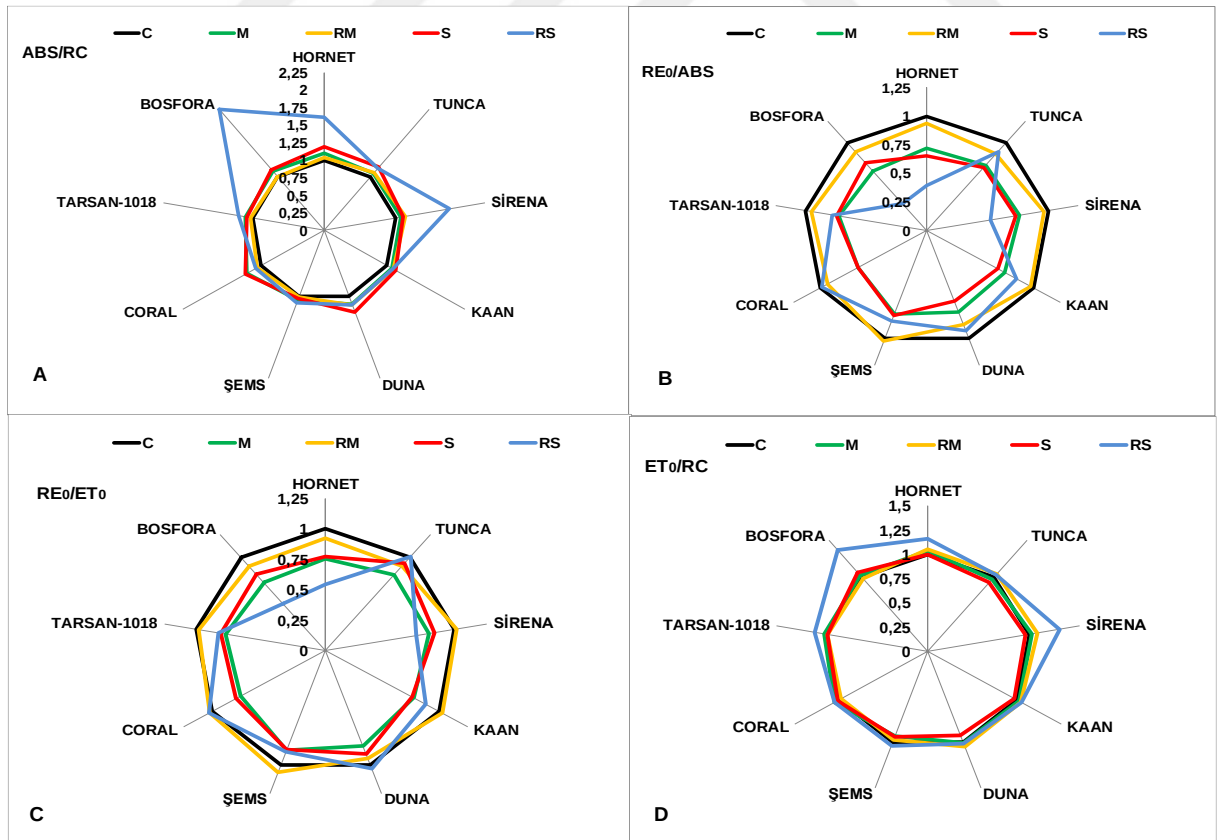
Genotiplerde aktif reaksiyon merkezinin etkili anten büyüklüğünü ifade eden **ABS/RC** değerleri, her iki kuraklık uygulaması (M-S) ile bu uygulamalara ait 5 gün sulama ile iyileşme (R_M-R_S) uygulanan bitkilerde (Şekil 4.4-A) bu uygulamaların kendi kontrolleri ile kıyaslandığında tüm çeşitlerde genel bir artış belirlenmiştir. ABS/RC değeri genotiplerde, R_M 'de M'ye göre Coral (%13) ve Bosfora (%10) çeşitlerinde azalmıştır. R_S 'de ise, S'ye göre Horner, Sirena, Şems, Tarsan-1018 ve Bosfora çeşitlerinde artmış ve en fazla artış 2 kat ile Bosfora çeşidinde görülmüştür. S'de M'ye göre, Tunca ve Duna çeşitlerinde ABS/RC değeri açısından yaklaşık %10'luk bir artış tespit edilmiştir. R_M ve R_S uygulamaları kendi aralarında kıyaslandığında R_S 'de R_M 'ye göre Horner (%55), Sirena (%53) ve Bosfora (%127) çeşitlerinde önemli artışlar belirlenmiştir.

PSII'nin primer kinon alıcısından PSI'in son elektron alıcılarına elektron taşınımının kuantum verimini gösteren **RE_0/ABS (ϕR_0)** değerlerine bakıldığında her iki kuraklık uygulaması (M-S) ile bu uygulamalara ait 5 gün sulama ile iyileşme (R_M-R_S) uygulanan bitkiler (Şekil 4.4-B) kendi kontrolleri ile kıyaslandığında tüm çeşitlerde genel bir azalış göstermiştir. Bu azalışlar genel olarak %7 ile %70 arasında değişmekle birlikte; şiddetli kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulamasında (R_S) kendi kontrolüne göre (C_{RS}) Horner ve Bosfora çeşitlerindeki azalmalar %65 oranındadır. RE_0/ABS değeri, R_M 'de M'ye göre tüm çeşitlerde artış göstermiş olup; Coral %45 ile en fazla artış gösteren çeşit olarak belirlenmiştir. R_S ile S kıyaslandığında ise Horner (%40), Sirena (%29) ve Bosfora (%61) çeşitlerinde azalmalar; Duna (%42), Tunca (%26), Kaan (%27) ve Coral (%54) çeşitlerinde ise artışlar görülmüştür. Her iki kuraklık uygulaması (M-S) birbirleri ile karşılaştırıldığında; RE_0/ABS değeri S'de M'ye göre Şems, Tarsan-1018 ve Bosfora hariç diğer tüm çeşitlerde genel olarak azalmıştır. Her iki kuraklık uygulamasına ait iyileşme (R_M-R_S) uygulamaları arasında Tunca, Duna, Coral çeşitleri haricindeki tüm genotiplerde R_S 'de R_M 'ye göre RE_0/ABS değeri önemli düzeyde azalış göstermiş olup en fazla azalışlar Horner, Sirena ve Bosfora (sırasıyla %58, %46 ve %66) çeşitlerindedir.

Ayçiçeği genotiplerinde her iki kuraklık uygulamasında (M-S) bu uygulamaların kontrol gruplarına (C_M-C_S) göre, PSI'in son elektron alıcılarına bir elektronu hareket ettirme etkinliği olan **RE_0/ET_0** önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.4-C). R_M 'de C_{RM} 'ye göre Sirena, Kaan, Şems ve Coral hariç; R_S 'de C_{RS} 'ye göre ise Tunca, Duna, Coral hariç

diğer çeşitlerdeki azalış önemlidir. RE_0/ET_0 değeri çeşitlerde, R_M 'de M uygulamasına göre tüm çeşitlerde %10'dan fazla artış göstermiştir. Sırasıyla %36, %32, %26 ve %27 ile Coral, Kaan, Tarsan-1018 ve Sirena en fazla artışı gösteren çeşitlerdir. R_S ve S kıyaslandığında; Hornet (%30), Sirena (%16) ve Bosfora (%39)'da RE_0/ET_0 değeri azalırken, diğer çeşitlerde bu değer artmış ve en fazla artış %30 ile Coral çeşidinde görülmüştür. Her iki kuraklık uygulaması (M-S) birbirleri ile karşılaştırıldığında; S'de M'ye göre Kaan ve Şems çeşitlerinde bu değer %2 oranında azalırken, diğer tüm çeşitlerde artış göstermiştir. Kuraklık uygulamalarına ait iyileştirme uygulamalarında ise R_S 'de R_M 'ye göre Hornet, Sirena, Kaan, Şems, Tarsan-1018 ve Bosfora çeşitlerinde RE_0/ET_0 değeri azalış göstermiş olup, en fazla azalışlar %42 ve %45 ile Hornet ve Bosfora'dadır.

Reaksiyon merkezi başına elektron taşınımını belirten ET_0/RC değeri incelendiğinde, M'de C_M 'ye göre Tunca ve Şems çeşitlerinde azalış belirlenmiştir (Şekil 4.4-D). R_M 'de C_{RM} 'ye göre Şems, Coral, Tarsan-1018 ve Bosfora hariç diğer çeşitlerde ET_0/RC değeri artmıştır. Şiddetli kuraklık uygulamasında (S) yine kendi kontrolüne göre (C_S) genel bir azalış söz konusu iken; R_S 'de C_{RS} 'ye göre ET_0/RC değeri tüm çeşitlerde artış



Şekil 4.4. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının ABS/RC-(A); RE_0/ABS -(B); RE_0/ET_0 -(C) ve ET_0/RC -(D) üzerine etkisi.

göstermiştir. R_s 'de ise, S uygulamasına göre tüm çeşitlerde ET_0/RC artmış ve en fazla artış %35 ile Sirena çeşidinde görülmüştür. M ile R_M uygulaması ile kıyaslandığında; ET_0/RC değerinde R_M 'de M 'ye göre Coral, Tarsan-1018 ve Bosfora hariç çeşitlerde genel olarak artış olmuştur. Her iki kuraklık uygulaması ($M-S$) karşılaştırıldığında, şiddetli kuraklıkta orta şiddetli kuraklığa göre ET_0/RC değerinde genel bir azalış görülürken, yalnızca Bosfora'da (%3) artmıştır. R_M ve R_s uygulamaları kendi aralarında kıyaslandığında R_s 'de R_M 'ye göre ET_0/RC değeri Hornet, Sirena, Tarsan-1018 ve Bosfora çeşitlerinde sırasıyla %10, %20, %13 ve %38 oranında artış göstermiştir.

4.1.1.4. Kuraklık Faktör İndeksi (KFI)

Kuraklık faktör indeksi (KFI) kullanılarak; performans indeks (PI_{abs} ve PI_{top}) verileri normalize edilebilmekte, genotiplerin birbirleri ile daha iyi karşılaştırması sağlanabilmekte ve bitki genotipleri kuraklık tolerans derecelerine göre sıralanabilmektedir.

4.1.1.4.1. PI_{abs} İçin Kuraklık Faktör İndeksi (KFI)

Genotiplerin orta ve şiddetli kuraklık uygulamalarında PI_{abs} verileri kullanılarak kuraklık faktör indeksleri (KFI) değerleri hesaplanmış ve en yüksek KFI değerleri Bosfora, Tarsan-1018 ve Şems genotiplerinde belirlenirken, en düşük KFI değerleri Coral ve Duna'da gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Kuraklık ve iyileşme uygulanan ayçiçeği çeşitlerinde PI_{abs} 'den hesaplanan kuraklık faktör indeksleri (KFI)

Genotipler	PI_{abs} -KFI	Gruplar
BOSFORA	-0,430232697	1. grup
TARSAN-1018	-0,452284748	1. grup
ŞEMS	-0,470967825	1. grup
KAAN	-0,599252412	2. grup
SİRENA	-0,618981665	2. grup
HORNET	-0,716102331	3. grup
TUNCA	-0,896081005	4. grup
CORAL	-1,105939026	5. grup
DUNA	-1,119847793	5. grup

4.1.1.4.2. PI_{top} İçin Kuraklık Faktör İndeksi (KFI)

Genotiplerin orta ve şiddetli kuraklık uygulamalarında PI_{top} verileri kullanılarak kuraklık faktör indeksleri (KFI) değerleri hesaplanmış ve en yüksek KFI değeri Şems'de en düşük KFI değerleri ise Coral'da tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Kuraklık ve iyileşme uygulanan ayçiçeği genotiplerinde PI_{top} 'dan hesaplanan kuraklık faktör indeksleri (KFI)

Genotipler	PI_{top} -KFI	Gruplar
ŞEMS	-0,720023638	1.grup
BOSFORA	-0,904225542	2. grup
TARSAN-1018	-0,904979364	2. grup
SİRENA	-0,965909196	2. grup
KAAN	-1,053911681	3. grup
TUNCA	-1,178275697	4. grup
HORNET	-1,185427136	4. grup
DUNA	-1,422743691	5. grup
CORAL	-1,580019214	6. grup

4.1.1.5. İyileşme Faktör İndeksi (IFI)

İyileşme faktör indeksi (IFI), kuraklık faktör indeksi (KFI)'nin de ortaya koyduğu iki hedefi ile tanımlanabilir. Bunlar; performans indeks verilerinin normalize edilerek uygulanması ile genotiplerin daha iyi karşılaştırılması ve iyileşme toleranslarına göre bitki genotiplerinin sıralanmasıdır.

4.1.1.5.1. PI_{abs} için İyileşme Faktör İndeksi (IFI)

Genotiplerin orta ve şiddetli kuraklık uygulamalarında PI_{abs} verileri kullanılarak iyileşme faktör indeksleri (IFI) değerleri hesaplanmış ve en yüksek IFI değerleri Şems ve Tarsan-1018 genotiplerinde belirlenirken, en düşük IFI değeri ise Bosfora'da gözlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Kuraklık ve iyileşme uygulanan ayçiçeği genotiplerinde PI_{abs} 'den hesaplanan iyileşme faktör indeksleri (IFI)

Genotipler	PI_{abs} -IFI	Gruplar
ŞEMS	-0,351589721	1.grup
TARSAN-1018	-0,370726575	1. grup
CORAL	-0,418510954	2. grup
KAAN	-0,439393962	2. grup
DUNA	-0,514369925	3. grup
TUNCA	-0,577432913	3. grup
HORNET	-1,24106468	4. grup
SİRENA	-1,497404304	5. grup
BOSFORA	-1,934818881	6. grup

4.1.1.5.2. PI_{top} İçin İyileşme Faktör İndeksi (IFI)

Genotiplerin orta ve şiddetli kuraklık uygulamalarında PI_{top} verileri kullanılarak iyileşme faktör indeksleri (IFI) değerleri hesaplanmış ve en yüksek IFI değeri Coral'da belirlenirken, en düşük IFI değeri Bosfora'da tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

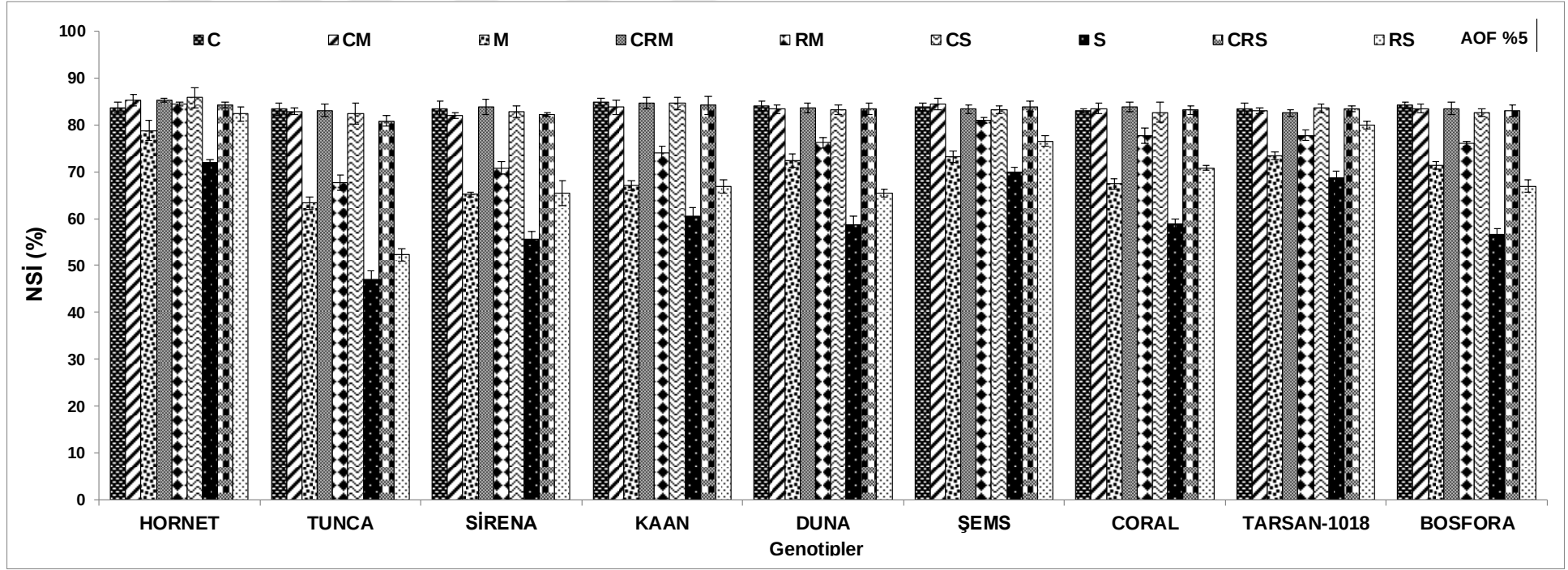
Çizelge 4.4. Kuraklık ve iyileşme uygulanan ayçiçeği genotiplerinde PI_{top} 'dan hesaplanan iyileşme faktör indeksleri (IFI)

Genotipler	Plabs-IFI	Gruplar
CORAL	-0,400235909	1. grup
ŞEMS	-0,489756536	2. grup
KAAN	-0,52656155	2. grup
DUNA	-0,601226398	3. grup
TUNCA	-0,631046832	3. grup
TARSAN-1018	-0,701341716	4. grup
SİRENA	-1,90608563	5. grup
HORNET	-2,03570594	5. grup
BOSFORA	-2,902374577	6. grup

4.1.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Fizyolojik Ölçümler

4.1.2.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Nispi Su İçeriği (NSİ)

Yapraktaki toplam nispi su içeriği üzerine kuraklık ve bunlara ait iyileşme uygulamalarının etkisi incelendiğinde (Şekil 4.5), zamana bağlı olarak genotiplerin kontrol grupları arasında (C , C_M , C_{RM} , C_S ve C_{RS}) önemli bir değişim bulunmamıştır. Çeşitler arasında her iki kuraklık uygulaması kontrol grupları ile kıyaslandığında (M 'de C_M 'ye ve S 'de C_S 'ye göre) Hornet hariç diğer çeşitlerde önemli düzeyde azalışlar tespit edilmiştir. En fazla azalışlar Tunca (sırasıyla %24 ve %43) ve Sirena (sırasıyla %21 ve %33) çeşitlerinde görülmüştür. R_M ile C_{RM} kıyaslandığında Hornet, Şems, Coral ve Tarsan-1018 hariç nispi su içeriğinin çeşitlerde düşük olduğu belirlenmiştir. R_S 'de kendi kontrolüne (C_{RS}) göre Hornet ve Tarsan-1018 hariç çeşitlerde nispi su içeriğinde önemli azalmalar belirlenmiş olup en fazla azalışlar Tunca (%35) ve Duna (%22) çeşitlerindedir. R_M 'de M 'ye göre Şems ve Coral'daki artışlar önemli iken; R_S 'de S 'ye göre Hornet, Sirena, Coral, Tarsan-1018 ve Bosfora'da önemli düzeyde artış belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık (S) ile orta şiddette kuraklık (M) uygulanan bitkiler kıyaslandığında, Hornet, Sirena, Şems ve Tarsan-1018 hariç çeşitlerde %11-%26 arasında azalışlar belirlenmiştir. Her iki kuraklık uygulamasına ait iyileşme (R_S 'de R_M 'ye göre) uygulamaları karşılaştırıldığında (Tunca, Duna ve Bosfora hariç) tüm genotiplerde R_S 'de R_M 'ye göre değişimlerin önemli olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının nispi su içeriği (NSİ) üzerine etkisi

(C: 40 günlük kontrol grubu bitkileri, CM: Orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına ait 47 günlük kontrol grubu bitkileri, M: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 7 gün -orta şiddette- kuraklık uygulanan bitkiler, CRM: RM uygulamasına ait 52 günlük kontrol grubu bitkileri, RM: 7 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler, CS: Şiddetli kuraklık (S) uygulamasına ait 49 günlük kontrol grubu bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 9 gün - şiddetli- kuraklık uygulanan bitkiler, CRS: R₂ uygulamasına ait 54 günlük kontrol grubu bitkileri, RS: 9 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler)

Genotipler arasında nispi su içeriği bakımından kontrol grupları içerisinde (C, C_M, C_{RM}, C_S ve C_{RS}) önemli düzeyde bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.5). Orta şiddetli kuraklık (M) uygulamasında; Hornet ile Tunca, Sirena, Kaan ve Coral arasındaki farklar ve Bosfora ile Tunca arasındaki farkların istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir. 7 gün kuraklığı takip eden 5 gün sulama ile iyileşme uygulamasında (R_M) genotipler arasında Hornet çeşidi ile Tunca, Sirena, Kaan ve Duna arasındaki farklar; Sirena ile Şems ve Coral ve Tunca ile Duna, Şems, Coral, Tarsan-1018 ve Bosfora'da farklılıklar önemlidir. S'de ve R_S'de; ise çeşitler nispi su içeriği bakımından incelendiğinde; Tunca ile diğer genotiplere arasındaki farklar ve Hornet, Şems ve Tarsan-1018 ile Sirena, Kaan, Duna, Coral ve Bosfora arasında farklılıkların önemli olduğu tespit edilmiştir.

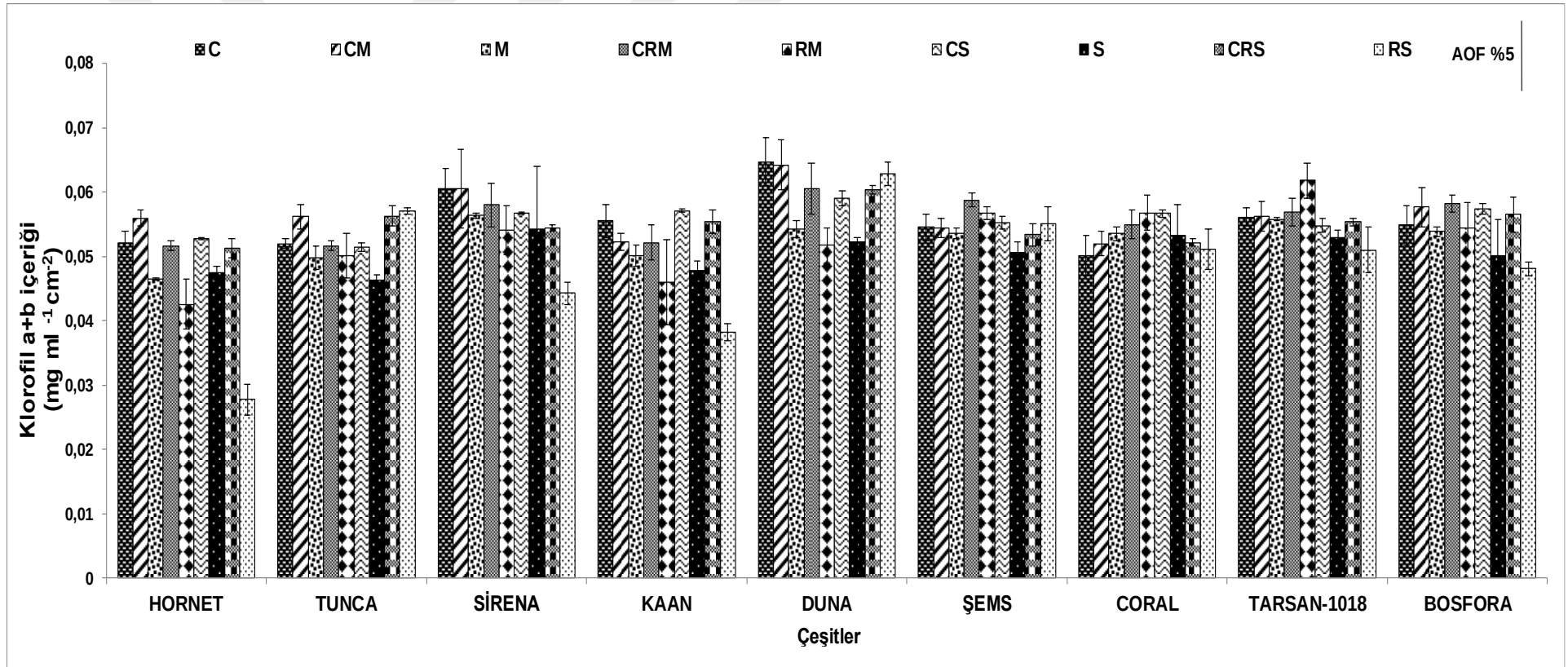
4.1.3. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Biyokimyasal Ölçümler

4.1.3.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında Fotosentetik Pigment İçeriği

4.1.3.1.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında Toplam Klorofil (a+b) İçeriği

Yapraktaki toplam klorofil (a+b) içeriği üzerine kuraklık ve bunlara ait iyileşme uygulamalarının etkisi incelendiğinde (Şekil 4.6), zamana bağlı olarak genotiplerin kontrol grupları arasında (C, C_M, C_{RM}, C_S ve C_{RS}) önemli bir değişim bulunmamıştır. Çeşitler arasında M ile C_M, R_M ile C_{RM}, S ile C_S, R_M ile M ve M ile S kıyaslandığında; toplam klorofil (a+b) içeriği bakımından azalışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Toplam klorofil (a+b) içeriğinde R_S'de S'ye ve R_S'de R_M'ye göre sadece Hornet'de sırasıyla %42 ve %35 oranları ile istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır. R_S'de ise toplam klorofil (a+b) içeriği C_{RS}'ye göre yalnızca Hornet (%46) ve Kaan (%31) çeşitlerinde anlamlı düzeyde azalmıştır.

Genotiplerde 40 günlük kontrol bitkileri arasında (C) toplam klorofil (a+b) içeriği bakımından en yüksek olan Duna ve en düşük değere sahip olan Coral diğer çeşitlerden farklılık göstermiştir (Şekil 4.6). Bunun dışında genotipler arasında kontrol grupları içerisinde (C_M, C_{RM}, C_S ve C_{RS}) önemli düzeyde bir farklılık bulunmamıştır. Hem M hem de S uygulamalarında çeşitler arasında toplam klorofil (a+b) içeriği incelendiğinde bir farklılık tespit edilmemiştir. R_M'de çeşitler arasında Hornet ve Kaan genotipleri arasındaki ile Tarsan-1018 çeşidi arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir. R_S'de ise; Hornet genotipi ile Tunca, Sirena, Duna,



Şekil 4.6. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının toplam klorofil (a+b) miktarı üzerine etkisi

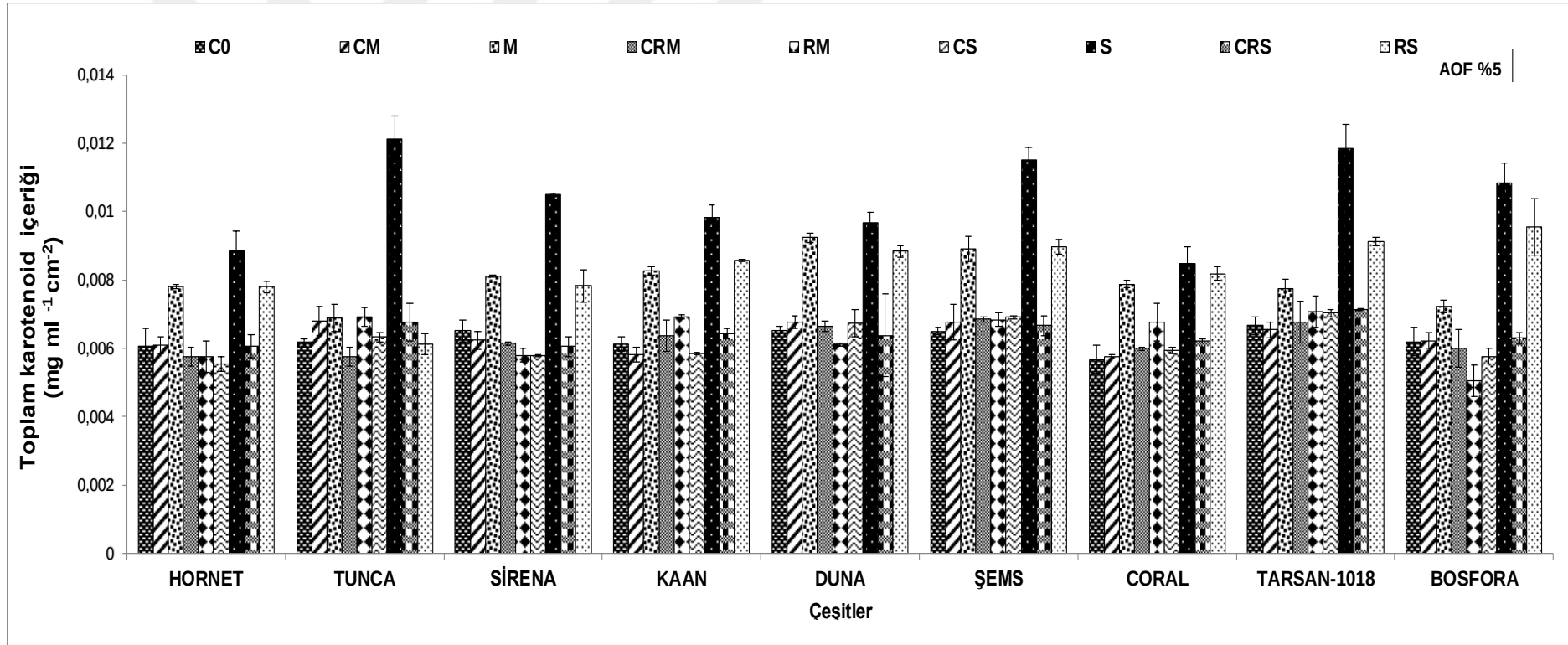
(C: 40 günlük kontrol grubu bitkileri, CM: Orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına ait 47 günlük kontrol grubu bitkileri, M: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 7 gün -orta şiddette- kuraklık uygulanan bitkiler, CRM: RM uygulamasına ait 52 günlük kontrol grubu bitkileri, RM: 7 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler, CS: Şiddetli kuraklık (S) uygulamasına ait 49 günlük kontrol grubu bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 9 gün - şiddetli- kuraklık uygulanan bitkiler, CRS: R2 uygulamasına ait 54 günlük kontrol grubu bitkileri, RS: 9 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler)

Şems, Coral, Tarsan-1018 ve Bosfora genotipleri arasındaki fark ile Duna çeşidi ile Sirena, Kaan ve Bosfora çeşitleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.

4.1.3.1.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında Karotenoid İçeriği

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarının, yaprak karotenoid içeriği üzerine etkisi incelendiğinde (Şekil 4.7) çeşitlerde karotenoid içeriği bakımından kontrol grupları arasında (C, C_M, C_{RM}, C_S ve C_{RS}) istatistiksel olarak önemli bir değişim bulunmamıştır. M'de C_M'ye göre karotenoid içeriği, Kaan (%42) ve Duna (%37) çeşitleri hariç diğer çeşitlerdeki değişimler önemli düzeyde değildir. R_M'de ise C_{RM}'ye göre çeşitlerdeki değişimler istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmazken; R_M uygulaması M ile karşılaştırıldığında, Sirena (%28) ve Duna'daki (%34) azalışların önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca şiddetli kuraklık (S) uygulaması C_S ile karşılaştırıldığında tüm çeşitlerde karotenoid içeriği önemli düzeyde artmıştır ve en fazla artış sırasıyla %92 ve %88 oranları ile Tunca ve Bosfora'da belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık (S) uygulamasında orta şiddetli kuraklığa (M) göre karotenoid içeriği Tunca (%76), Şems (%29), Tarsan-1018 (%53) ve Bosfora'da (%50) artış göstermiştir. R_S'de C_{RS}'ye ve R_S'de R_M'ye göre karotenoid içeriği sadece Duna (sırasıyla % 39 ve % 45) ve Bosfora (sırasıyla % 52 ve % 89) genotiplerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır. Şiddetli kuraklık (S) ve R_S birbirleri ile kıyaslandığında, Tunca (%49), Şems (%22) ve Tarsan-1018'deki (%23) azalışların istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir.

Karotenoid içeriği bakımından hem kuraklık uygulamaları (M-S) hem de bunlara ait iyileşme gruplarının (R_M-R_S) kontrol grupları (C, C_M, C_{RM}, C_S ve C_{RS}) içerisinde çeşitler arasında önemli düzeyde bir farklılık bulunmamıştır. Ayrıca M uygulamasında Tunca çeşidi ile Duna çeşidi arasında farklılık belirlenmiştir (Şekil 4.7). R_M'de ise çeşitler arasında yine önemli düzeyde bir farklılık tespit edilmemiştir. Şiddetli kuraklık uygulamasında karotenoid içeriği bakımından (S); Coral ile Tunca, Şems, Tarsan-1018 ve Bosfora arasındaki farklar; Tunca ile Hornet, Sirena, Kaan ve Duna arasındaki farklar; Hornet ile Şems ve Tarsan-1018 arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir. R_S'de; Tunca çeşidi ile Kaan, Duna, Şems, Tarsan-1018 ve Bosfora genotipleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.



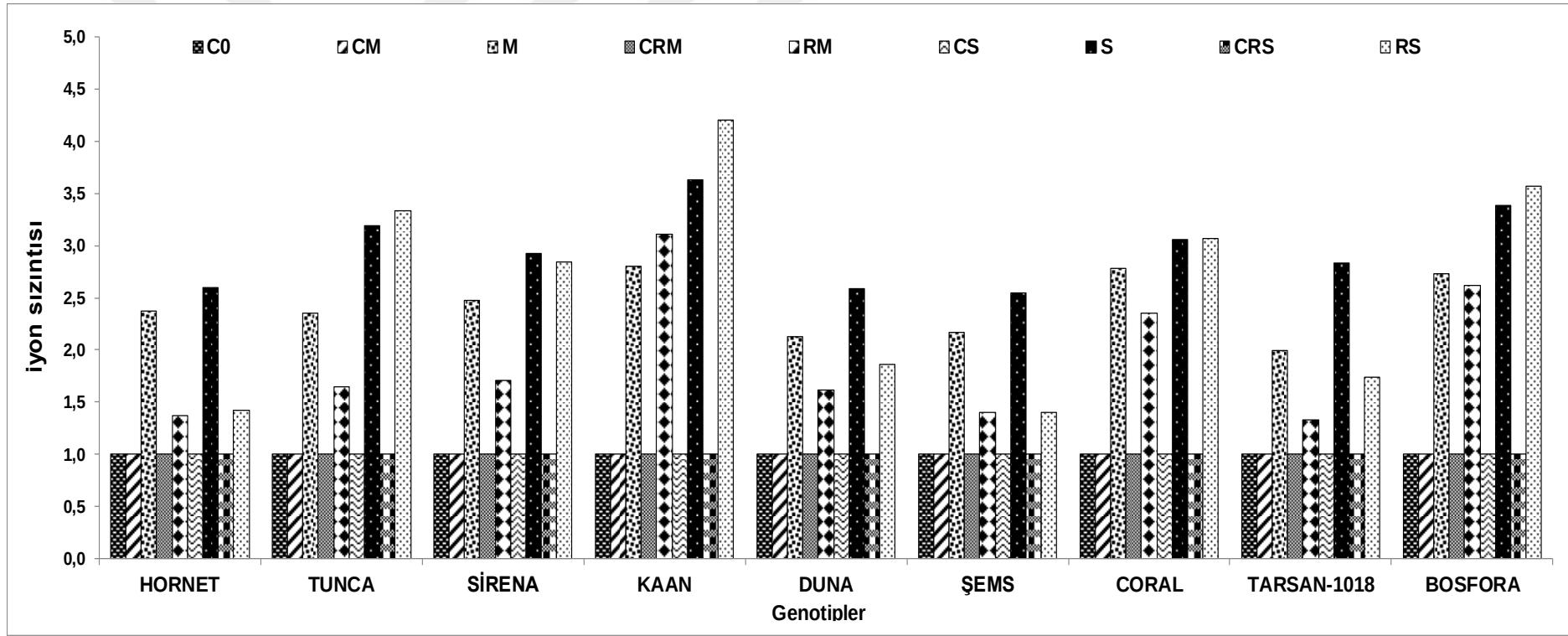
Şekil 4.7. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının karotenoid miktarı üzerine etkisi

(C: 40 günlük kontrol grubu bitkileri, CM: Orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına ait 47 günlük kontrol grubu bitkileri, M: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 7 gün -orta şiddette- kuraklık uygulanan bitkiler, CRM: R_M uygulamasına ait 52 günlük kontrol grubu bitkileri, RM: 7 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler, CS: Şiddetli kuraklık (S) uygulamasına ait 49 günlük kontrol grubu bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 9 gün - şiddetli- kuraklık uygulanan bitkiler, CRS: R₂ uygulamasına ait 54 günlük kontrol grubu bitkileri, RS: 9 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler)

4.1.3.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Çeşitlerin Yapraklarında İyon Sızıntısı

Yapraktaki iyon sızıntısı üzerine kuraklık (M-S) ve bunlara ait iyileşme uygulamalarının etkisi incelendiğinde (Şekil 4.8), çeşitlerde kontrol grupları arasında (C, C_M, C_{RM}, C_S ve C_{RS}) istatistiksel olarak önemli bir değişim bulunmamıştır. M ile C_M ve R_M ile C_{RM} karşılaştırıldığında çeşitler arasında yapraktaki iyon sızıntısında önemli düzeyde artışlar söz konusu olup en fazla artışlar; Bosfora (sırasıyla 1,7 ve 1,6 kat), Coral (1,8 ve 1,4 kat) ve Kaan (1,8 ve 2,1 kat) çeşitlerinde belirlenmiştir. M ile R_M karşılaştırıldığında, tüm çeşitlerde (Bosfora hariç) anlamlı bir azalış belirlenmiştir ve en büyük azalışın Hornet (%42) genotipinde olduğu saptanmıştır. S uygulaması C_S ile karşılaştırıldığında tüm çeşitlerde yapraktaki iyon sızıntısı önemli düzeyde artmıştır. Ayrıca S uygulamasında yapraktaki iyon sızıntısı (Hornet hariç) tüm çeşitlerde M uygulamasına göre anlamlı düzeyde artmış ve en fazla artışlar Tunca (%34), Kaan (%32) ve Tarsan-1018 (%45) çeşitlerinde belirlenmiştir. R_S'de ise yapraktaki iyon sızıntısı C_{RS}'ye göre tüm genotiplerde artarken, en fazla artışlar Tunca (2,3 kat), Kaan (3,2 kat), Coral (2,1 kat) ve Bosfora (2,6 kat) çeşitlerinde belirlenmiştir. Yapraktaki iyon sızıntısının S uygulamasında R_S'ye göre; Hornet (%47), Duna (%28), Şems (%44) ve Tarsan-1018 (%40) çeşitlerinde anlamlı düzeyde azalırken; Kaan'da (%17) önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Her iki kuraklık uygulamasının iyileşme grupları kendi arasında karşılaştırıldığında (R_S'de ve R_M'ye göre) Hornet ve Şems hariç diğer çeşitlerdeki artışlar (1,1 ile 2 kat arasında) istatistiksel olarak önemlidir.

Ayçiçeği çeşitlerinde kontrol grupları arasında (C, C_M, C_{RM}, C_S ve C_{RS}) yapraktaki iyon sızıntısı önemli bir değişim göstermemiştir (Şekil 4.8). Orta şiddetli kuraklık uygulamasında (M) Kaan, Coral ve Bosfora çeşitleri ile Tunca, Duna, Şems ve Tarsan-1018 çeşitleri arasındaki farklar; Tarsan-1018 ile Hornet, Tunca, Sirena ve Şems arasındaki farklar ve ayrıca Şems ve Duna ile Hornet ve Sirena arasındaki farklar önemlidir. 9 günlük şiddetli kuraklık uygulamasında (S) Kaan ve Bosfora ile diğer genotipler arasındaki farklar; Şems ile Tunca, Sirena, Duna, Coral ve Tarsan-1018 arasındaki farklar; Duna ile Tunca arasındaki farklar ve ayrıca Tarsan-1018 ile Tunca ve Coral arasındaki farklar önemlidir. İyileşme (R_M-R_S) gruplarının yapraktaki iyon sızıntısı bakımından farkları incelendiğinde; R_M'de Bosfora ile diğer çeşitler arasındaki farklar; Coral ile diğer çeşitler arasındaki farklar; Tarsan-1018 ile Tunca, Sirena, Kaan, Duna ve Şems arasındaki farklar; Kaan ile diğer genotipler arasındaki farklar ve Sirena ile Şems arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının yapraktaki iyon sızıntısı üzerine etkisi. Çeşitlerde iyon sızıntısı için uygulamalara ait değerlerden ortalamalar hesaplanmış olup kontrol değerlerine göre (kontrol=1) veriler normalize edilmiştir.

(C: 40 günlük kontrol grubu bitkileri, C_M: Orta şiddette kuraklık (M) uygulamasına ait 47 günlük kontrol grubu bitkileri, M: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 7 gün -orta şiddette- kuraklık uygulanan bitkiler, C_{RM}: R_M uygulamasına ait 52 günlük kontrol grubu bitkileri, R_M: 7 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler, C_S: Şiddetli kuraklık (S) uygulamasına ait 49 günlük kontrol grubu bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları sonrasında 9 gün - şiddetli- kuraklık uygulanan bitkiler, C_{RS}: R₂ uygulamasına ait 54 günlük kontrol grubu bitkileri, R_S: 9 gün kuraklığı takiben 5 gün sulama ile iyileşme uygulanan bitkiler)

Rs'de ise Tunca ve Coral ile diğer genotipler arasındaki farklar; Sirena ile diğer genotipler arasındaki farklar; Kaan ile diğer genotipler arasındaki farklar; Duna ile diğer genotipler arasındaki farklar; Bosfora ile diğer genotipler arasındaki farklar ve ayrıca Şems ile Tarsan-1018 arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir.

4.1.4. Analizi Yapılan Parametreler Doğrultusunda Puanlama

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamalarında, kuraklık ve iyileşme faktör indeksleri ile hasar indeks değerleri üzerine yapılan hesaplamalar sonucunda (Çizelge 4.5, 4.6 ve 4.7) Tarsan-1018, Şems ve Sirena çeşitleri kuraklığa toleranslı; Hornet, Tunca ve Duna çeşitleri orta derecede kuraklığa toleranslı; Coral, Kaan ve Bosfora çeşitleri ise kuraklığa duyarlı çeşitler olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen performans indeksleri ile (PI_{abs} ve PI_{top}) hesaplanan kuraklık ve iyileşme faktör indekslerine göre puanlanma, toplam puanlar ve sıralama.

Genotipler	PI_{abs} -KFI	PI_{abs} -IFI	PI_{top} -KFI	PI_{top} -IFI	Toplam	Sıralama
HORNET	6	7	7	8	28	9
TUNCA	7	6	6	5	24	7
SİRENA	5	8	4	7	24	6
KAAN	4	4	5	3	16	3
DUNA	9	5	8	4	26	8
ŞEMS	3	1	1	2	7	1
CORAL	8	3	9	1	21	4
TARSAN-1018	2	2	3	6	13	2
BOSFORA	1	9	2	9	21	5

Çizelge 4.6. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen pigment içeriği, iyon sızıntısı ve nispi su içeriği ile hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlanma, toplam puanlar ve sıralama.

Genotipler	İyon				Toplam	Sıralama
	Klorofil a+b	Karotenoid	sızıntısı	NSİ		
HORNET	29	23	10	6	68	2
TUNCA	20	20	24	10	74	4
SİRENA	25	14	20	11	70	3
KAAN	29	20	34	17	100	8
DUNA	25	19	14	22	80	6
ŞEMS	12	16	8	22	58	1
CORAL	7	30	27	28	92	7
TARSAN-1018	20	20	11	28	79	5
BOSFORA	23	18	32	36	109	9

Çizelge 4.7. Ayçiçeği çeşitlerinde I. aşamada kullanılan tüm parametrelerden elde edilen toplam puanlar ve çeşitlerin kuraklığa toleransa göre sıralaması.

PUANLAR												
Sıralama	Genotipler	PI _{abs} -KFI	PI _{abs} -IFI	PI _{top} -KFI	PI _{top} -IFI	kloa+b	Car	NSI	I.S.	Toplam	Sıralama	
4	HORNET	6	7	7	8	29	23	6	10	96	ŞEMS	Kuraklığa toleranslı
5	TUNCA	7	6	6	5	20	20	10	24	98	TARSAN-1018	
3	SİRENA	5	8	4	7	25	14	11	20	94	SİRENA	
8	KAAN	4	4	5	3	29	20	17	34	116	HORNET	Kuraklığa orta derecede toleranslı
6	DUNA	9	5	8	4	25	19	22	14	106	TUNCA	
1	ŞEMS	3	1	1	2	12	16	22	8	65	DUNA	
7	CORAL	8	3	9	1	7	30	28	27	113	CORAL	Kuraklığa duyarlı
2	TARSAN-1018	2	2	3	6	20	20	28	11	92	KAAN	
9	BOSFORA	1	9	2	9	23	18	36	32	130	BOSFORA	

Car: Karotenoid içeriği, I.S.: İyon Sızıntısı, NSI: Nispi Su İçeriği

Bu aşamadan elde edilen sonuçlara göre orta ve şiddetli kuraklık ile kuraklık sonrasında iyileşme uygulamalarına ait parametrelere göre bazı çeşitlerde iyileşme, bazı çeşitlerde orta derecede iyileşme gözlenmiş, son grupta ise iyileşme gerçekleşmemiştir. Yapılan analizler ve hesaplamalar sonucunda çeşitler kuraklığa toleranslarına göre sınıflandırılmış ve bir sonraki aşama için 2 adet toleranslı, 1 adet orta derecede toleranslı ve 1 adet duyarlı olacak şekilde 4 çeşit seçilmiştir. Seçilen çeşitlere şiddetli (9 gün) kuraklık ve sonrasında 5 gün iyileşme uygulanmıştır.

Kuraklığa toleranslı çeşitler: Şems ve Tarsan-1018

Kuraklığa orta derecede toleranslı çeşit: Tunca

Kuraklığa duyarlı çeşit: Kaan

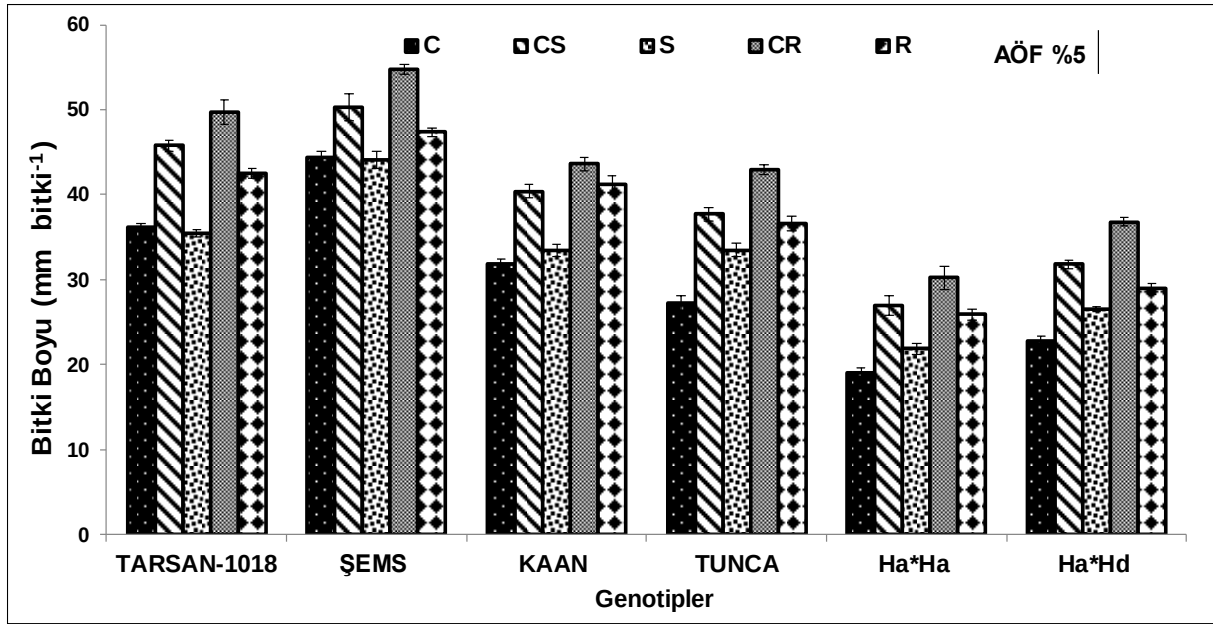
4.2. Tezin II. Aşamasından Elde Edilen Bulgular

4.2.1. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Morfolojik Ölçümler

4.2.1.1. Bitki Boyu, Tolerans İndeksi ve İyileşme Potansiyelleri

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında genotiplerin bitki boyları incelendiğinde (Şekil 4.9); tüm genotiplerde (C=40 gün, C_S=49 gün ve C_R=54 gün) C_R'de C'ye göre Şems hariç; C_S'de C'ye ve C_R'de C'ye göre zamana bağlı olarak önemli düzeyde artmıştır. Ayrıca C_R'de C_S'ye göre bitki boyu sadece Tunca ve Ha*Hd'de önemli düzeyde artmıştır (sırasıyla %14 ve %16). Bitki boyu S'de C_S'ye göre Tarsan-1018 (%23), Şems (%12), Kaan (%17) ve Ha*Hd'de (%17); R'de ise C_R'ye göre Tarsan-1018 (%14), Tunca (%15), Ha*Ha (%14) ve Ha*Hd'de (%21) istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır. R'de ise S'ye göre bitki boyu sırasıyla %20 ve %23 oranları ile Tarsan-1018 ve Kaan çeşitlerinde önemli düzeyde artış göstermiştir.

C grubunda bitki boyu açısından Ha*Ha ve Ha*Hd ile diğer genotipler arasındaki farklar ile, Tarsan-1018, Şems, Kaan ve Tunca çeşitlerinde de birbirlerine göre farklılıkların önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. C_S ve C_R'de Kaan ve Tunca ile diğer genotipler arasındaki farklar ve Tarsan-1018, Şems, Ha*Ha ve Ha*Hd genotiplerinde de birbirlerine göre farklılıkların önemli olduğu belirlenmiştir. S'de Tarsan-1018, Kaan ve Tunca ile diğer genotipler arasındaki farklılıklar ile Şems, Ha*Ha ve Ha*Hd'nin birbirlerine göre farklarının önemli olduğu saptanmıştır. Ayrıca R'de Ha*Ha ve Ha*Hd ile diğer



Şekil 4.9. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde bitki boyu değişimi

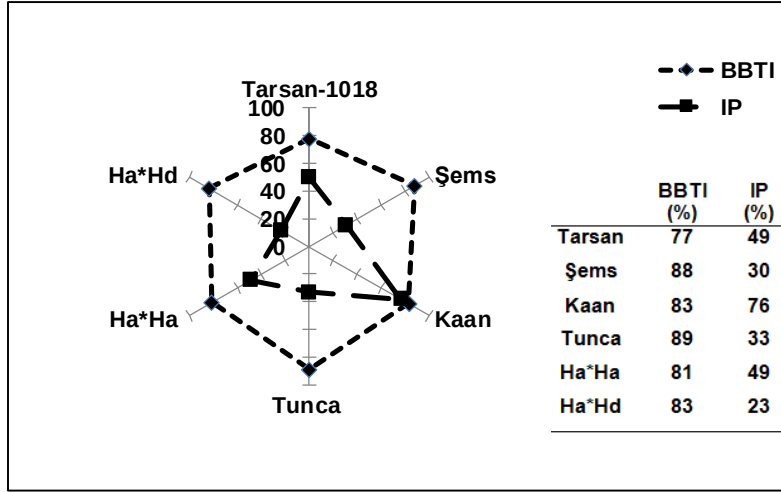
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

genotipler arasındaki farklar, Tarsan-1018 ile Kaan ve Şems ile Tunca çeşitleri arasındaki farklar ve Şems ile Tunca arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir.

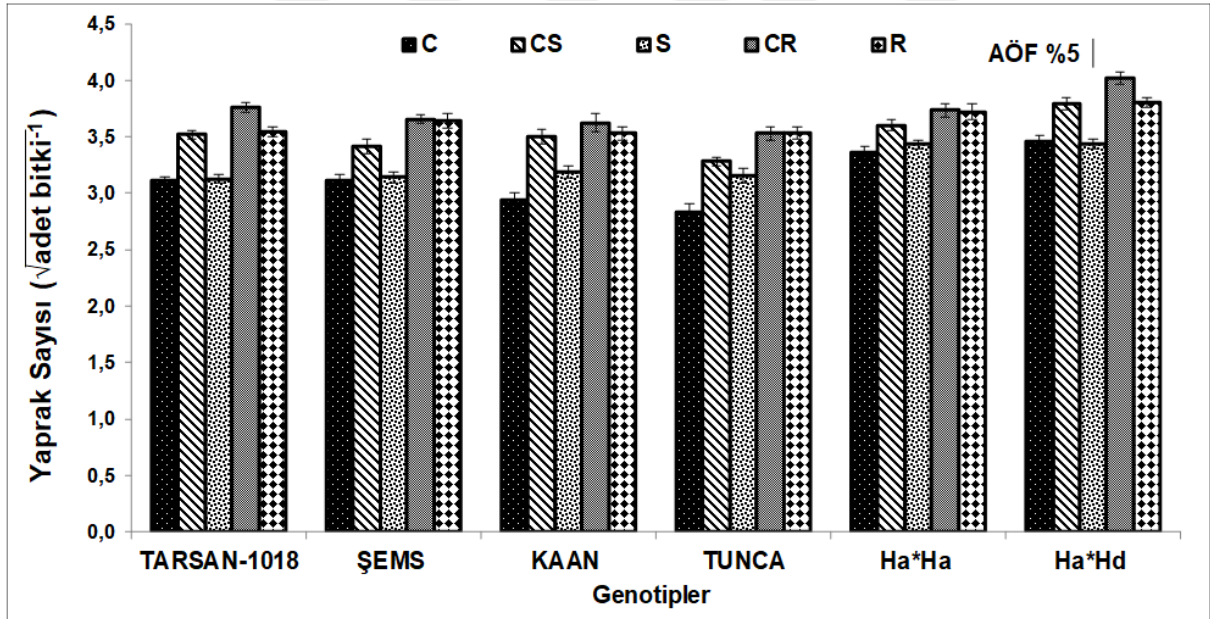
Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında genotiplerin bitki boylarındaki değişimleri belirlemek için hesaplanan parametrelere bakıldığında en yüksekten en düşüğe doğru bitki boyu tolerans indekslerinin (BBTİ); Tunca, Şems, Kaan, Ha*Hd, Ha*Ha ve Tarsan-1018'de; iyileşme potansiyellerinin ise Kaan, Tarsan-1018, Ha*Ha, Tunca, Şems ve Ha*Hd'de olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

4.2.1.2. Yaprak Sayısı

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında genotiplerin yaprak sayısı incelendiğinde (Şekil 4.11) C_S'de C'ye göre Tarsan-1018 (%13), Kaan (%19), Tunca (%16) ve Ha*Hd'de (%10); C_R'de C'ye göre tüm genotiplerde (%11'den fazla) yaprak sayısı önemli düzeyde artmıştır. C_R'de C_S'ye göre ise Şems ve Ha*Ha'da önemli düzeyde artmıştır. S'de C_S'ye göre yaprak sayısının Tarsan-1018 (%11), Kaan (%9) ve Ha*Hd (%9) genotiplerindeki azalışı önemli iken; R'de C_R'ye göre yaprak sayısında önemli bir değişim belirlenmemiştir. Ayrıca R'de yaprak sayısı S'ye göre tüm genotiplerde önemli düzeyde artmış ve en fazla artış %16 ile Şems'de belirlenmiştir.



Şekil 4. 10. Ayçiçeğinde bitki boyu tolerans indeksleri ile iyileşme potansiyelleri. Genotiplerin yaprak sayısındaki farklılık incelendiğinde (Şekil 4.11); Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri ile diğer çeşitler arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca C_S'de Ha*Hd ve Ha*Hd genotipleri ile Tunca çeşidi arasındaki fark; C_R'de ise yalnızca Ha*Hd ile diğer tüm genotiplere arasındaki fark önemlidir. S ve R'de yaprak sayısının çeşitler arasındaki farkın istatistiksel yönden anlamlı olmadığı saptanmıştır.

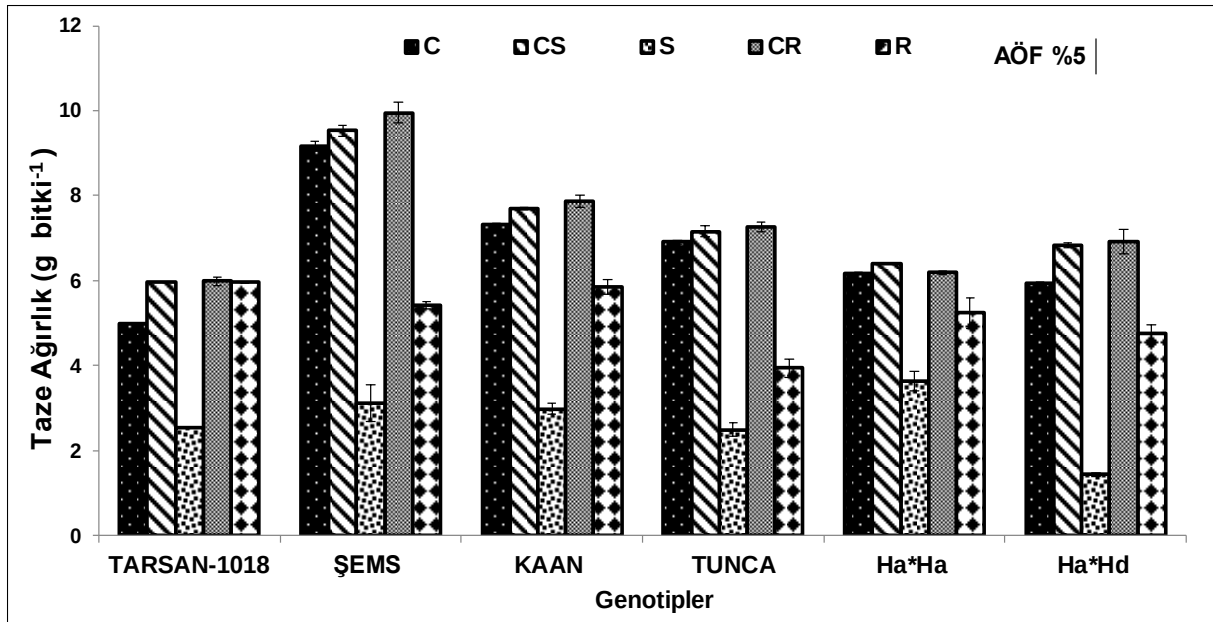


Şekil 4.11. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde yaprak sayısı değişimi

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.1.3. Taze Ağırlık, Tolerans İndeksi ve İyileşme Potansiyelleri

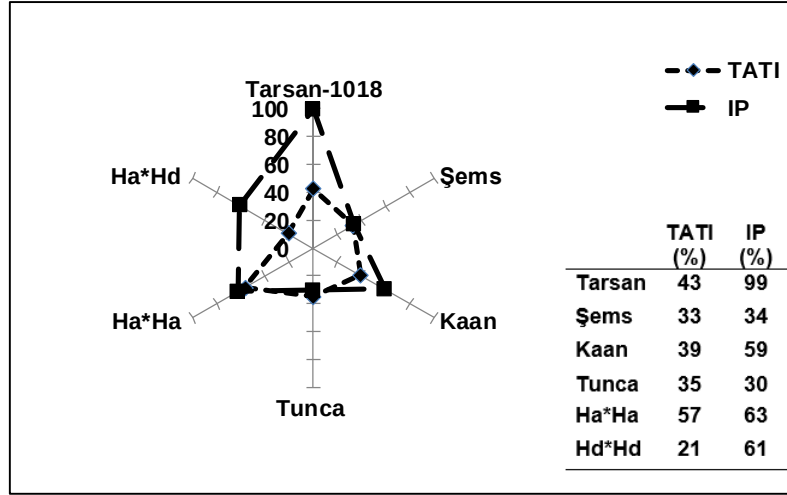
Kuraklık ve iyileşme uygulamalarının genotiplerin taze ağırlık üzerine etkisini incelendiğinde (Şekil 4.12); kontrol grupları (C, C_S ve C_R) arasında sadece C_S'de C'ye ve C_R'de C'ye göre Tarsan-1018 ve Ha*Hd'de önemli düzeyde artış tespit edilmiştir. S'de C_S'ye göre taze ağırlık tüm genotiplerde önemli düzeyde azalmış ve en fazla en fazla azalışlar, %67 oranıyla Şems ve %79 oranla Ha*Hd'de belirlenmiştir. R'de ise C_R'ye göre taze ağırlık Tarsan-1018 hariç diğer çeşitlerde önemli düzeyde azalmış ve en fazla azalışlar %56 oranıyla Şems ve Tunca'da belirlenmiştir. R'de S'ye göre tüm çeşitlerde taze ağırlık önemli düzeyde artmış olup, en fazla artışlar Tarsan-1018 (1,3 kat) ve Ha*Hd'de (2,3 kat) saptanmıştır.



Şekil 4.12. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde taze ağırlık değişimi

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

Taze ağırlık değerlerindeki farklılıklar kontrol gruplarına (C, C_S ve C_R) göre incelendiğinde (Şekil 4.12); kontrol gruplarında Tarsan-1018 ve Şems'in hem birbirlerinden hem de diğer genotiplerden farkları; Kaan ile Ha*Ha ve Ha*Hd arasındaki farklar ile Tunca ile Ha*Hd arasındaki farklar önemlidir. S uygulamasında Tarsan-1018 ile Ha*Ha ve Ha*Hd arasındaki farklar; Ha*Hd ile Şems, Kaan, Tunca ve Ha*Ha arasındaki farklar önemlidir. Ayrıca R'de sadece Tarsan-1018 ile Tunca ve Ha*Hd arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir.

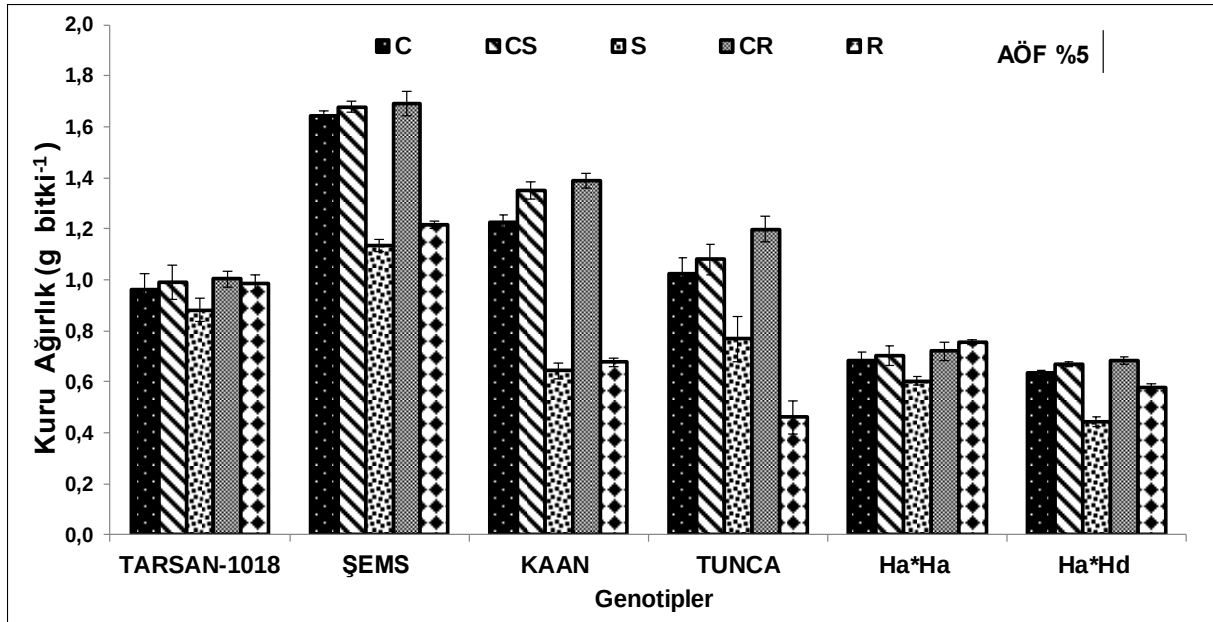


Şekil 4.13. Ayçiçeğinde taze ağırlık tolerans indeksleri ile iyileşme potansiyelleri Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında genotiplerde taze ağırlığındaki değişimleri belirlemek için taze ağırlık tolerans indeksi (TATI-%) ve iyileşme potansiyelleri (IP-%) hesaplanmıştır (Şekil 4.13). TATI'ya göre en yüksek değer %57 ile Ha*Ha'da en düşük değer ise %21 ile Ha*Hd'de belirlenmiştir. Genotipler IP değerlerine göre en yüksekten en düşüğe doğru Tarsan-1018, Ha*Ha, Ha*Hd, Kaan, Şems ve Tunca şeklinde sıralanmıştır.

4.2.1.4. Kuru Ağırlık, Tolerans İndeksi ve İyileşme Potansiyelleri

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarının genotiplerin kuru ağırlığı üzerindeki etkisine bakıldığında (Şekil 4.14); kontrol grupları (C, C_S ve C_R) arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim belirlenmemiştir. Kuru ağırlık miktarı S'de C_S'ye göre Şems (%32), Kaan'da (%52), Tunca'da (%29) ve Ha*Hd'de (%44); R'de C_R'ye göre ise; Şems (%28), Kaan (%51) ve Tunca (%62) önemli düzeye azalmıştır. R'de S'ye göre de kuru ağırlık miktarı sadece Tunca'da (%40) önemli oranda azalmıştır.

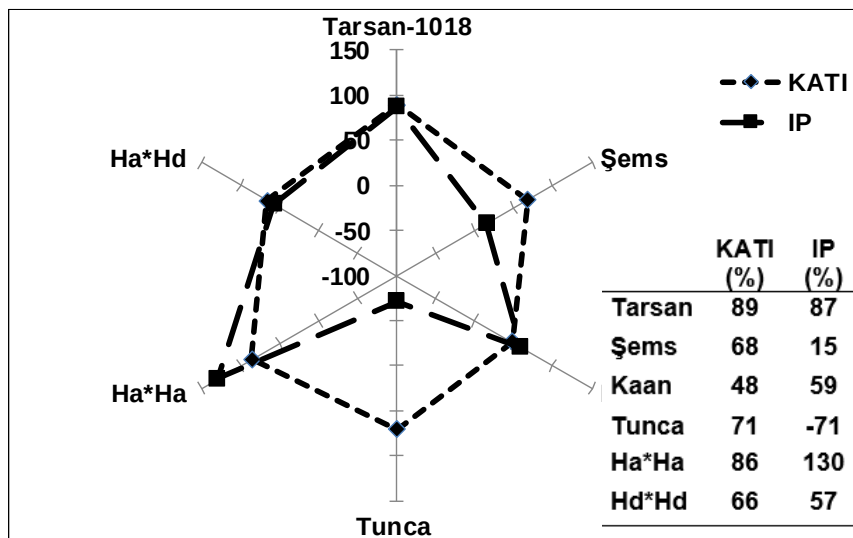
Genotiplerin kuru ağırlık değerlerindeki farklılıklar kontrol gruplarına (C, C_S ve C_R) göre incelendiğinde (Şekil 4.14); C'de, Şems ile diğer genotipler arasındaki farklar; Tarsan-1018 ile Ha*Ha ve Ha*Hd arasındaki farklar ve ayrıca Kaan ve Tunca ile Ha*Ha ve Ha*Hd arasındaki farklar önemlidir. C_S'de Tarsan-1018 ve Tunca ile diğer genotipler arasındaki farklar; Şems ve Kaan'ın hem birbirlerinden hem de Ha*Ha ve Ha*Hd arasındaki farkları önemlidir. C_R'de Tarsan-1018 ile Şems, Kaan, Ha*Hd ve Ha*Ha arasındaki farklar; Şems ile Kaan, Tunca, Ha*Hd ve Ha*Ha arasındaki farklar ve ayrıca Kaan ve Tunca ile Ha*Hd ve Ha*Ha arasındaki farkların anlamlı olduğu tespit edilmiştir. S'de ve R'de ise Tarsan-1018 ile Şems, Kaan, Ha*Hd ve Ha*Ha arasındaki farklar; Şems ile Kaan, Tunca, Ha*Hd ve Ha*Ha arasındaki farklar önemlidir.



Şekil 4.14. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde kuru ağırlık değişimi

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında genotiplerin kuru ağırlığındaki değişimleri belirlemek için kuru ağırlık tolerans indeksi (KATI-%) ve iyileşme potansiyelleri (IP-%) hesaplanmıştır (Şekil 4.15). KATI'ya göre genotiplere en yüksekten en düşüğe doğru Tarsan-1018, Ha*Ha, Tunca, Şems, Ha*Hd ve Kaan şeklinde sıralanırken; iyileşme potansiyellerinde en yüksek değer Ha*Ha'da en düşük değer ise Tunca'da belirlenmiştir.



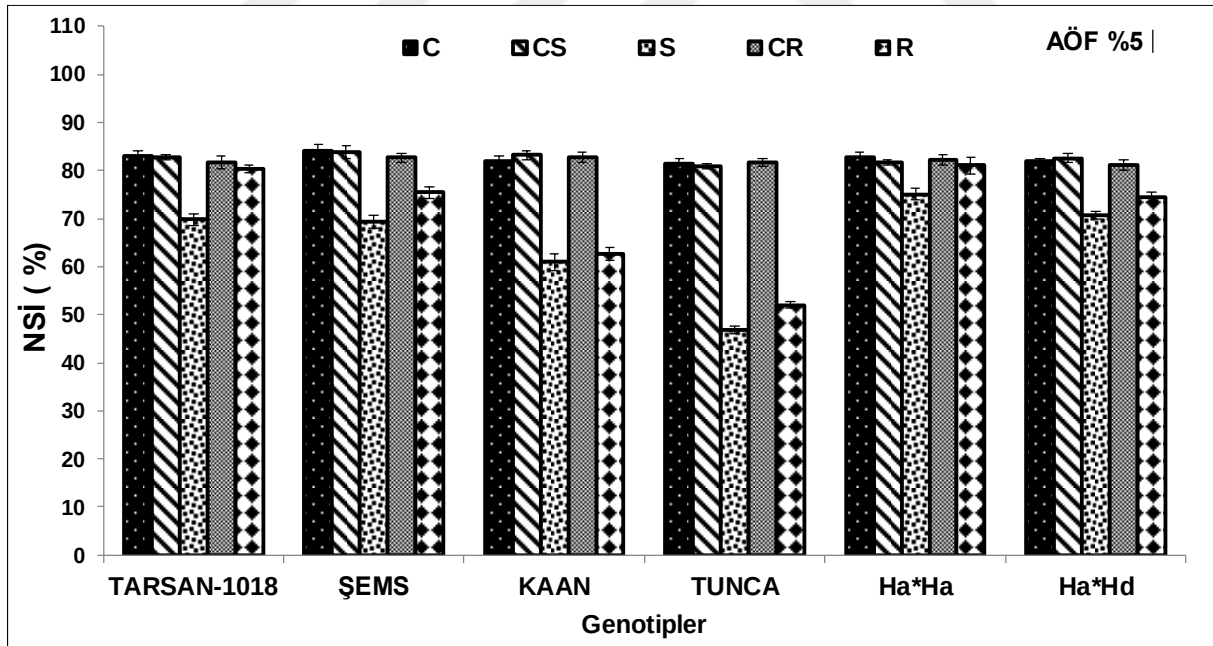
Şekil 4.15. Ayçiçeğinde kuru ağırlık tolerans indeksleri ile iyileşme potansiyelleri

4.2.2. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Fizyolojik Ölçümler

4.2.2.1. Yapraklardaki Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında genotiplerin yapraklarındaki nispi su içeriği (NSİ) incelendiğinde (Şekil 4.16); genotiplerin kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim belirlenmemiş olup tüm kontrollerde NSİ içeriği %80-83 arasında değişmiştir. S'de C_S'ye göre tüm genotiplerde nispi su içeriğinin önemli düzeyde azaldığı ve en fazla azalışların %27 ile Kaan ve %42 ile Tunca genotiplerinde olduğu saptanmıştır. R'de C_R'ye göre Şems, Kaan, Tunca ve Ha*Hd genotiplerinde önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. S ise R ile kıyaslandığında yalnızca Tarsan-1018 (%15), Şems (%9) ve Ha*Ha (%8) çeşitlerindeki nispi su içeriğinin artışı, istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.

Genotiplerin NSİ değerlerindeki farklılıklar kontrol gruplarına (C, C_S ve C_R) göre incelendiğinde (Şekil 4.16); genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. S ve R'de Kaan ve Tunca'nın hem birbirlerinden hem de diğer genotiplerden farkları önemli iken; R'de Ha*Ha'nın Ha*Hd'den farkları istatistiksel açıdan önemlidir.



Şekil 4.16. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yapraklarında nispi su içeriği

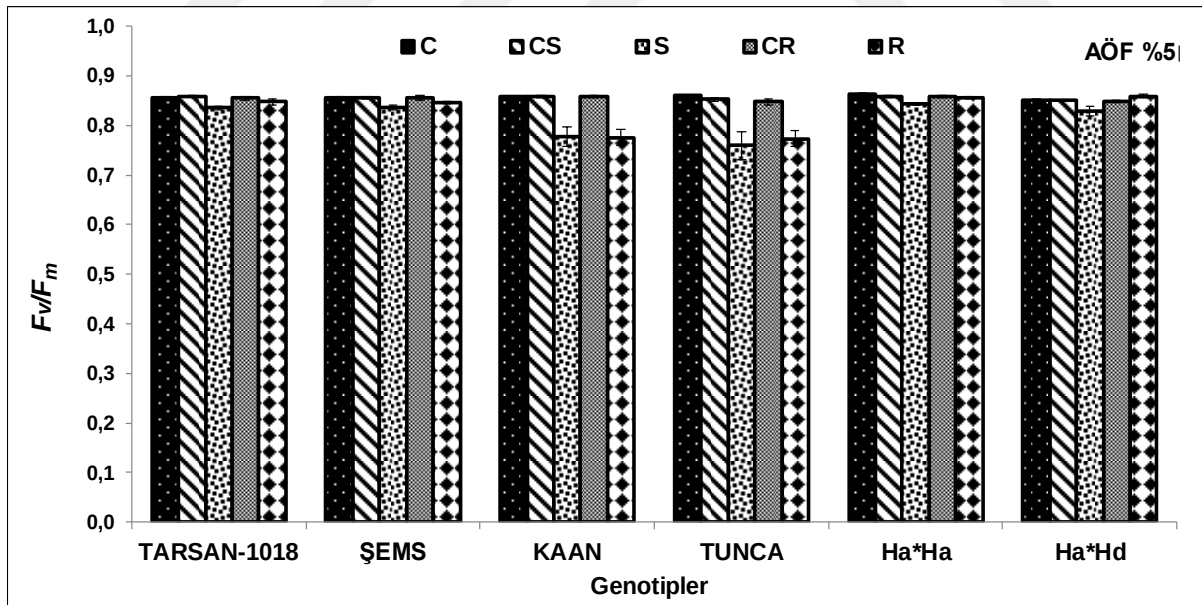
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.3. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Yapraklarda Fotokimyasal Etkinlik

4.2.3.1. PSII'nin Potansiyel Fotokimyasal Etkinliği (F_v/F_m)

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarında karanlığa adapte edilmiş yapraklarındaki PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği (F_v/F_m) üzerine etkileri incelendiğinde (Şekil 4.17); genotiplerin F_v/F_m değerlerinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim belirlenmemiştir. F_v/F_m değerleri hem kuraklık (S) hem de iyileşme (R) uygulamalarında kendi kontrollerine ($C_S - C_R$) göre Kaan (S'de C_S 'ye göre %9 ve R'de C_R 'ye göre %10) ve Tunca (S'de C_S 'ye göre %11 ve R'de C_R 'ye göre %9) çeşitlerinde önemli düzeyde azalmıştır. İyileşme grubu bitkilerinde (R) ise stres grubu bitkilerine (S) göre tüm genotiplerde F_v/F_m değerlerindeki değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Kuraklık uygulamasının başlatıldığı kontrol grupları (C) ile kuraklık (C_S) ve iyileşme (C_R) uygulamalara ait kontrol gruplarında genotiplerin F_v/F_m değerlerindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.17); genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca S ve R gruplarında, Kaan ve Tunca çeşitleri ile diğer genotipler arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir.



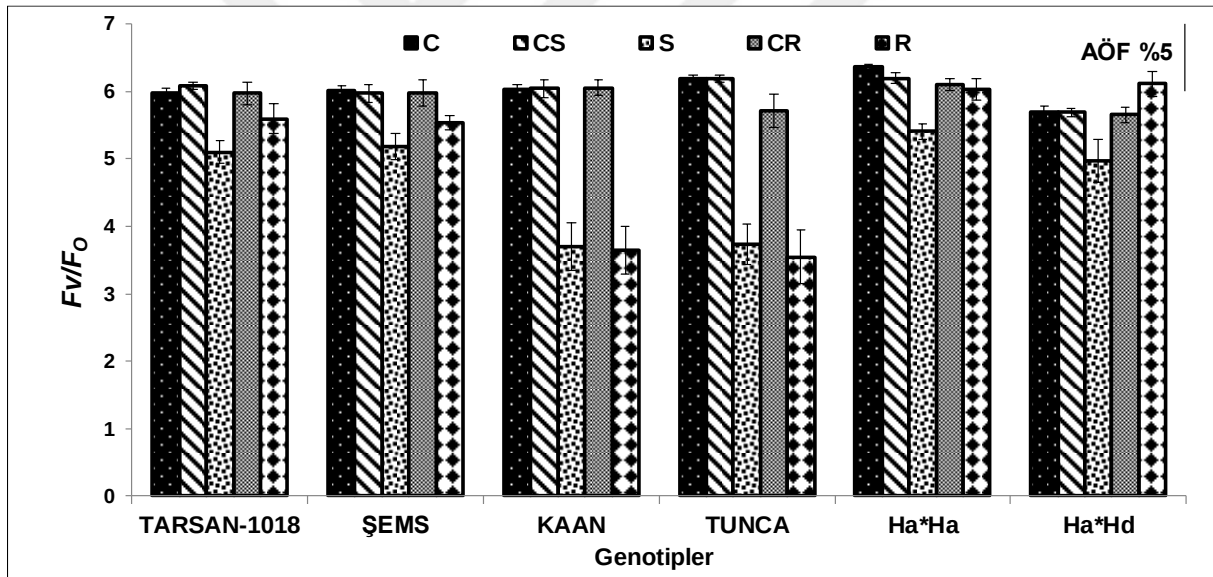
Şekil 4.17. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği (F_v/F_m)

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S : Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R : R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.3.2. PSII'de O₂ Oluşturan Kompleksin Etkinliği (F_v/F_0)

Genotiplerin F_v/F_0 değerlerinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir (Şekil 4.18). S'de C_S'ye göre ve R'de C_R'ye göre F_v/F_0 değerlerindeki azalışlar yalnızca Kaan (sırasıyla %39 ve %40) ve Tunca (sırasıyla %40 ve %38) çeşitleri için önemli iken, diğer genotiplerde meydana gelen azalışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Benzer şekilde, iyileşme grubu bitkilerinde (R) stres grubu bitkilerine (S) göre F_v/F_0 değerlerinde yalnızca bu iki genotipte azalma diğer genotiplerde ise artışlar görülürken, bunlardan yalnızca Ha*Hd'deki artış (%23) istatistiksel olarak önemlidir.

Kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin F_v/F_0 değerlerindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.18); genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca S ve R uygulamalarında Kaan ve Tunca çeşitleri ile diğer genotipler arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.18. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde PSII'de O₂ oluşturan kompleksinin etkinliği (F_v/F_0)

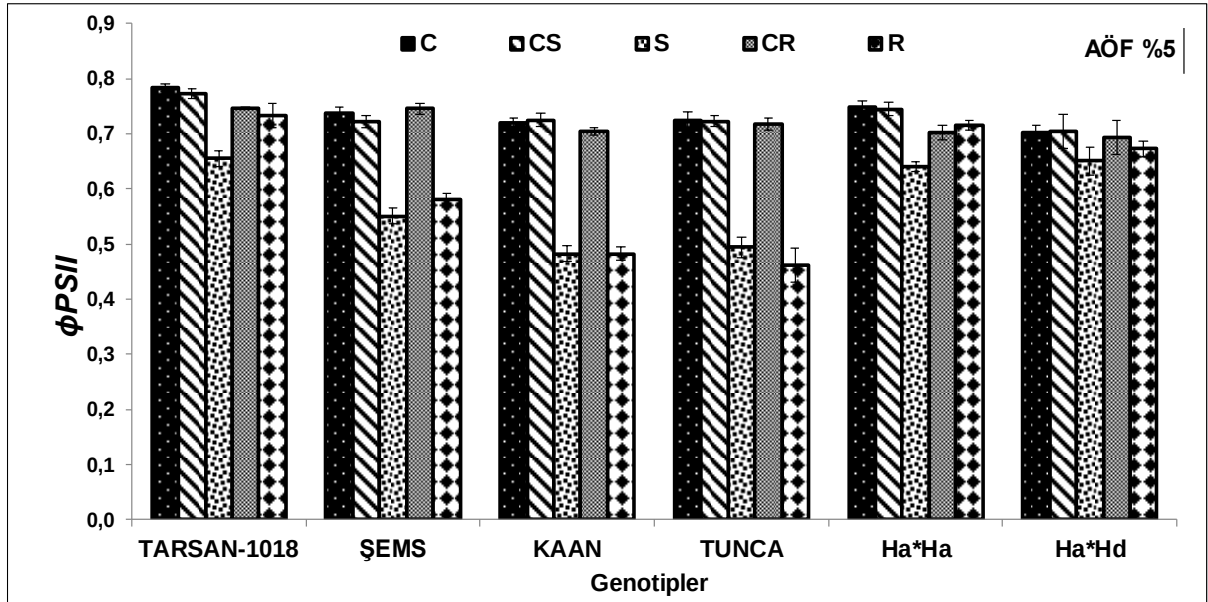
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.3.3. PSII'nin Gerçek Fotokimyasal Etkinlik (Φ_{PSII})

Genotiplerin Φ_{PSII} değerlerinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim belirlenmemiştir (Şekil 4.19). S'de kendi kontrol grubuna (C_S) göre Φ_{PSII} değerlerindeki; Tarsan-1018 (%15), Şems (%24), Kaan (%33), Tunca

(%32) ve Ha*Ha'daki (%14) azalışların istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. R'de kendi kontrol grubuna (C_R) göre ise $\Phi PSII$ değerleri Şems, Kaan ve Tunca çeşitlerinde (sırasıyla %22, %32 ve %36) önemli düzeyde azalmıştır. Ayrıca $\Phi PSII$ değerlerinde R'de S'ye göre tüm genotiplerde meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemsizdir.

Kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) genotiplerin $\Phi PSII$ değerlerindeki farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.19). S'de Tarsan-1018, Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri ile diğer çeşitler arasındaki farkların; R'de ise Şems ile diğer genotipler arasındaki ve ayrıca Tarsan-1018, Ha*Ha ve Ha*Hd ile Kaan ve Tunca çeşitleri ile arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir.



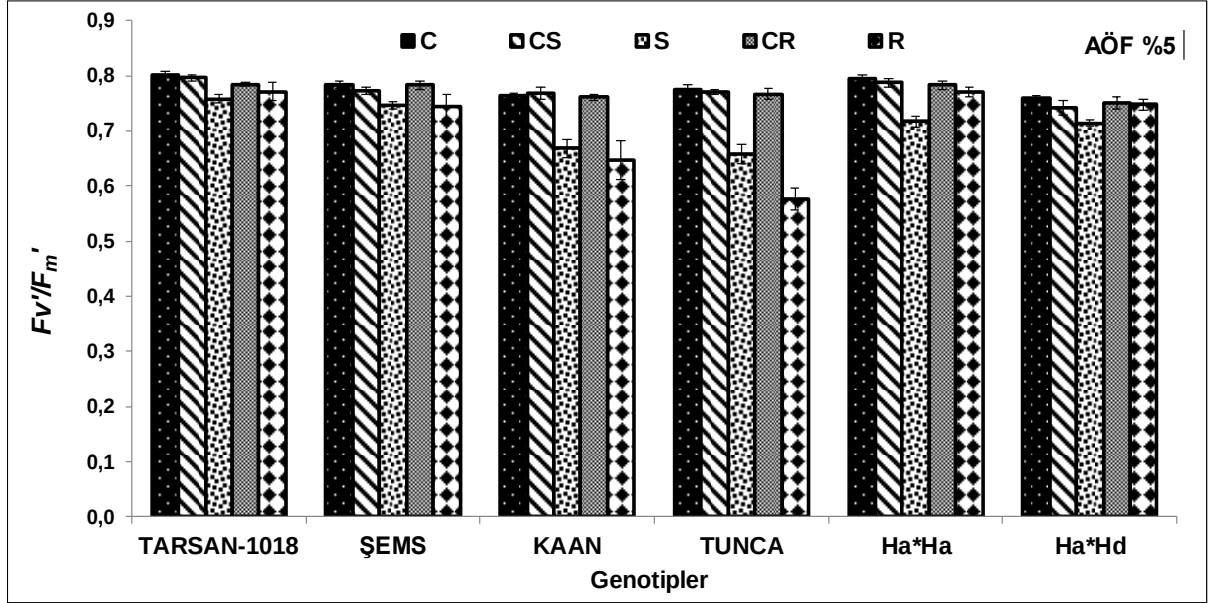
Şekil 4.19. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliği ($\Phi PSII$)

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S : Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R : R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.3.4. PSII'nin Enerji Yakalama Etkinliği (F_V'/F_M')

Genotiplerin F_V'/F_M' değerlerinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim tespit edilmemiştir (Şekil 4.20). F_V'/F_M' değerleri S'de C_S 'ye göre Kaan (%13), Tunca (%15) ve Ha*Ha (%9)'da; R'de C_R 'ye göre de Kaan (%15) ve Tunca'da (%25) önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte R'de S'ye göre ise F_V'/F_M' değerlerinin sadece Tunca'da %13 oranında istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır.

Kuraklık uygulamasının başlatıldığı kontrol grupları (C) ile kuraklık (C_S) ve iyileşme (C_R) uygulamalara ait kontrol gruplarında genotiplerin F_V'/F_M' değerlerindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.20); genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca S'de Kaan ve Tunca ile Tarsan-1018 ve Şems arasındaki; R'de ise Kaan ile hem Tunca hem de ayrıca diğer dört genotip arasındaki farklılıkların önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.20. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde PSII'nin enerji yakalama etkinliği (F_V'/F_M')

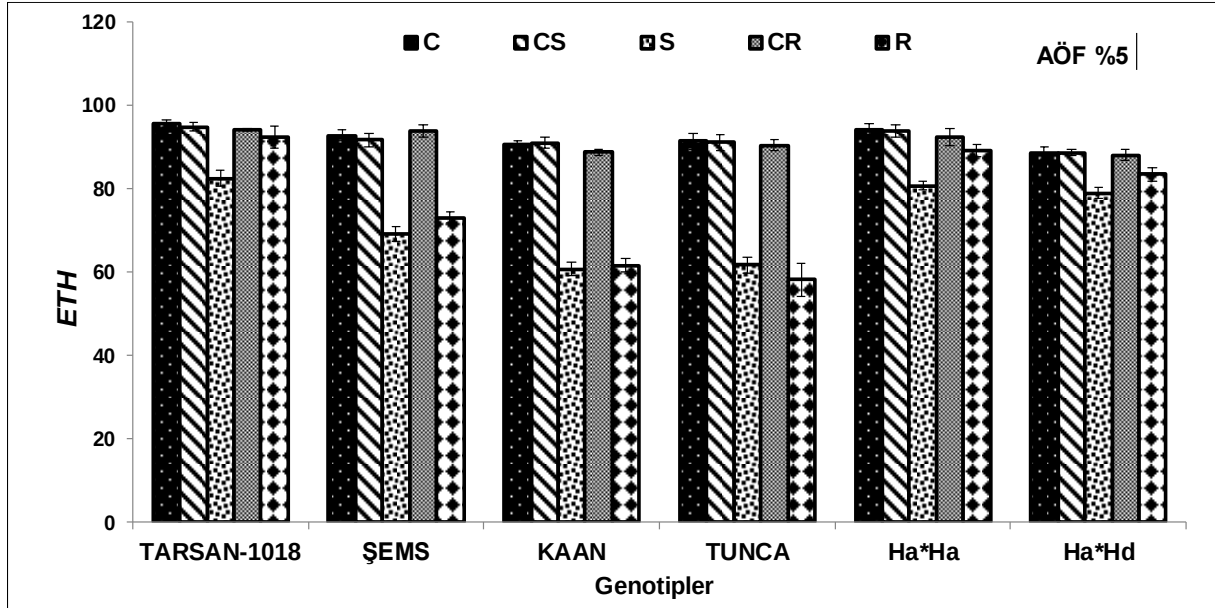
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S : Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R : R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.3.5. Elektron Taşıma Hızı (ETH)

Genotiplerin ETH değerlerinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim tespit edilmemiştir (Şekil 4.21). ETH değerleri S'de C_S 'ye göre tüm genotiplerde önemli düzeyde azalış göstermiş olup bu azalışların Tarsan-1018'da %13, Şems'de %24, Kaan'da %33, Tunca'da %32 ve Ha*Ha'da %14 ve Ha*Hd'de %11 oranında olduğu belirlenmiştir. R'de ise C_R 'ye göre Şems (%22), Kaan (%31) ve Tunca'daki (%36) azalışlar istatistiksel olarak önemlidir. R'de S'ye göre ETH değerlerinin yalnızca Tarsan-1018 çeşidinde (%12) istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı saptanmıştır.

Kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin ETH değerlerindeki farklılıkların önemli düzeyde olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.21). S'de Tarsan-1018, Ha*Ha ve Ha*Hd

genotipleri ile diğer çeşitler arasındaki farkların; R'de ise Tarsan-1018, Ha*Ha ve Ha*Hd ile diğer genotipler ve Şems ile Kaan ve Tunca çeşitleri arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu saptanmıştır.



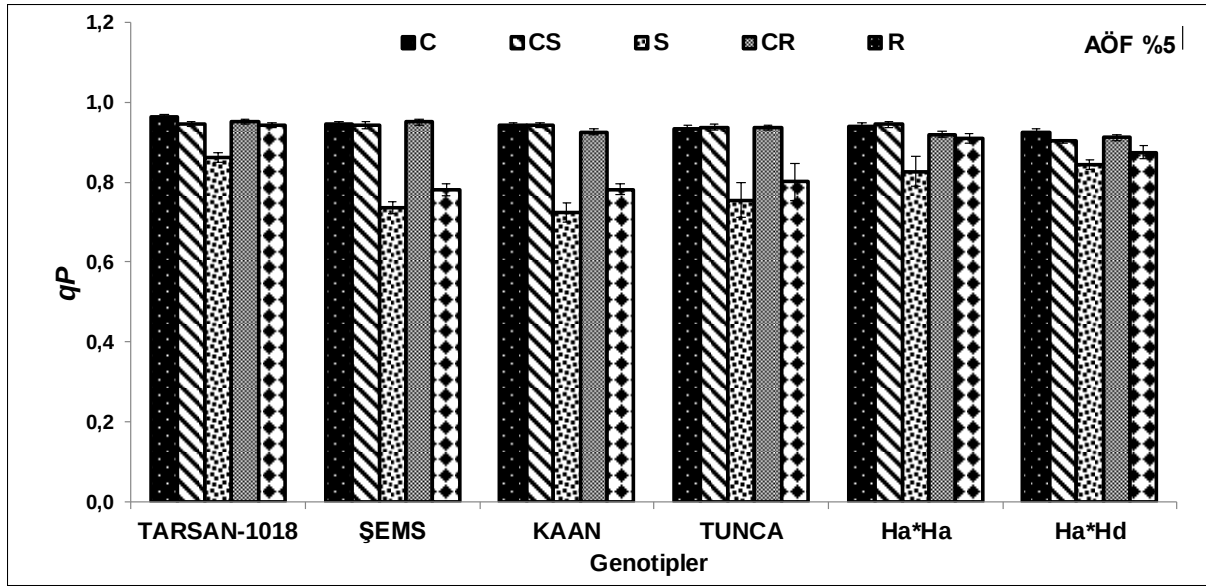
Şekil 4.21. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde elektron taşıma hızı (ETH)

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.3.6. Işık Enerjisinin Fotokimyasal Kullanımı (*qP*)

Genotiplerin *qP* değerlerinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim tespit edilmemiştir (Şekil 4.22). S'de C_S'ye göre *qP* değerlerinin Tarsan-1018 (%9), Şems (%22), Kaan (%23), Ha*Ha (%19) ve Ha*Hd'de (%13) önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. R'de ise C_R'ye göre Şems (%18), Kaan (%16) ve Tunca (%14) çeşitlerinde *qP* değerleri önemli düzeyde azalış göstermiştir. Ayrıca R'de S'ye göre Tarsan-1018 (%9) ve Ha*Ha (%10) genotiplerindeki artışların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

Kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin *qP* değerlerindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.22); genotipler arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Hem S'de hem de R'de Şems, Kaan ve Tunca ile diğer çeşitler arasındaki farkın önemli olduğu saptanmıştır.



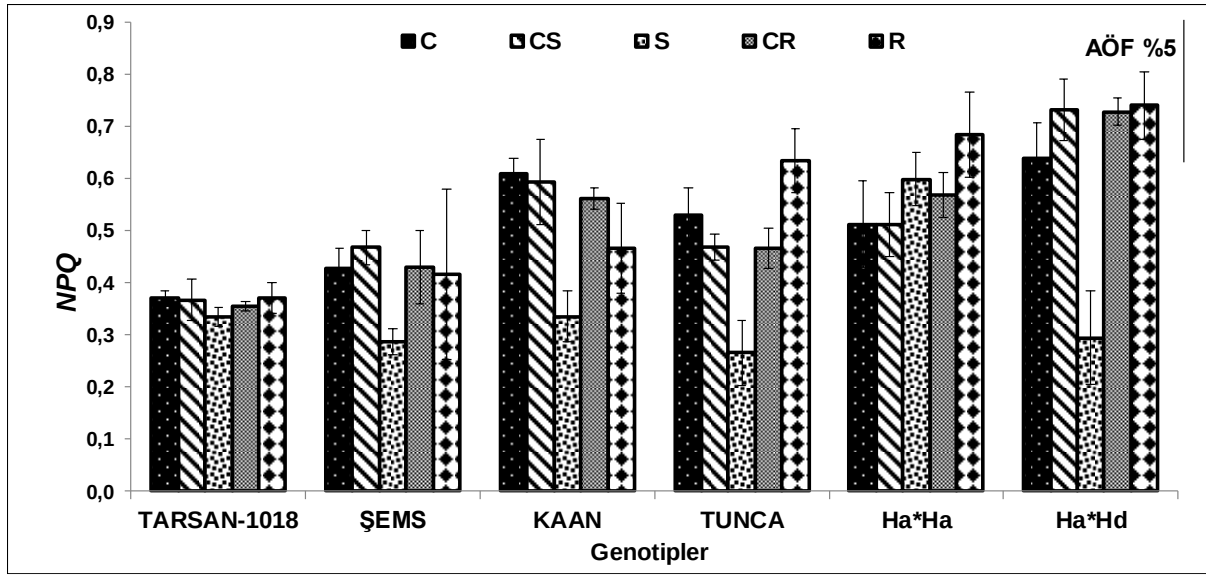
Şekil 4.22. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde ışık enerjisinin fotokimyasal kullanımı (qP)

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S : Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R : R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.3.7. Işık Enerjisinin Fotokimyasal Olmayan Kullanımı (NPQ)

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarının yapraklarındaki ışık enerjisinin fotokimyasal olmayan kullanımı (NPQ) üzerine etkileri incelendiğinde (Şekil 4.23); genotiplerin NPQ değerlerinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim olmadığı belirlenmiştir. S'de C_S 'ye göre yalnızca Ha*Hd genotipindeki azalış (%60) istatistiksel olarak önemli iken; R'de C_R 'ye göre NPQ değerlerindeki değişimler önemli bulunmamıştır. R'de ise S'ye göre NPQ değerleri tüm genotiplerde genel olarak artış göstermiş olup yalnızca Tunca (1,4 kat) ve Ha*Hd'deki (1,5 kat) artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

NPQ değerleri açısından kuraklık uygulamasının başlatıldığı kontrol gruplarında (C) genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmazken (Şekil 4.23); C_S ve C_R uygulamaları ile R grubunda, Tarsan-1018 ile Ha*Hd arasındaki farklar; S'de ise Tunca çeşidi ile Ha*Ha genotipi arasındaki farkların önemli olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.23. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinde ışık enerjisinin fotokimyasal olmayan kullanımı (NPQ)

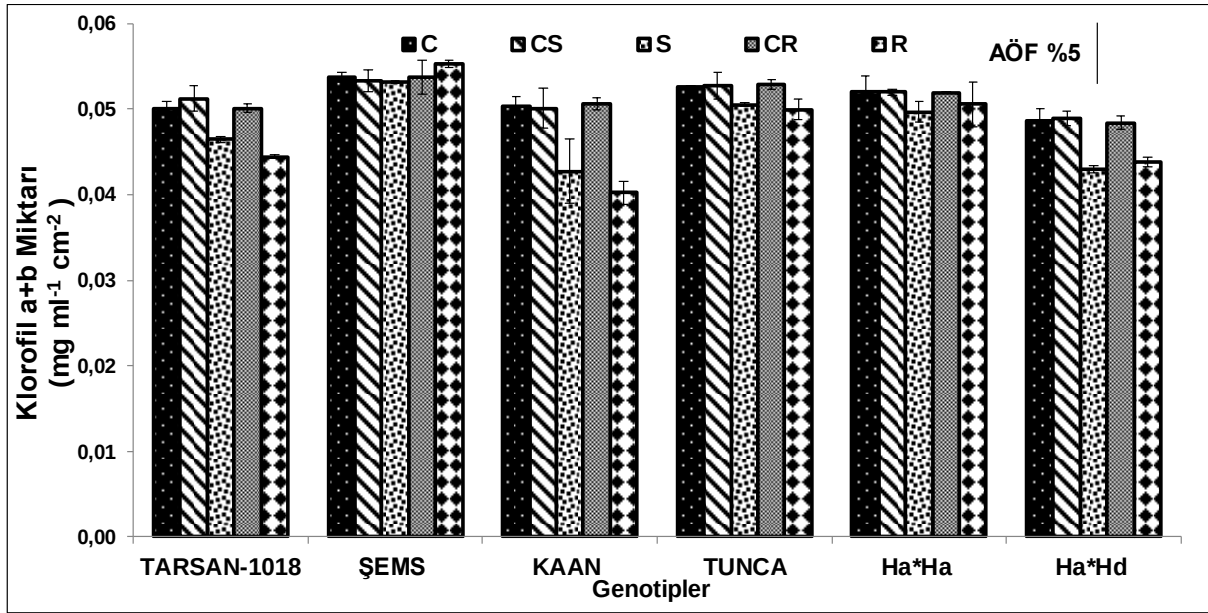
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.4. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Biyokimyasal Ölçümler

4.2.4.1. Yaprak Dokularındaki Toplam Klorofil Miktarı

Genotiplerde kuraklık ve iyileşme uygulamalarının yaprak dokularındaki toplam klorofil miktarı üzerine etkisi incelendiğinde (Şekil 4.24); kontrol grupları (C, C_S ve C_R) arasında zamana bağlı olarak değişimlerin önemli olmadığı belirlenmiştir. S'de C_S'ye ve R'de C_R'ye göre sadece Kaan'daki azalışların önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla %15 ve %20). R'de ise S'ye göre tüm genotiplerde toplam klorofil miktarındaki değişimlerin önemli olmadığı belirlenmiştir.

Kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin klorofil içeriğindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.24); genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca S'de Kaan ve Ha*Hd ile Şems ve Tunca arasındaki farklılıklar ile R'de Kaan ile Şems, Tunca ve Ha*Ha arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır.



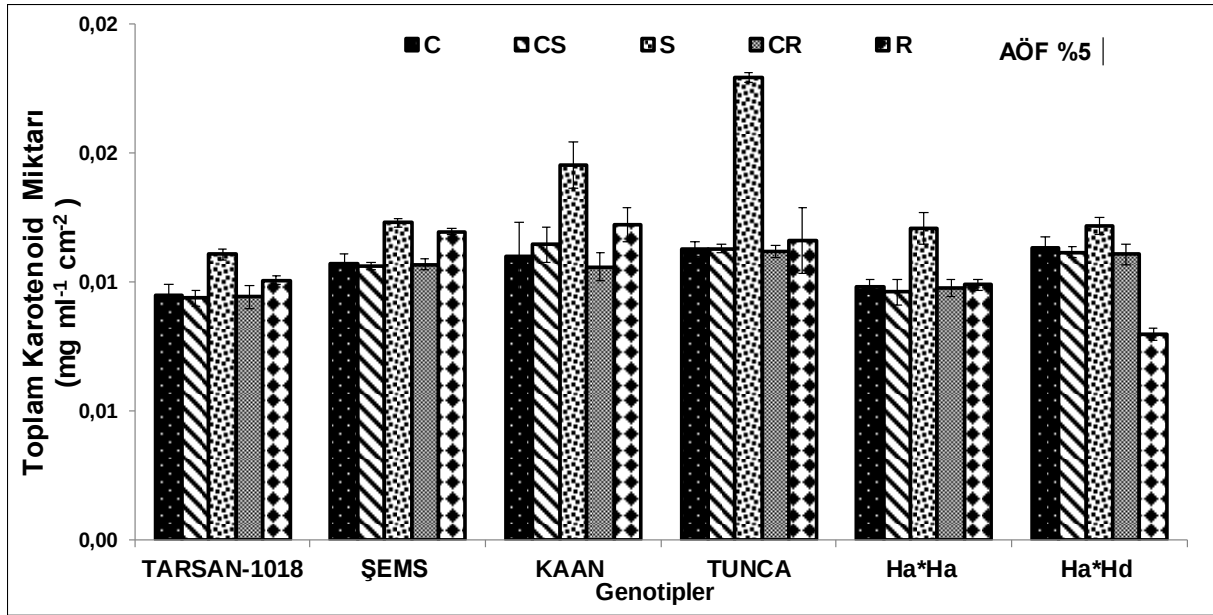
Şekil 4.24. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yapraklarındaki toplam klorofil miktarı

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.4.2.Yaprak Dokularındaki Toplam Karotenoid Miktarı

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarının genotiplerin yaprak dokularındaki toplam karotenoid miktarı üzerine etkisine bakıldığında (Şekil 4.25); genotiplerde kontrol grupları (C, C_S ve C_R) arasında zamana bağlı olarak meydana gelen değişimlerin önemli olmadığı görülmektedir. S'de C_S'ye göre toplam karotenoid miktarı Kaan (%27) ve Tunca'da (%59) önemli düzeyde artarken; R'de C_R'ye göre Ha*Hd'de (%28) anlamlı düzeyde azalmıştır. R'de S'ye göre ise toplam karotenoid miktarı %35 oranında Tunca ve Ha*Hd'de azalış göstermiştir.

Kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin karotenoid miktarındaki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.25); genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca S'de Tarsan-1018, Kaan ve Tunca'da birbirlerine göre; R'de ise Ha*Hd ile Kaan, Şems ve Tunca arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir.



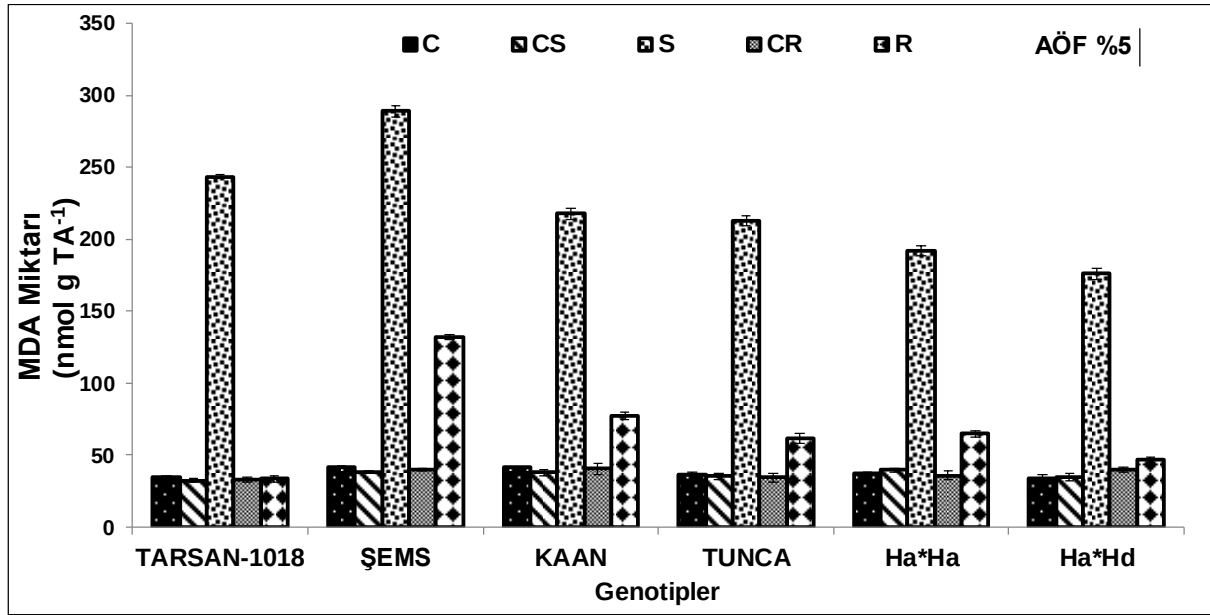
Şekil 4.25. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yapraklarındaki toplam karotenoid miktarı

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, CS: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, CR: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.4.3. Malondialdehit (MDA) Miktarı

Genotiplerin kontrol grupları arasında (C, CS ve CR) zamana bağlı olarak MDA miktarında önemli bir değişim belirlenmemiştir (Şekil 4.26). S'de CS'ye göre tüm genotiplerde, R'de ise CR'ye göre Tarsan-1018 ve Ha*Hd genotipleri hariç diğer genotiplerde MDA miktarı önemli düzeyde artmıştır. S'de CS'ye göre MDA miktarları Tarsan-1018 ve Şems'de 6,5 kat, Kaan'da 4,7 kat, Tunca'da 5 kat, Ha*Ha'da 3,8 kat ve Ha*Hd'de 4 kat artış gösterirken; R'de CR'ye göre Şems'de 2,3 kat, Kaan'da %90 Tunca ve Ha*Ha'da %80 oranında artış göstermiştir. S ile R ile kıyaslandığında, tüm genotiplerde MDA miktarı önemli düzeyde azalırken, en fazla azalış %86 ile Tarsan-1018 çeşidinde saptanmıştır.

Genotiplerde kontrol grupları içerisinde (C, CS ve CR) MDA miktarı açısından istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.26). S'de Kaan ve Tunca ile diğer genotipler; ayrıca Tarsan-1018, Şems, Ha*Ha ve Ha*Hd genotiplerinin ise birbirlerine göre farklılıkları istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Benzer şekilde R'de ise Tarsan-1018 ve Ha*Hd ile diğer genotipler; Şems ile Kaan, Tunca ve Ha*Ha arasındaki farklar ve Kaan ile Tunca arasındaki farkların önemli olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.26. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki MDA miktarı

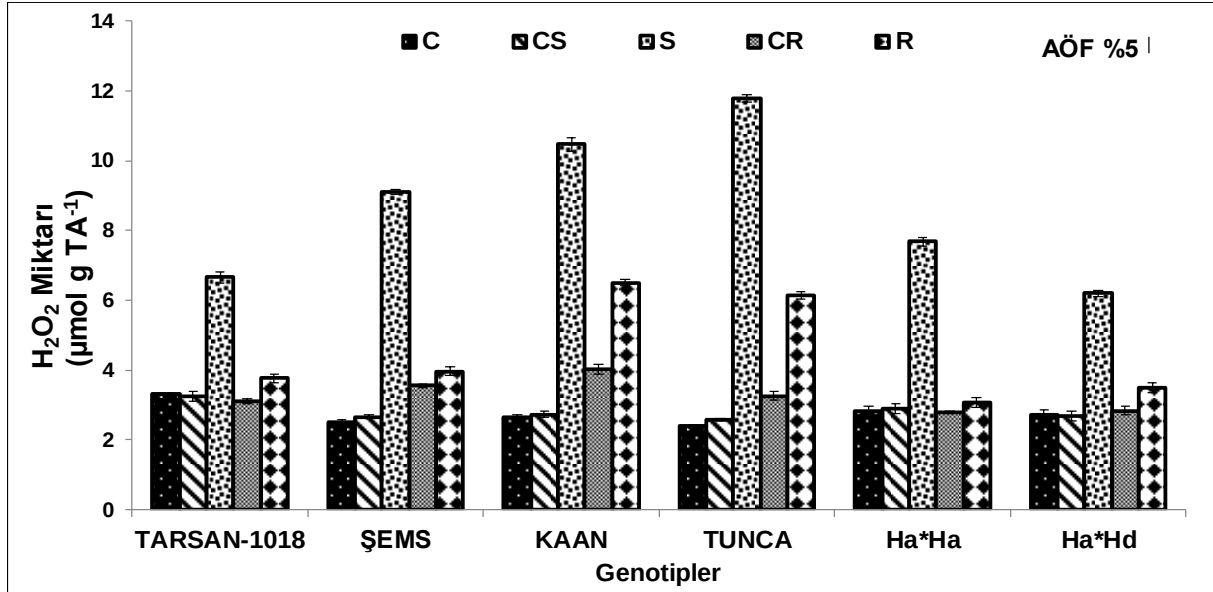
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.4.4. Hidrojen peroksit (H₂O₂) Miktarı

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarının yapraklardaki H₂O₂ miktarı incelendiğinde (Şekil 4.27); H₂O₂ miktarı C_R'de, C ve C_S'ye göre Şems (sırasıyla %41 ve %33), Kaan (%53 ve %47) ve Tunca (%37 ve %27) genotiplerinde önemli miktarda artmıştır. S'de C_S'ye ve R'de C_R'ye göre (Ha*Ha hariç) H₂O₂ miktarları tüm genotiplerde önemli düzeylerde artış göstermiştir. S'de C_S'ye göre H₂O₂ miktarlarındaki artışlar Tarsan-1018'da 1 kat, Şems'de 2,4 kat, Kaan'da 2,8 kat, Tunca'da 3,6 kat, Ha*Ha'da 1,6 kat ve Ha*Hd'de 1,3 kat iken; R'de C_R'ye göre artışlar %12 ile %88 arasında değişiklik göstermektedir. R'de ise S'ye göre H₂O₂ miktarı tüm genotiplerde; Tarsan-1018'de %44, Şems'de %56, Kaan'da %38, Tunca'da %48, Ha*Ha'da %60 ve Ha*Hd'de %44 azalış göstermiştir.

Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük kontrol grubu (C) bitkilerinde Tarsan-1018 çeşidi Şems, Kaan ve Tunca çeşitlerinden istatistiksel olarak önemli düzeyde farklıdır (Şekil 4.27); C_S bitkilerinde Tarsan-1018 çeşidinin yalnızca Tunca çeşidinden farklılık gösterdiği; C_R'de ise Kaan ile Tarsan-1018, Tunca, Ha*Ha ve Ha*Hd arasındaki farklar ve Şems ile Ha*Ha ile Ha*Hd arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir. S'de yalnızca Tarsan-1018 ve Ha*Hd genotipleri arasındaki fark önemsizken diğer tüm

genotiplerin birbirleri ile olan farkları istatistiksel yönden önemlidir. Ayrıca, R'de Kaan ve Tunca ile diğer genotipler arasındaki farklar ve Ha*Ha ile Tarsan-1018, Şems ve Ha*Hd arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.27. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki H₂O₂ miktarı

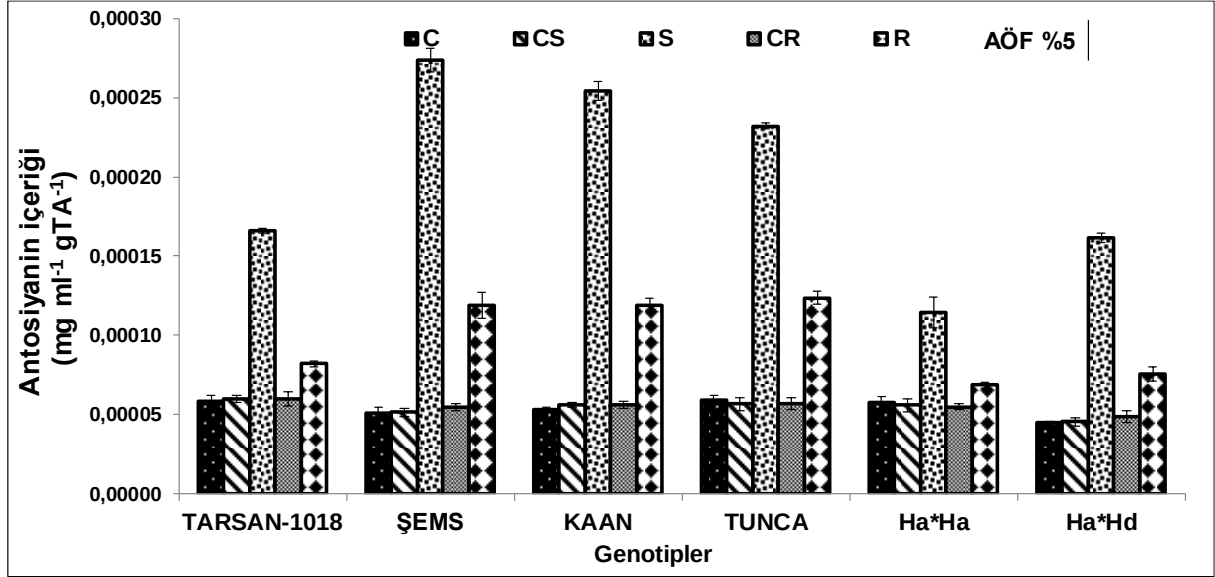
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.4.5. Antosiyanin İçeriği

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarının yapraklardaki antosiyanin içeriği incelendiğinde (Şekil 4.28); zamana bağlı olarak kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) önemli bir değişim tespit edilmemiştir. S'de C_S'ye göre antosiyanin içeriği tüm genotiplerde önemli düzeyde artmış ve en fazla artışlar; 4,3 kat ile Şems, 3,5 kat ile Kaan ve 3,1 kat ile Tunca genotiplerinde belirlenmiştir. R'de C_R'ye göre ise antosiyanin içeriği Tarsan-1018 ve Ha*Ha hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artarken, bu artışlar en fazla 1,3 kat ile Şems, 1,2 kat ile Kaan ve 1 kat ile Tunca genotiplerinde belirlenmiştir. R'de S'ye göre antosiyanin içeriği tüm genotiplerde %40'dan fazla azalmıştır.

Genotiplerin, kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) antosiyanin içeriği bakımından istatistiksel açıdan önemli farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 4.28). S'de Tarsan-1018 ve Ha*Hd genotipleri ile diğer genotipler; Şems ile Tunca ve Ha*Ha ve Ha*Ha ile Kaan ve Tunca arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. R'de Şems,

Kaan ve Tunca ile diğer genotipler arasındaki farkların istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır.

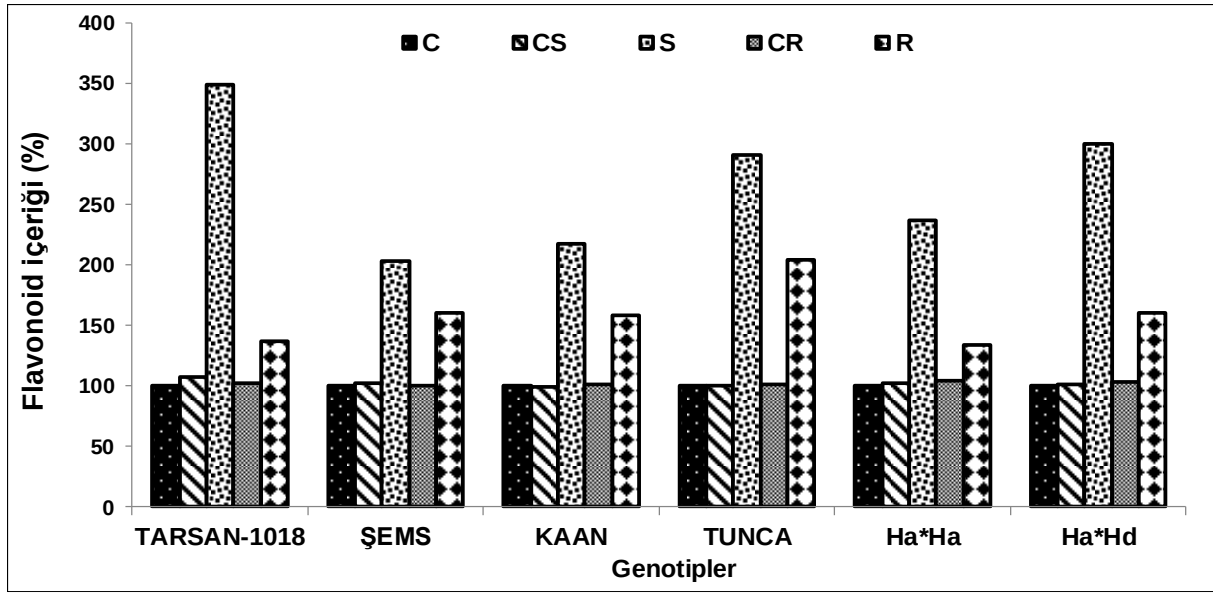


Şekil 4.28. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki antosiyenin içeriği

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.4.6. Flavonoid İçeriği

Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında genotiplerin flavonoid içeriği incelendiğinde (Şekil 4.29); genotiplerde flavonoid içeriğinin kontrol grupları (C, C_S ve C_R) arasında zamana bağlı olarak değişimleri önemli bulunmamıştır. S'de C_S'ye göre flavonoid içeriği Tarsan-1018'da %226, Şems'de %99, Kaan'da %118, Tunca'da %190, Ha*Ha'da %131 ve Ha*Hd'de %196 artış gösterirken; R'de C_R'ye göre Tarsan-1018'da %34, Şems'de %60, Kaan'da %56, Tunca'da %102, Ha*Ha'da %27 ve Ha*Hd'de %55 oranlarında artmıştır. R'de S'ye göre flavonoid içeriği tüm genotiplerde azalmış olup en fazla azalışın %61 ile Tarsan-1018'de en az azalışın ise %21 ile Şems çeşidinde olduğu tespit edilmiştir.



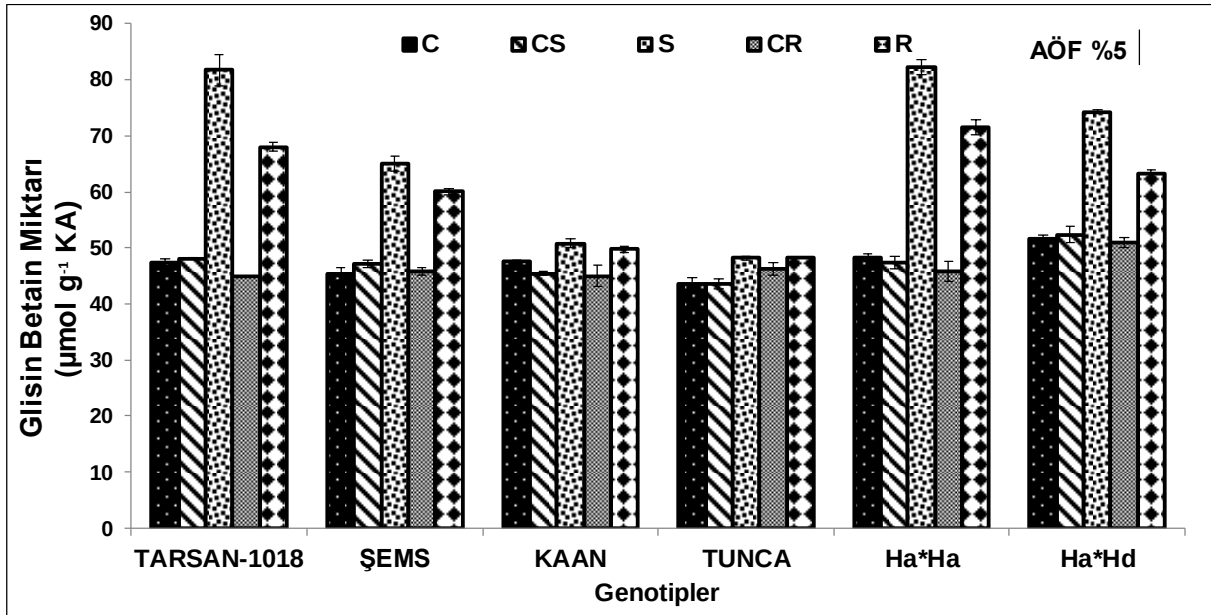
Şekil 4.29. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki flavonoid içeriği

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.4.7. Glisin Betain Miktarı

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarının yapraklardaki glisin betain miktarı incelendiğinde (Şekil 4.30); zamana bağlı olarak kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) önemli bir değişim tespit edilmemiştir. S'de C_S'ye ve R'de C_R'ye göre Tarsan-1018 (sırasıyla %70 ve %52), Şems (%38 ve %31), Ha*Ha (%74 ve %56) ve Ha*Hd'deki (%42 ve %24) artışlar önemli düzeyde bulunmuştur. R'de S'ye göre ise glisin betain miktarının Tarsan-1018 (%17), Ha*Ha (%13) ve Ha*Hd'deki (%15) azalışlarının önemli olduğu tespit edilmiştir.

Genotiplerin, kontrol grupları arasında glisin betain miktarı karşılaştırıldığında (Şekil 4.30); C'de Tunca ile diğer genotipler ve Şems ile Ha*Hd arasındaki farklar, C_S'de Tunca ile diğer genotipler ve Kaan ile Ha*Hd arasındaki farklar, C_R'de ise Tarsan-1018 ve Kaan ile Ha*Hd arasındaki farkların anlamlı olduğu belirlenmiştir. S'de Ha*Hd ile diğer genotipler, Ha*Ha ve Tarsan-1018 ile Şems, Kaan ve Tunca'nın ve Şems ile Kaan ve Tunca arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. R'de ise Ha*Ha ile Ha*Hd, Şems, Kaan ve Tunca; Kaan ve Tunca ile Ha*Hd, Tarsan-1018 ve Şems arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemlidir.



Şekil 4.30. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularındaki glisin betain miktarı

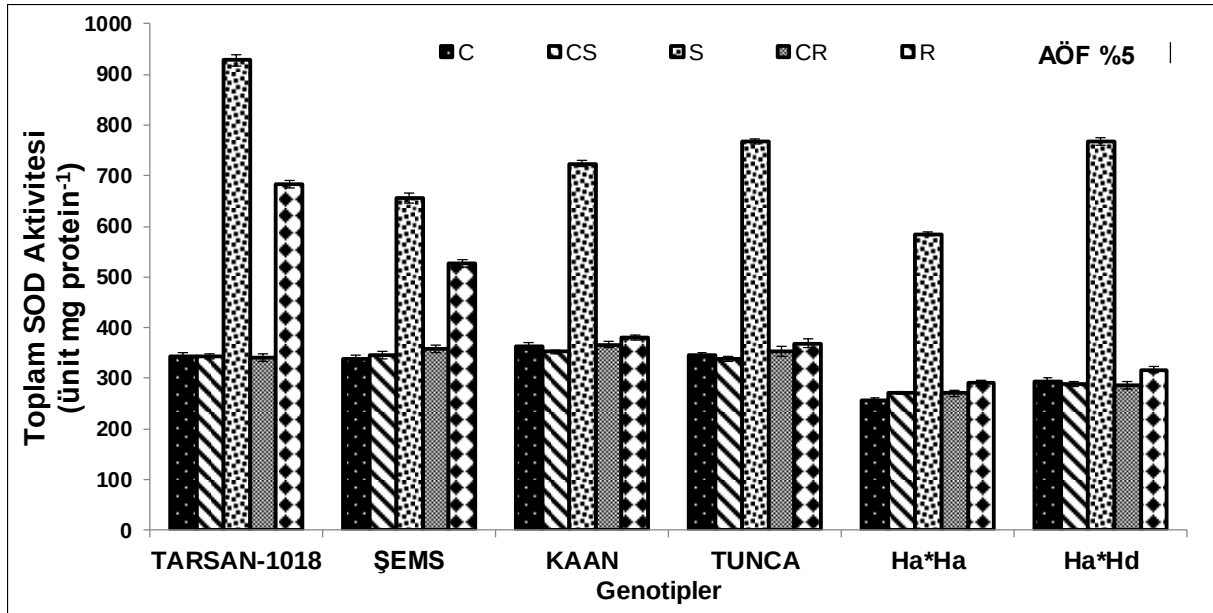
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

4.2.5. Kuraklık ve İyileşme Koşullarında Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri

4.2.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarının yapraklardaki toplam SOD enzim aktivitesi incelendiğinde (Şekil 4.31); genotiplerin toplam SOD enzim aktivitesinin zamana bağlı olarak kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) önemli bir değişim göstermediği tespit edilmiştir. S'de C_S'ye göre tüm genotiplerde; toplam SOD enzim aktivitesi önemli düzeyde artmıştır. En fazla artış 1,7 kat ile Tarsan-1018 çeşidinde belirlenirken, bu genotipi sırasıyla 1,6 kat ile Ha*Hd, 1,3 kat ile Tunca, 1,2 kat ile ve Ha*Ha, 1 kat ile Kaan ve 0,9 kat ile Şems takip etmektedir. R'de ise C_R'ye göre yalnızca Tarsan-1018 ve Şems çeşitlerindeki artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. R'de S'ye göre tüm genotiplerde toplam SOD enzim aktivitesinde azalışlar önemli olup azalışlar sırasıyla; Ha*Hd (%59), Tunca (%52), Ha*Ha (%50), Kaan (%48), Tarsan-1018 (%26) ve Şems (%20) olarak belirlenmiştir.

Kontrol grubu bitkilerinde (C, C_S ve C_R) Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri ile diğer genotipler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam SOD enzim aktivitesi

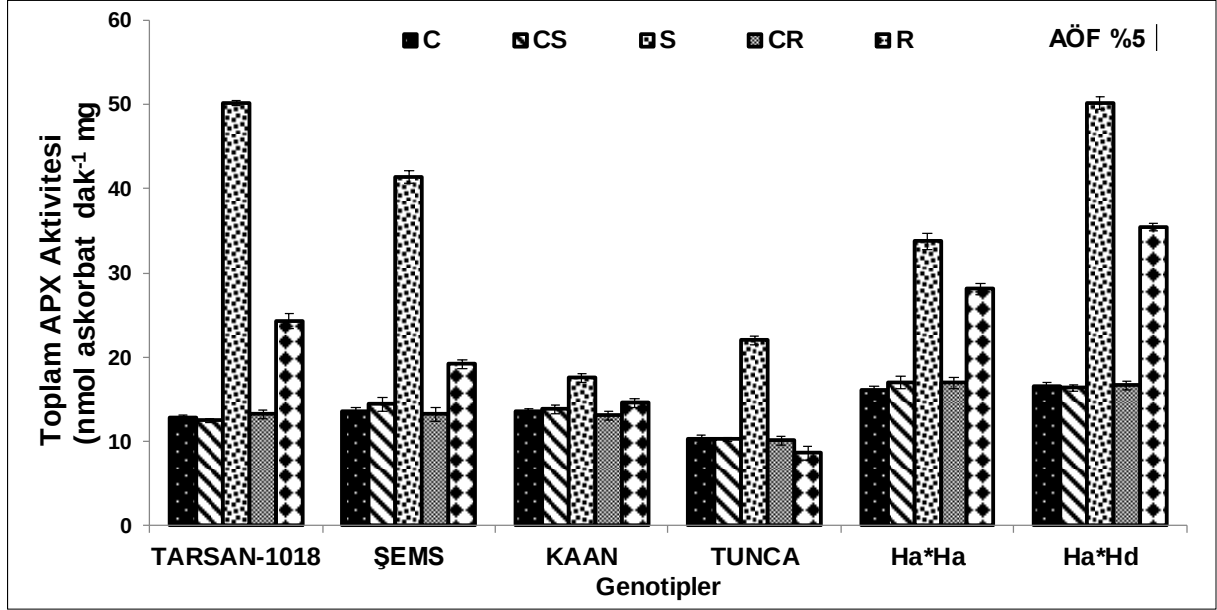
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

S'de; Tunca ve Ha*Hd arasındaki farklar ile Tarsan-1018, Şems ve Ha*Ha genotiplerinin birbirlerinden farkları istatistiksel açıdan önemli bulunurken; R'de Ha*Ha ve Ha*Hd genotiplerinin diğer genotiplerden, Kaan ve Tunca'nın, Tarsan-1018 ve Şems'ten ve ayrıca Tarsan-1018 ve Şems'in birbirinden istatistiksel olarak farklı gruplarda yer aldıkları tespit edilmiştir.

4.2.5.2. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesi

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarının yapraklardaki toplam APX enzim aktivitesi incelendiğinde (Şekil 4.32); toplam APX enzim aktivitesinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. S'de C_S'ye göre toplam APX enzim aktivitesinin tüm genotiplerde önemli düzeyde artmıştır. En fazla artışlar, 3 kat ile Tarsan-1018 ve 2 kat ile Ha*Hd genotiplerinde belirlenmiştir. R'de C_R'ye göre Kaan ve Tunca hariç tüm genotiplerdeki artışlar önemli düzeydedir. R'de S'ye göre ise Kaan hariç diğer genotiplerdeki azalışlar önemli olup; en fazla azalışın %61 ile Tunca çeşidinde olduğu tespit edilmiştir.

40 günlük kontrol grubu (C) bitkilerinde, Tunca çeşidi Ha*Ha ve Ha*Hd genotiplerinden; Ha*Hd genotipi Tarsan-1018'den toplam APX enzim aktivitesi bakımından farklılık göstermiştir (Şekil 4.32). Cs'de Tunca ve Tarsan-1018 çeşitleri ile Ha*Ha ve Ha*Hd



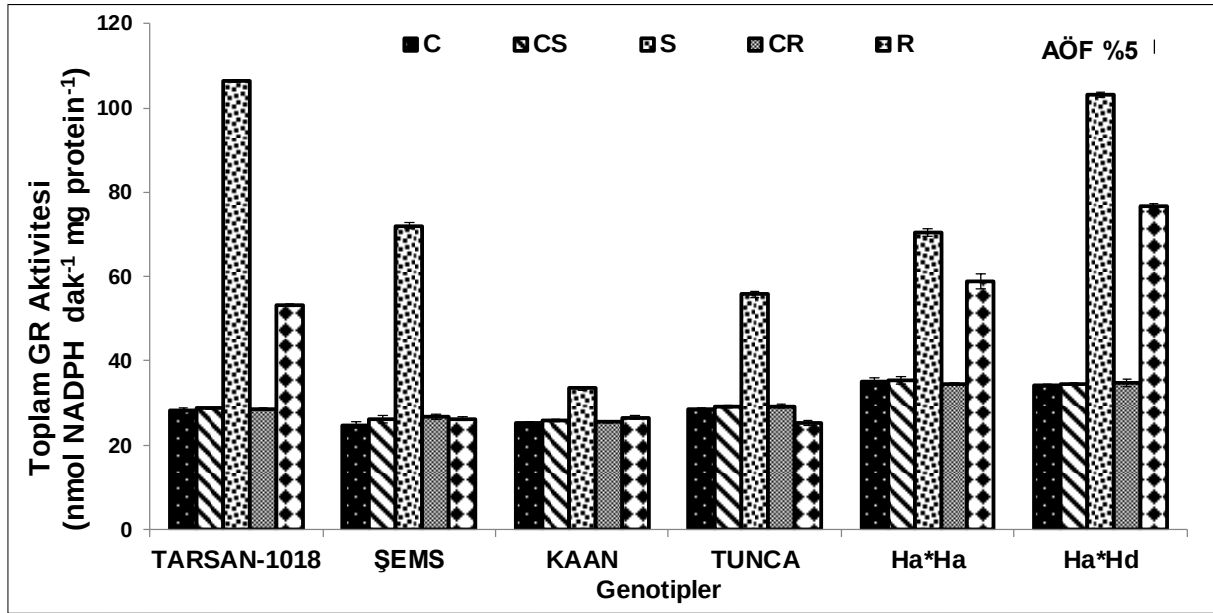
Şekil 4.32. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam APX enzim aktivitesi

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, Cs: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, CR: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

genotipleri; ayrıca Tarsan-1018 ve Tunca çeşitleri arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli düzeyde olduğu bulunmuştur. CR'de ise toplam APX enzim aktivitesi bakımından Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri arasında fark bulunmazken, bu iki genotipin diğer çeşitler ile arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. S'de Tarsan-1018 ve Ha*Hd genotipleri diğer genotiplerden; Şems, Kaan, Tunca ve Ha*Ha'nın birbirinden farkının önemli olduğu belirlenmiştir. R'de ise tüm genotipler arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli düzeyde bulunmuştur.

4.2.5.3. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesi

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarının yapraklardaki toplam GR enzim aktivitesi incelendiğinde (Şekil 4.33); toplam GR enzim aktivitesinde kontrol grupları arasında (C, Cs ve CR) zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. S'de Cs'ye göre toplam GR enzim aktivitesi tüm genotiplerde önemli düzeylerde artmıştır ve en fazla artışlar Tarsan-1018 (2,7 kat), Ha*Hd (1,9 kat) ve Şems'de (1,7 kat) belirlenmiştir. R'de ise CR'ye göre toplam GR



Şekil 4.33. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam GR enzim aktivitesi

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

enzim aktivitesi Şems ve Kaan genotipleri hariç tüm genotiplerde artış göstermiştir. Ayrıca toplam GR enzim aktivitesi, R'de S'ye göre tüm genotiplerde önemli düzeyde azalırken, en fazla azalışların Şems (%64), Tunca (%55) ve Tarsan-1018 (%50) çeşitlerinde olduğu belirlenmiştir.

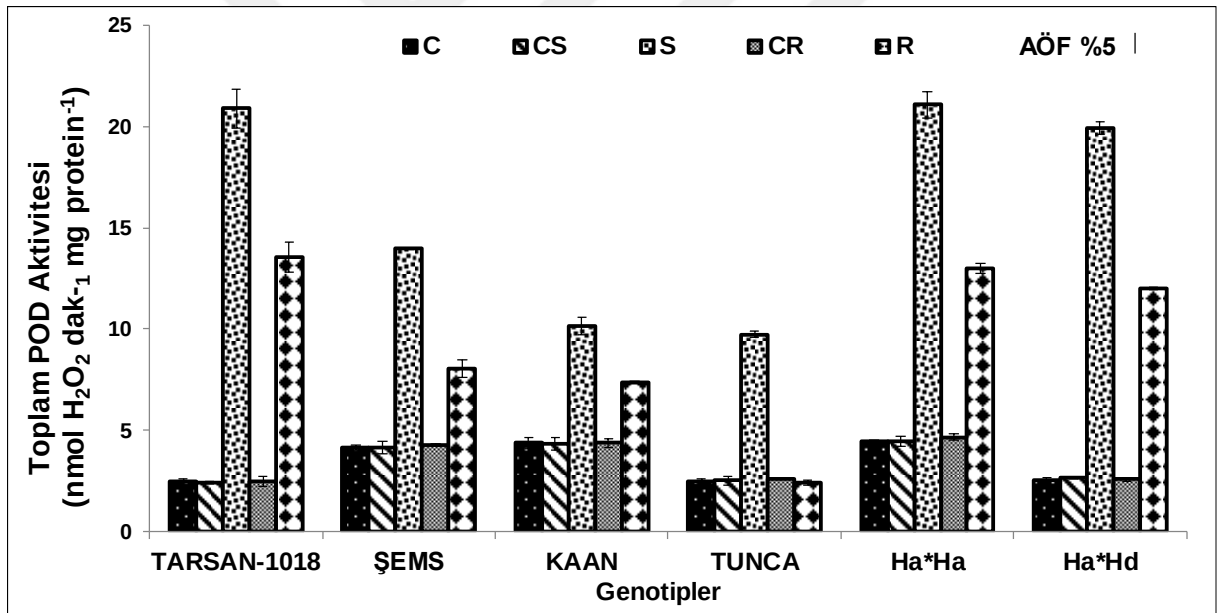
Kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin toplam GR enzim aktivitesindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.33); C'de Şems çeşidi ile Ha*Ha, Ha*Hd, Tarsan-1018 ve Tunca çeşitleri arasındaki farklar; ayrıca Ha*Ha ve Ha*Hd ile Tarsan-1018, Tunca ve Kaan arasındaki farklar önemli düzeyde bulunmuştur. C_S'de Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri ile diğer çeşitler arasındaki farklar; C_R'de ise Ha*Ha ve Ha*Hd ile diğer genotipler ve Kaan ile Tunca arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir. S'de Tarsan-1018 ve Ha*Hd genotipleri ile diğer genotipler, Şems ve Ha*Ha ile Kaan ve Tunca, ayrıca Kaan ve Tunca arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir. R'de ise Şems, Kaan ve Tunca ile diğer genotipler arasındaki fark ile Tarsan-1018, Ha*Ha ve Ha*Hd'nin birbirine göre farkları önemlidir.

4.2.5.4. Peroksidaz (POD) Aktivitesi

Genotiplerin uygulamalara ait kontrol gruplarının yapraklardaki toplam POD enzim aktivitesi incelendiğinde (Şekil 4.34); toplam POD enzim aktivitesinde kontrol grupları

arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişimin olmadığı belirlenmiştir. Hem S'de C_S'ye göre hem de R'de C_R'ye göre (Tunca hariç) toplam POD enzim aktivitesi tüm genotiplerde önemli düzeylerde artış göstermiştir. Her iki uygulama için de en fazla artışlar Tarsan-1018 (sırasıyla 7,6 kat ve 4,5 kat) ve Ha*Hd genotiplerinde (sırasıyla 6,5 kat ve 3,6 kat) saptanmıştır. R'de ise S'ye göre toplam POD enzim aktivitesinin tüm genotiplerdeki azalışları istatistiksel olarak önemli olup en fazla azalışların Tunca (%75) ve Şems (%43) çeşitlerinde olduğu tespit edilmiştir.

Kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin toplam POD enzim aktivitesindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.34); hem C'de hem de C_S'de Tarsan-1018, Tunca ve Ha*Hd genotipleri ile Kaan ve Ha*Ha arasındaki farklar önemli düzeyde bulunurken; C_R'de toplam POD enzim aktivitesi bakımından Tarsan-1018 ve Tunca çeşitlerinin Kaan ve Ha*Ha genotiplerinden istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir. S'de ise Tarsan-1018, Ha*Ha ve Ha*Hd ile diğer genotipler arasındaki farklar ve Şems ile



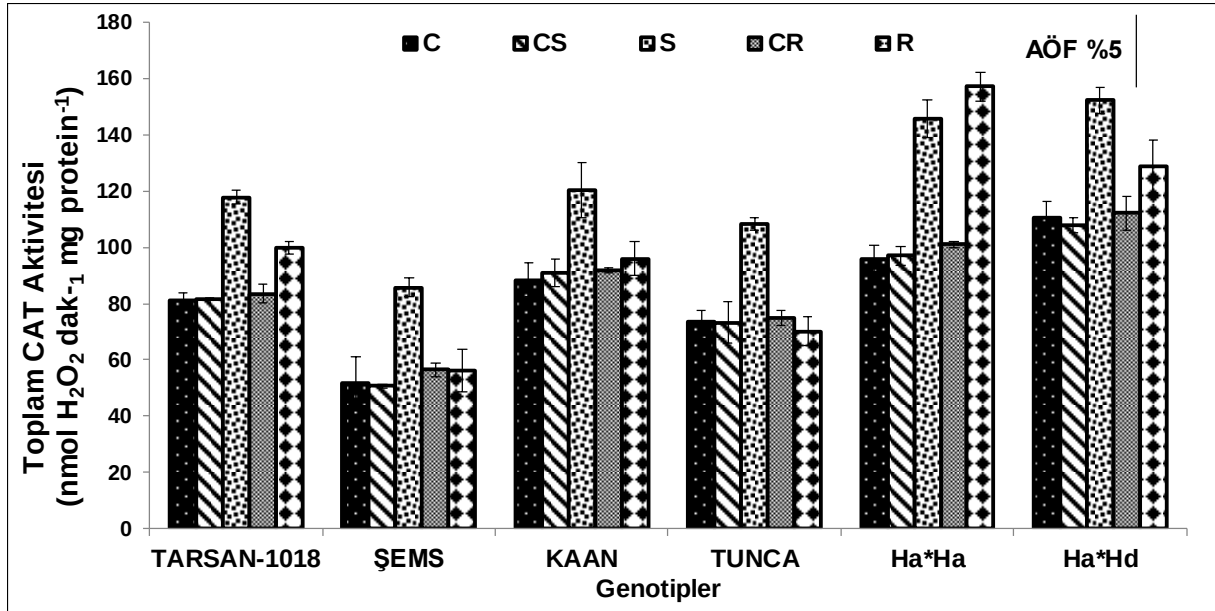
Şekil 4.34. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam POD enzim aktivitesi

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

Kaan ve Tunca arasındaki farkın önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. R'de ise benzer şekilde Tarsan-1018, Ha*Ha ve Ha*Hd ile diğer genotipler ve Tunca ile Kaan ve Şems çeşitleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

4.2.5.5. Katalaz (CAT) Aktivitesi

Genotiplerin uygulamalarına ait kontrol gruplarının yapraklardaki toplam CAT enzim aktivitesi incelendiğinde (Şekil 4.35); toplam CAT enzim aktivitesinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. S'de C_S'ye göre tüm genotiplerde toplam CAT enzim aktivitesi artmıştır, en fazla artışlar Şems (%69), Ha*Ha (%50), Tunca (%48) ve Tarsan-1018 (%45) genotiplerinde belirlenmiştir. R'de ise C_R'ye göre toplam CAT enzim aktivitesi bakımından yalnızca Ha*Ha'daki artış (%56) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. R'de S'ye göre toplam CAT enzim aktivitesindeki azalış Şems (%35), Kaan (%20) ve Tunca (%35) çeşitlerinde önemli düzeyde bulunmuştur.



Şekil 4.35. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında toplam CAT enzim aktivitesi

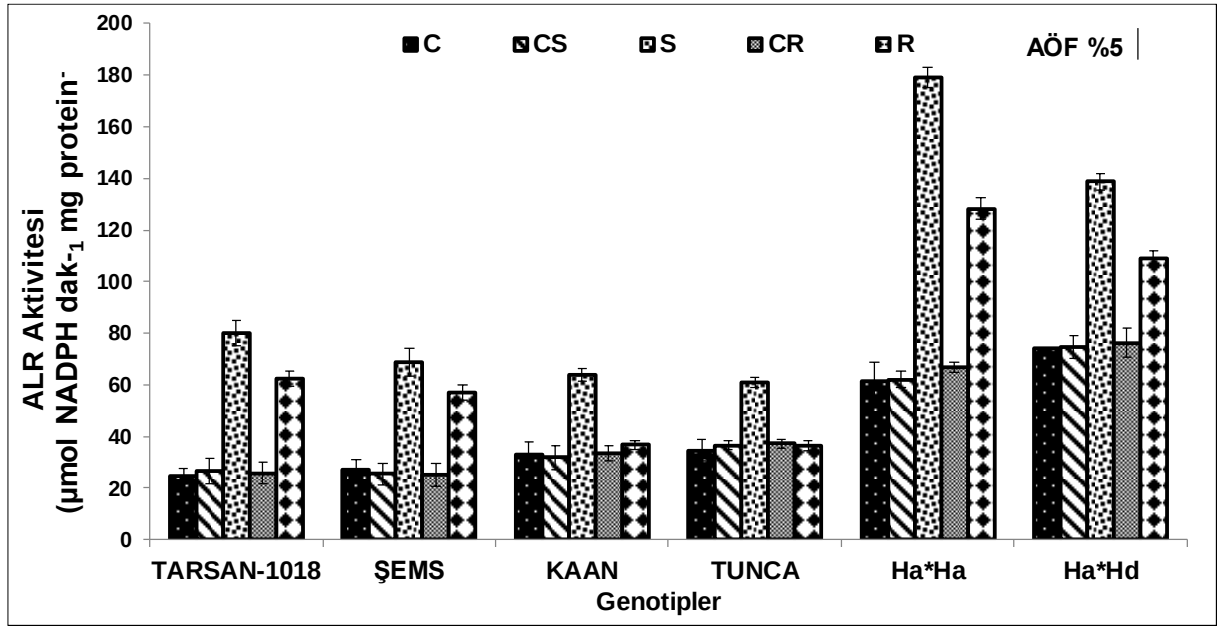
(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

Kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin toplam CAT enzim aktivitesindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.35); C ve C_S'de Tarsan-1018 çeşidinin toplam CAT enzim aktivitesinin Şems ve Ha*Hd genotiplerinden istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir. C_R'de toplam CAT enzim aktivitesi bakımından Şems ile Kaan, Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri arasındaki farklar önemli düzeydedir. S'de ise Tarsan-1018 ve Kaan çeşitleri Şems ve Ha*Hd genotiplerinden farklılık gösterirken; R'de bu iki çeşidin

hem Şems ile Tunca çeşitleri hem de Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri ile arasındaki farklar da önemli düzeydedir.

4.2.5.6. Aldoz Redüktaz (ALR) Aktivitesi

Genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamaları ile bunlara ait kontrol gruplarının yapraklardaki toplam ALR enzim aktivitesi incelendiğinde (Şekil 4.36); toplam ALR enzim aktivitesinde kontrol grupları arasında (C, C_S ve C_R) zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. ALR enzim aktivitesi S'de C_S'ye göre tüm genotiplerde önemli düzeylerde artmıştır. Tarsan-1018'de %200, Şems'de %170,



Şekil 4.36. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeği genotiplerinin yaprak dokularında ALR enzim aktivitesi

(C: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, C_S: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 49 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 9 gün kuraklığa maruz kalmış 49 günlük stres grubu bitkileri, C_R: R grubunun 54 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 54 günlük iyileşme grubu bitkileri)

Kaan'da %101, Tunca'da %66, Ha*Ha'da %188 ve Ha*Hd'de ise %86 oranında artışlar tespit edilmiştir. R'de ise C_R'ye göre ALR enzim aktivitesinin Tarsan-1018 (1,4 kat), Şems (1,2 kat), Ha*Ha (%92) ve Ha*Hd'de (%43) arttığı saptanmıştır. R'de S'ye göre ALR enzim aktivitesinde Tarsan-1018 ve Şems hariç diğer genotiplerdeki azalışlar istatistiksel olarak önemli olup; en fazla azalışlar Kaan (%43) ve Tunca'da (40) belirlenmiştir.

Tüm kontrol gruplarında (C, C_S ve C_R) genotiplerin toplam ALR enzim aktivitesindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.36); her üç kontrol grubu için Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri ile diğer çeşitler arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu

belirlenmiştir. Ayrıca, S'de Ha*Ha genotipinin hem Ha*Hd genotipi ile hem de diğer çeşitler ile arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. R'de ise Tarsan-1018 çeşidi ile Kaan ve Tunca çeşitleri arasındaki ve ayrıca Ha*Ha ve Ha*Hd genotipleri arasındaki farklar ile, Ha*Ha ve Ha*Hd ile Şems, Kaan ve Tunca arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir.

4.2.6. II. Aşamada Analizi Yapılan Parametreler Doğrultusunda Puanlama

Tezin II. Aşamasında genotiplerin kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen verilerinden hasar indeks değerleri ve iyileşme potansiyelleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.8, Çizelge 4.9, Çizelge 4.10, Çizelge 4.11, Çizelge 4.12 ve Çizelge 4.13) Bu sonuçlara göre genotipler toleranslıdan duyarlıya doğru Ha*Ha, Tarsan-1018, Ha*Hd, Şems, Kaan ve Tunca şeklinde sıralanmıştır.

Tezin III. aşaması olan proteomik analizlerde atasal genotip olarak kullanılmak üzere II. aşamada karşılaştırılan Ha*Ha ve Ha*Hd arasından Ha*Ha'nın atasal türü olan *Helianthus agrophyllus* seçilmiştir. Kalan 4 çeşit içerisinde proteomik analiz aşamasında kullanılmak üzere ise toleranslı çeşit (Tarsan-1018) ile duyarlı çeşit (Tunca) seçilmiştir.

Çizelge 4.8. Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen morfolojik ve fizyolojik parametrelerden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlama ve toplam puanlar.

Genotipler	Morfolojik			Fizyolojik		Toplam
	Bitki Boyu	Yaprak Sayısı	Taze Ağırlık	Kuru Ağırlık	NSİ	
TARSAN-1018	8	11	3	3	6	31
ŞEMS	10	5	12	10	10	47
KAAN	5	8	7	8	4	32
TUNCA	5	2	8	9	7	31
Ha*Ha	5	5	5	7	6	28
Ha*Hd	9	11	7	5	9	41

Çizelge 4.9. Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen fotosentetik parametrelerden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlama ve toplam puanlar.

Genotipler	F_v/F_m	F_v/F_0	$\Phi PSII$	F_v'/F_m'	ETH	qP	NPQ	Toplam
TARSAN-1018	7	7	5	6	3	3	4	35
ŞEMS	6	6	8	5	7	11	7	50
KAAN	11	10	11	10	10	10	10	72
TUNCA	11	12	11	12	10	9	5	70
Ha*Ha	3	5	3	6	3	5	7	32
Ha*Hd	4	2	4	3	9	4	9	35

Çizelge 4.10. Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen biyokimyasal parametrelerden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlama ve toplam puanlar.

Genotipler	Toplam klorofil	Toplam karotenoid	MDA	H ₂ O ₂	Antosiyanin	Flavanoid	GB	Toplam
TARSAN-1018	10	7	6	4	3	2	4	36
ŞEMS	2	8	12	6	10	8	8	54
KAAN	11	10	9	11	10	8	10	69
TUNCA	6	9	6	11	10	11	12	65
Ha*Ha	5	6	6	4	3	5	4	33
Ha*Hd	8	2	3	6	6	8	4	37

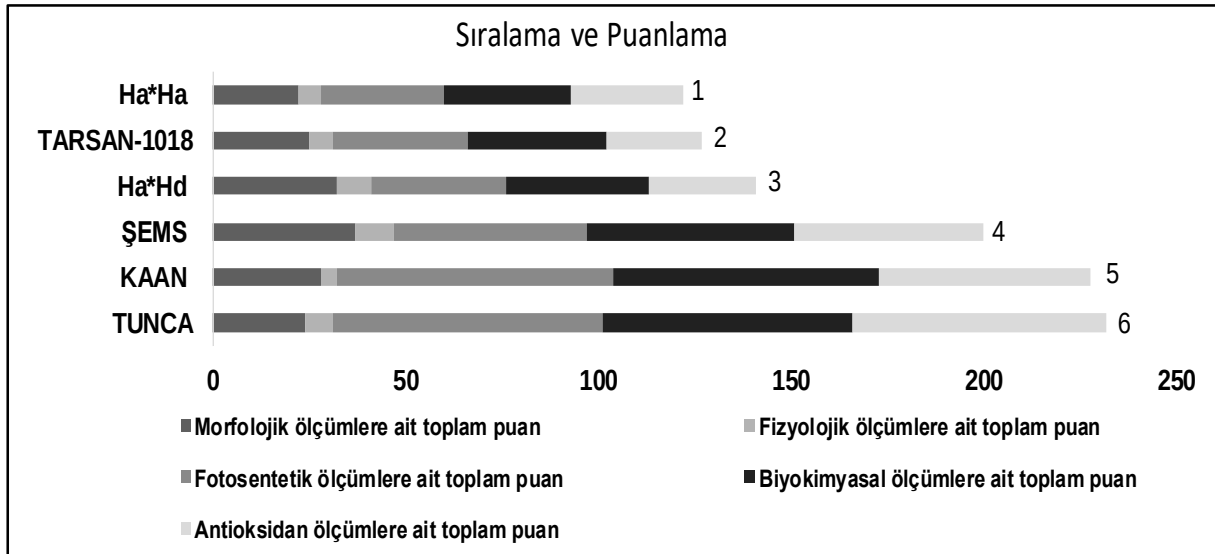
Çizelge 4.11. Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarından elde edilen antioksidan parametrelerden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlama ve toplam puanlar.

Genotipler	SOD	POD	APX	GR	CAT	ALR	Toplam
TARSAN-1018	3	2	5	4	6	5	25
ŞEMS	8	9	8	8	11	5	49
KAAN	10	9	9	10	7	10	55
TUNCA	10	11	11	11	11	12	66
Ha*Ha	6	7	5	5	2	4	29
Ha*Hd	5	4	4	4	5	6	28

Çizelge 4.12. Ayçiçeği genotiplerinden II. aşamada kullanılan tüm parametrelerden elde edilen toplam puanlar ve çeşitlerin kuraklığa toleransına göre sıralaması.

Genotipler	Morfolojik ölçümlere ait toplam puan	Fizyolojik ölçümlere ait toplam puan	Fotosentetik ölçümlere ait toplam puan	Biyokimyasal ölçümlere ait toplam puan	Antioksidan ölçümlere ait toplam puan	Toplam	Sıralama
TARSAN-1018	25	6	35	36	25	127	2
ŞEMS	37	10	50	54	49	200	4
KAAN	28	4	72	69	55	228	5
TUNCA	24	7	70	65	66	232	6
Ha*Ha	22	6	32	33	29	122	1
Ha*Hd	32	9	35	37	28	141	3

Çizelge 4.13. Ayçiçeği genotiplerinden II. aşamada kullanılan tüm parametrelerden elde edilen toplam puanlara göre genotiplerin sıralaması.

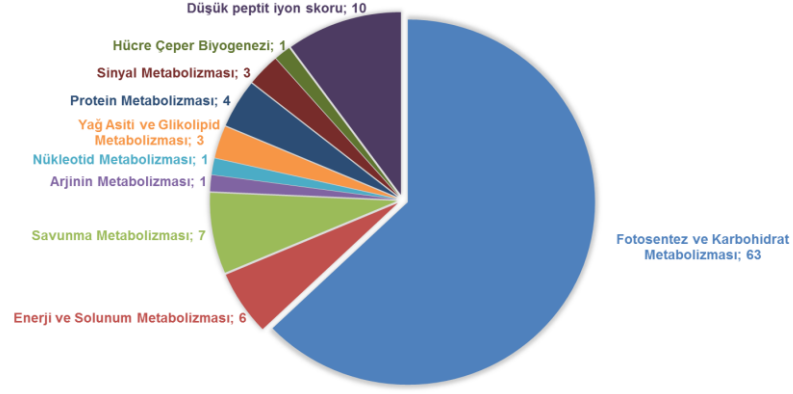


4.3. Tezin Proteomik Aşamasından Elde Edilen Bulgular

Tezin bu aşamasında toleranslı (Tarsan-1018) ve duyarlı (Tunca) genotipleri ile pozitif kontrol olarak atasal ayçiçeği genotipi olan *Helianthus agrophyllus*'un kuraklık ve iyileşme koşullarında yaprak proteomlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. 2 boyutlu jel elektroforezi (2-D) ile elde edilen jellerden PDQest Advanced (8.0.1., BioRad) yazılımı ile yapılan analizlerde her 3 genotipte 720 ± 30 adet protein beneği belirlenmiştir.

Bu protein beneklerinden uygulamalara göre (C-S-R) genotiplerde ifadesi kendi kontrolüne göre 2 kat değişim (artış/azalış) gösteren protein benekleri seçilmiş ve bu proteinlerin tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Genotiplerde sırasıyla Tarsan-1018'de ve *Helianthus agrophyllus*'ta 23, Tunca'da ise 24 adet benek tespit edilmiştir (Şekil 4.39, 4.40 ve 4.41). Bu şekilde farklı ifade olan toplam 70 proteinin MALDI-TOF/TOF kütle spektrometresi ile analizleri yapılmıştır. Elde edilen veriler uygun veri tabanları ile karşılaştırıldığında 63 tanesi protein sekansları ile yüksek eşleşme göstermesi nedeniyle protein düzeyinde, 7 tanesi ise çok düşük eşleşme göstermesi nedeniyle düşük peptid eşleşmesine sahip proteinler olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.37). İşlevlerine göre farklı metabolik yollarda yer alan tanımlanmış proteinler; fotosentez ve karbohidrat metabolizması, enerji ve solunum metabolizması, savunma metabolizması, arjinin metabolizması, nükleotid metabolizması, yağ asiti ve glikolipid metabolizması, protein metabolizması, sinyal metabolizması ve hücre çeper

biyogenezinde görev alan proteinler olmak üzere 9 farklı kategoride sınıflandırılmıştır. Ayrıca, jel görüntülerinde protein beneklerinin genotip içi ve genotipler arasında özdeş olduğu saptanmıştır (Şekil 4.38).

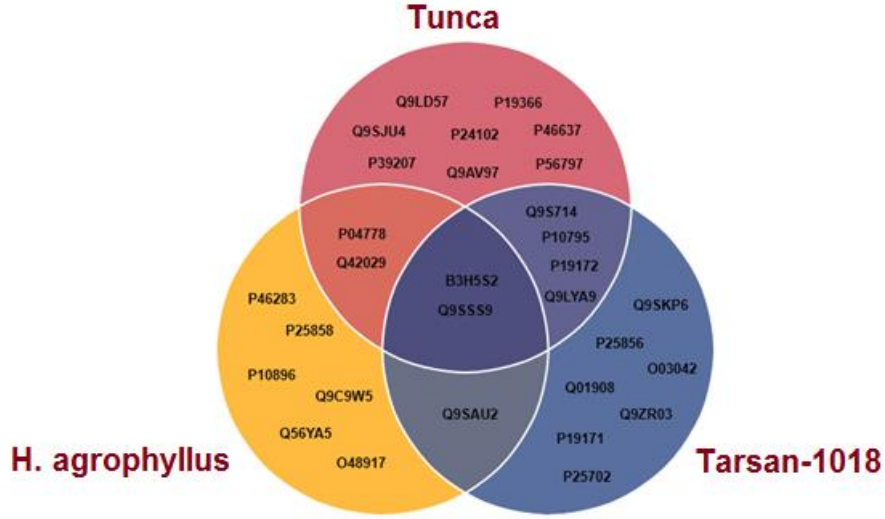


Şekil 4.37. Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarında protein ve peptit skorları ile tanımlanan proteinlerin işlevlerine göre sınıflandırılması.

4.3.1. Fotosentez ve Karbohidrat Metabolizması

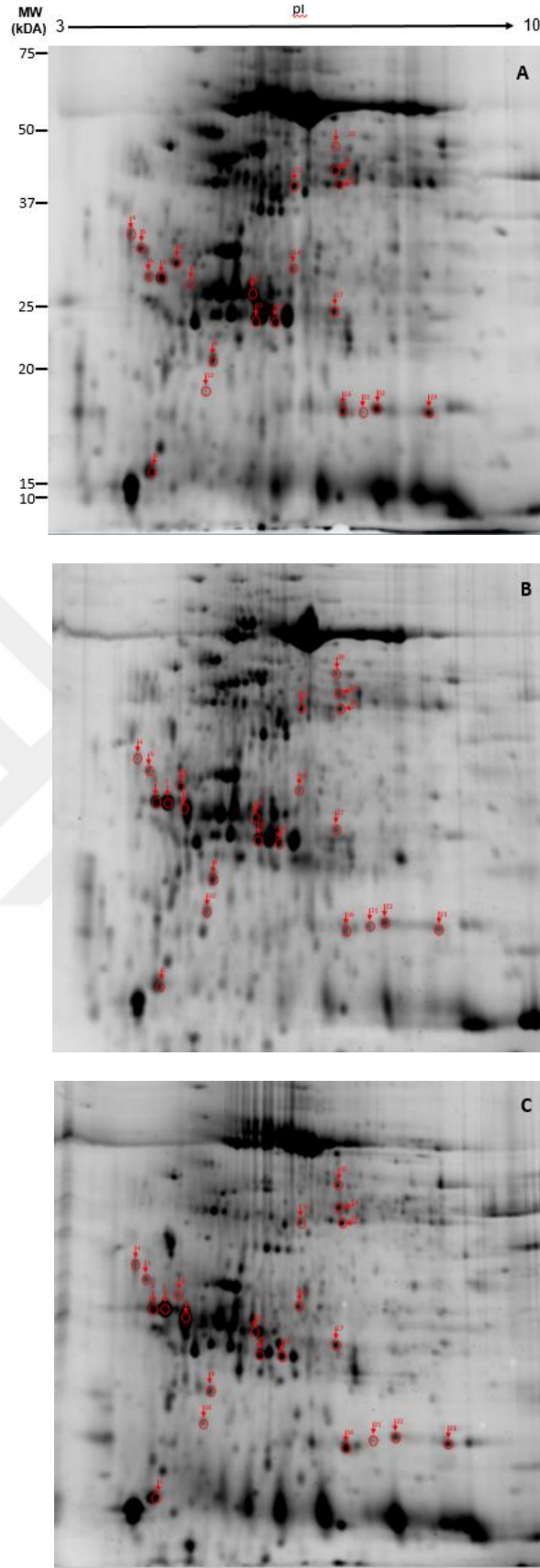
Ayçiçeği genotiplerinde ifade düzeyi 2 kat artış/azalış ile değişim gösteren proteinlerden toplam % 63'ünün fotosentez ve karbohidrat metabolizması ile ilişkili proteinler olduğu saptanmıştır (Şekil 4.37). Bu proteinlerden, 25 tanesinin Calvin döngüsünde (benek: 1, 2, 10, 12, 14, 17, 19, 20, 22, 24, 25, 26, 29, 33, 41, 42, 44, 54, 55, 56, 58, 59, 64, 68, 69) ve 19 tanesinin fotosentezin ışık reaksiyonlarında (benek: 9, 11, 13, 15, 16, 21, 30, 34, 35, 37, 38, 39, 46, 51, 57, 60, 61, 62, 63) yer aldığı belirlenmiştir.

Işık toplayıcı kompleks (LHC) I ve II'deki **klorofil a-b bağlanma proteinlerine** bağlı olan klorofil molekülleri, ışık enerjisinin birincil alıcılarıdır. **Klorofil a-b bağlanma proteini** (benek:35) ifadesi ayçiçeği genotiplerinde Tunca'da stres uygulamalarında (S ve R) %13 azalış göstermiştir. Fotosistemler arasında ışığın yakalanmasında dengeleyici role sahip olan **klorofil a-b bağlanma proteini 13**'ün ifadesi hem Tunca hem de *H. agrophyllus* genotiplerinde değiştiği belirlenmiştir (sırasıyla benek: 30 ve 51). Tunca'da kuraklık uygulamasında bu protein ifadesi kontrole göre %37 azalırken, iyileşmede %23 artmış; *H. agrophyllus*'da ise hem stres hem de iyileşme uygulamalarında (sırasıyla %55 ve %74) artış göstermiştir. **Klorofil a-b bağlanma proteini 8**'in ifadesi ise ayçiçeğinde tüm genotiplerde farklı şekilde değişim göstermiştir. Tarsan-1018 genotipinde benek:11'de kontrole göre stres uygulamasında protein ifadesi %13 artarken, iyileşmede %14 azalmış olup; benek:13'de strese

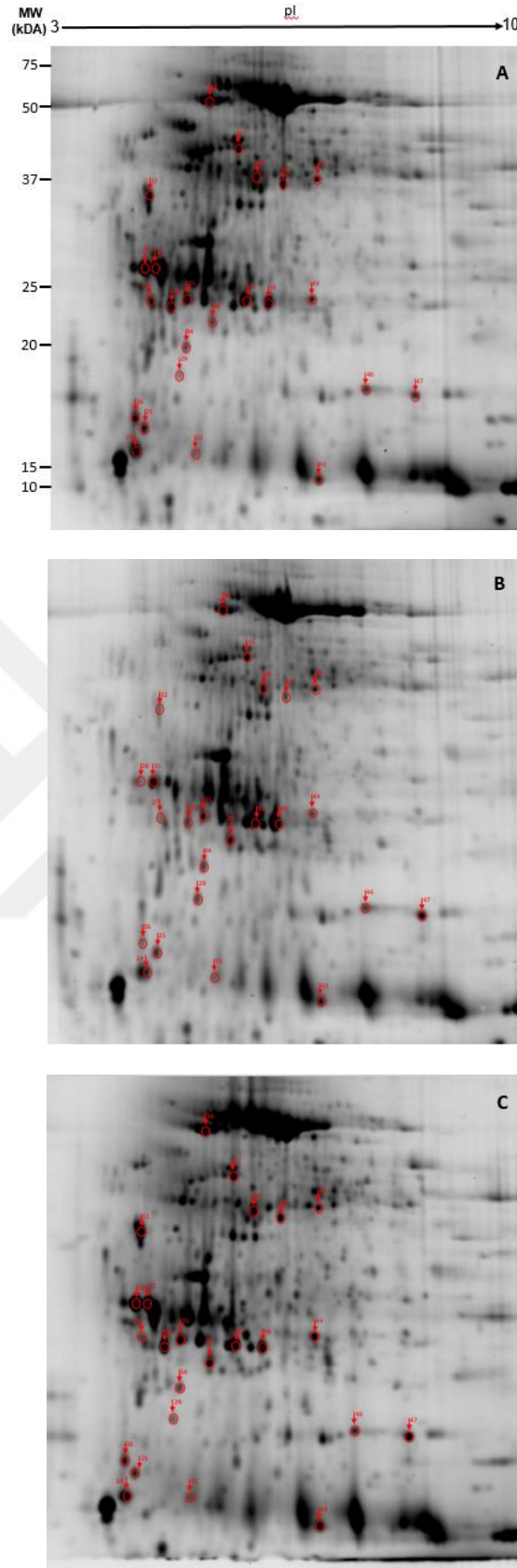


Şekil 4.38. Ortak veya farklı ifade düzeyleri ile ayçiçeği genotiplerinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarında yaprak dokusunda tanımlanan proteinlerin aksesyon numaraları ile venn diyagramında gösterimi.

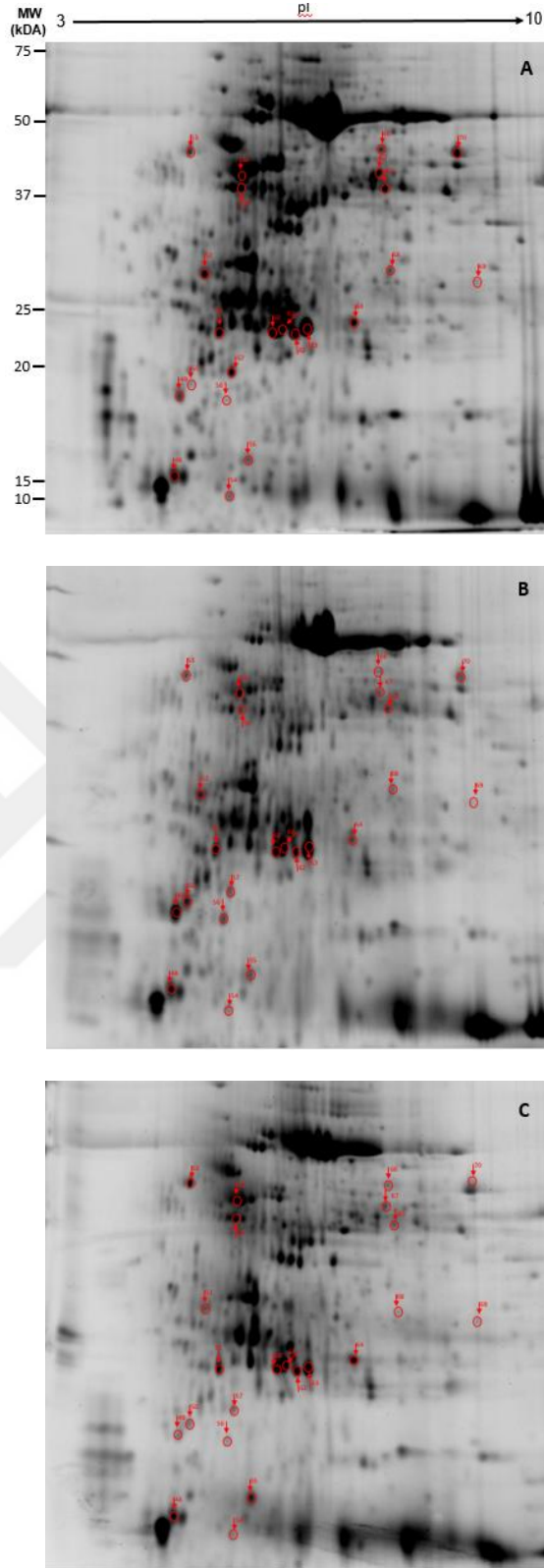
Aksesyon Numarası	Protein ismi	Aksesyon Numarası	Protein ismi
P46283	Sedoheptuloz -1,7-bisfosfataz	Q9SJU4	Fruktoz 1,6-bisfosfat aldolaz
P25858	Gliseralehit-3-fosfat dehidrogenaz	P39207	Nükleosit difosfat kinaz B
P10896	Ribuloz bisfosfat karboksilaz/oksijenaz aktivaz	P24102	Temel peroksidaz
Q9C9W5	Gliserat dehidrogenaz	Q9AV97	2-dehidro-3-deoksifosfooktonat aldolaz 1
Q56YA5	Serin--gliksilat aminotransferaz	P46637	Arjinaz 1
O48917	UDP-sülfokinovoz sentaz	P56797	30S ribozomal protein S2
Q9SKP6	Trioz fosfat izomeraz	P04778	Klorofil a-b bağlanma proteini 13
P25856	Gliseralehit-3-fosfat dehidrogenaz A	Q42029	Oksijen oluşumunu arttırıcı protein 2
O03042	Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir	B3H5S2	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri
Q01908	ATP sentaz gama zinciri 1	Q9SSS9	ATP sentaz delta zinciri
Q9ZR03	Sitokrom b6-f kompleksi demir-kükürt alt ünitesi	Q9SAU2	Ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz
P19171	Endokitinaz B	Q9S714	Fotosistem I reaksiyon merkezi alt ünite IV B
P25702	Açıl taşıyıcı protein 3	P10795	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1
Q9LD57	Fosfoglisarat kinaz	P19172	Asidik endokitinaz
P19366	ATP sentaz alt ünite beta	Q9LYA9	Kloroplast stem-loop bağlanma proteini 41 kDa a



Şekil 4.39. Tarsan-1018 genotipinde (A) kontrol, (B) stres ve (C) iyileşme uygulamalarında tanımlanan 23 adet protein beneği. Okla gösterilen rakamlar farklı olarak ifade edilen ve tanımlanan protein beneklerini göstermektedir.



Şekil 4.40. Tunca genotipinde (A) kontrol, (B) stres ve (C) iyileşme uygulamalarında tanımlanan 24 adet protein beneği. Okla gösterilen rakamlar farklı olarak ifade edilen ve tanımlanan protein beneklerini göstermektedir.



Şekil 4.41. *Helianthus agrophyllus* genotipinde (A) kontrol, (B) stres ve (C) iyileşme uygulamalarında tanımlanan 23 adet protein beneği. Okla gösterilen rakamlar farklı olarak ifade edilen ve tanımlanan protein beneklerini göstermektedir.

protein ifadesi %15 azalmış, iyileşmede ise %73 artış göstermiştir. Tunca genotipinde klorofil a-b bağlanma proteini 8'in ifadesi (benek: 37) kuraklık uygulamasında kontrole göre %74 artmış, ancak iyileşmede %7 azalmıştır. Atasal genotip olan *H. agrophyllus*'da ise bu protein (benek: 60 ve 62)'de benzer değişimler göstermiş ve hem stres hem de iyileşme uygulamalarında kontrole göre azalış (sırasıyla: %41 ve %33 ile %27 ve %25) gerçekleşmiştir (Çizelge 4.14).

ATP sentaz, kloroplastlarda elektrokimyasal proton gradienti doğrultusunda proton aktarımından sağlanan güç ile ADP ve inorganik fosfattan (P_i) ATP sentezlenmesinde görev alır. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ayçiçeğinde tüm genotiplerde ATP sentaz alt birimlerinin ifadelerinde değişimler belirlenmiştir. ATP sentaz kompleksinin fonksiyon gösterebilmesi için son derece önemli bir protein olan **ATP sentaz delta zinciri**'nin ifadesi her 3 genotipte farklı şekillerde değişim göstermiştir. Tarsan-1018 ve Tunca genotiplerinde **ATP sentaz delta zinciri**'nin (benek: 9 ve 34) ifadesi stres ve iyileşme uygulamalarında kontrole göre (sırasıyla %32 ve %10 ile %30) artmıştır. *H. agrophyllus*'da ise bu protein ifadesi (benek: 57) kuraklık uygulamasında kontrole göre %15, iyileşmede ise %66 azalmıştır (Çizelge 4.14). ATP sentaz kompleksinin redoks yoluyla düzenlenmesinden sorumlu olan **ATP sentaz gama zinciri 1**'in ifadesi (benek: 15) ayçiçeğinde yalnızca Tarsan-1018 genotipinde değişim göstermiş ve kuraklık uygulamalarında bu proteinin ifadesi %44'den fazla azalmıştır. Ayrıca **ATP sentaz alt ünite beta**'nın ifadesi (benek: 38) Tunca'da kontrole göre streste %40 ve iyileşmede %19 azalmıştır. İyileşme uygulamasında protein ifadesi strese göre %36 artarken kontrol düzeyine ulaşamamıştır (Çizelge 4.14).

Suyun oksidasyonunda düzenleyici olarak rol oynayan **oksijen oluşumunu artırıcı protein 2**'nin ifadesi hem Tunca (benek:39) hem de atasal genotip olan *H. agrophyllus*'da (benek: 61 ve 63) değişmiştir. Bu proteinin ifadesi Tunca genotipinde kuraklık uygulamasında kontrole göre %52 artarken, iyileşme uygulamasında %16 azalmıştır. Oksijen oluşumunu artırıcı protein 2'nin ifadesi kontrole göre *H. agrophyllus*'da S ve R 'de kontrole göre benek:61'de sırasıyla %2 ve %50 düzeyinde azalırken, benek: 63'de ise %30'dan fazla azalış gerçekleşmiştir (Çizelge 4.14).

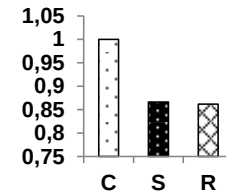
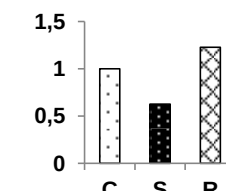
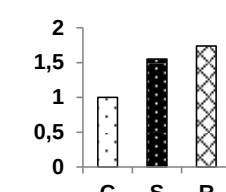
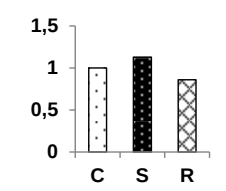
NADP'nin fotoindirgenmesinde önemli role sahip olan **fotosistem I reaksiyon merkezi alt ünite IV B**'nin ifadesi ayçiçeği genotiplerinde stres uygulamalarında Tunca (benek:46) ve Tarsan-1018 (benek: 21) genotiplerinde farklı oranda değişmiştir (Çizelge 4.14). Tarsan-1018'de bu protein ifadesi kontrole göre streste 1.7 kat, iyileşme

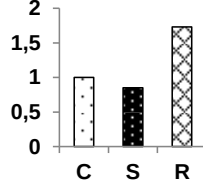
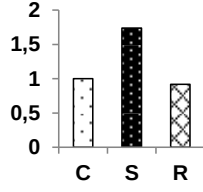
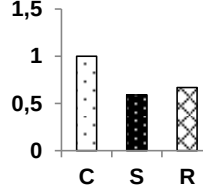
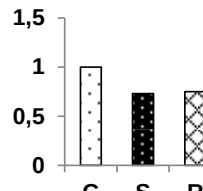
uygulamasında ise %75 oranında artış; Tunca'da sırasıyla %5 ve %13 azalış göstermiştir. Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık uygulamalarında **sitokrom b6-f kompleksi demir-kükürt alt ünitesi**'nin ifadesi yalnızca Tarsan-1018'de (benek: 16) strese kontrole göre %37 oranında azalmış, iyileşmede ise %5 oranında artmıştır (Çizelge 4.14).

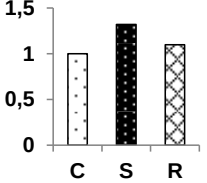
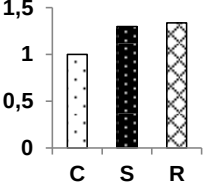
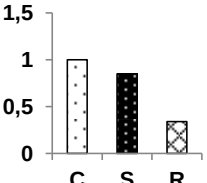
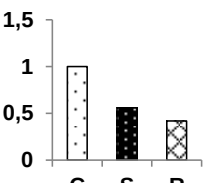
Fotosentezde CO₂ asimilasyonundaki ilk basamağı katalizleyen RuBisCO'nun küçük ve büyük alt zincirlerine ait protein ifadeleri ayçiçeği genotiplerinde farklı şekillerde değişim göstermiştir. **Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1**'in ifadesi Tunca (benek: 24 ve 29) ve Tarsan-1018 (benek: 1 ve 10) genotiplerinde artış göstermiştir. Bu proteinin ifadesi Tunca'da kuraklık ve iyileşme uygulamalarında kontrole göre sırasıyla %100 ile %51 ve 1.8 kat ile %42 artış gösterirken; Tarsan-1018'de 1.2 kat ile %95 ve 2.6 kat ile %59 artmıştır (Çizelge 4.14). **Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri** her 3 ayçiçeği genotipinde de tanımlanmış olup, Tarsan-1018 (benek: 2, 14, 22) ve Tunca'da (benek: 25, 26, 33) 3, atasal tür olan *H. agrophyllus*'da ise 5 benek (54, 55, 56, 68, 69) belirlenmiştir. Tarsan-1018'de **ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri**'nin beneklerde farklı düzeylerde ifadesi değişmiştir. Benek: 2'de kontrole göre strese 5.3 kat artış, iyileşmede %60 azalış; benek: 14'de 1.3 kat ve 4.3 kat artış; benek: 22'de ise %35 ve %8'lik artışlar belirlenmiştir. Tunca'da ise benek: 25'de kontrole göre stres ve iyileşmede artış (sırasıyla %52 ve %10); benek: 26'da sırasıyla %58 ve %39 azalışlar ile benek: 33'de strese %60 artış ve iyileşmede %35 azalış tespit edilmiştir. *H. agrophyllus*'da 54, 55, 56 numaralı beneklerde bu proteinin ifadesi kontrole göre strese artmış olup, iyileşme uygulamasında yalnızca 54 numaralı benekte %15'lik bir azalış göstermiş ve diğer iki benekte 3.2 kattan fazla artış belirlenmiştir. Ayrıca aynı protein için 68 numaralı benekte kuraklık ile iyileşme uygulamalarında kontrole göre % 4 ve % 84'lük azalışlar; 69 numaralı benekte ise sırasıyla % 39 azalış ve % 17'lik artış tespit edilmiştir (Çizelge 4.14). Ayçiçeğinde genotipler arasında **Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir** 'in ifadesi yalnızca Tarsan-1018'de (benek: 20) değişim göstermiş olup; kuraklık uygulamalarında kontrole göre sırasıyla 3.3 kat ve 4.1 kat artış gerçekleşmiştir.

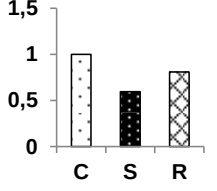
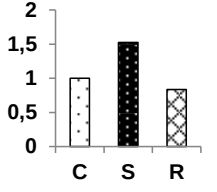
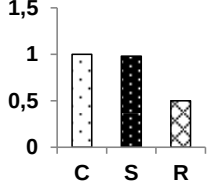
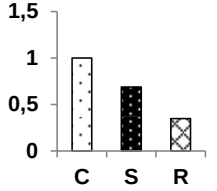
Calvin döngüsünün şeker fosfat geri dönüşüm basamaklarının önemli bir bileşenini temsil eden **ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz**; ksiloz-5-fosfatın, ribuloz-5-fosfata dönüşümünü katalizler. Ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz ifadesi ayçiçeğinde tüm genotiplerde farklı şekillerde değişmiştir (Çizelge 4.14). Tarsan-1018 ve Tunca

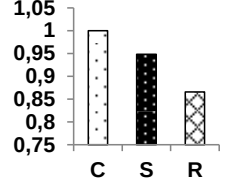
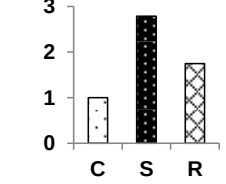
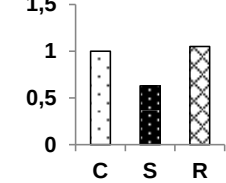
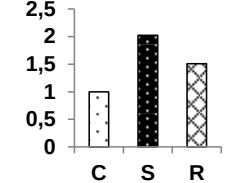
Çizelge 4.14. Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan fotosentez ve karbohidrat metabolizmasına ait proteinler

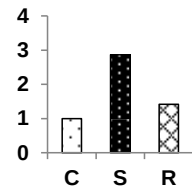
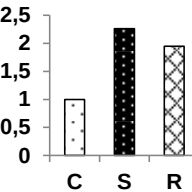
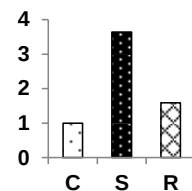
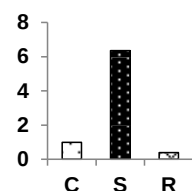
Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
Fotosentez ve Karbohidrat Metabolizması									
35	A2XJ35	Klorofil a-b bağlanma proteini (<i>Oryza sativa</i> subsp. <i>indica</i>)	Tunca	28.48/5.62	24.30/5.00	255	11	25	
30	P27489	Klorofil a-b bağlanma proteini 13 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Tunca	28.60/5.09	23.30/4.85	117	5	6	
51	P27489	Klorofil a-b bağlanma proteini 13 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>H. ag</i>	28.60/5.09	22.40/4.88	101	5	6	
11	P27522	Klorofil a-b bağlanma proteini 8 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Tarsan-1018	29.34/8.96	24.10/5.66	75	4	9	

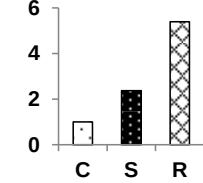
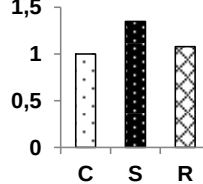
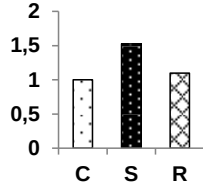
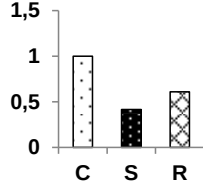
Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
13	P27522	Klorofil a-b bağlanma proteini 8 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Tarsan-1018	29.34/8.96	24.10/5.80	138	7	15	
37	P27522	Klorofil a-b bağlanma proteini 8 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Tunca	29.34/8.96	23.80/5.75	131	5	9	
60	P27522	Klorofil a-b bağlanma proteini 8 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>H. ag</i>	29.34/8.96	22.75/5.63	130	5	9	
62	P27522	Klorofil a-b bağlanma proteini 8 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>H. ag</i>	29.34/8.96	22.75/5.93	214	9	20	

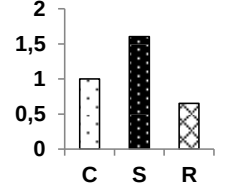
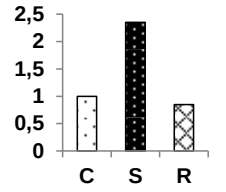
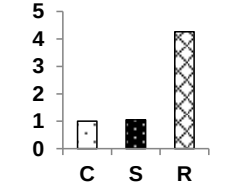
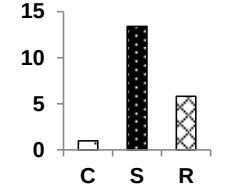
Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
9	P32980	ATP sentaz delta zinciri (<i>Nicotiana tabacum</i>)	Tarsan-1018	26.77/8.96	20.70/5.10	115	6	12	
34	P32980	ATP sentaz delta zinciri (<i>Nicotiana tabacum</i>)	Tunca	26.77/8.96	20.00/5.00	92	10	15	
57	P32980	ATP sentaz delta zinciri (<i>Nicotiana tabacum</i>)	<i>H. ag</i>	26.77/8.96	19.66/5.07	89	8	12	
15	Q01908	ATP sentaz gama zinciri 1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Tarsan-1018	40.89/8.13	39.90/6.17	360	17	21	

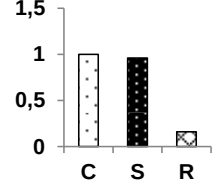
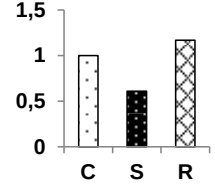
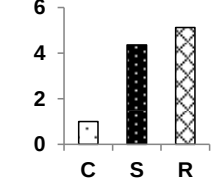
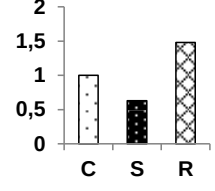
Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
38	Q1KXV2	ATP sentaz alt ünite beta (<i>Helianthus annuus</i>)	Tunca	53.53/5.12	53.00/5.36	992	40	69	
39	P29795	Oksijen oluşumunu arttırıcı protein 2 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Tunca	27.78/8.26	23.50/6.07	83	7	15	
61	Q96334	Oksijen oluşumunu arttırıcı protein 2 (<i>Brassica juncea</i>)	<i>H. ag</i>	23.33/4.91	22.75/5.74	64	4	12	
63	P29795	Oksijen oluşumunu arttırıcı protein 2 (<i>Solanum lycopersicum</i>)	<i>H. ag</i>	27.78/8.26	23.00/6.07	90	8	18	

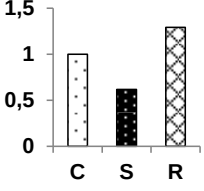
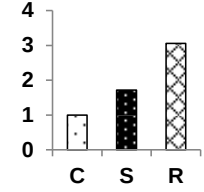
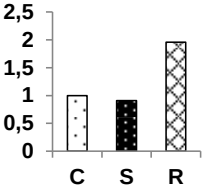
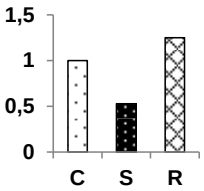
Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
46	Q41229	Fotosistem I reaksiyon merkezi alt ünite IV B (<i>Nicotiana sylvestris</i>)	Tunca	15.22/9.74	18.20/7.29	103	7	16	
21	Q41229	Fotosistem I reaksiyon merkezi alt ünite IV B (<i>Nicotiana sylvestris</i>)	Tarsan-1018	15.22/9.74	18.10/7.05	73	6	16	
16	O49078	Sitokrom b6-f kompleksi demir-kükürt alt ünitesi (<i>Fritillaria agrestis</i>)	Tarsan-1018	24.28/8.74	18.10/6.77	110	5	15	
24	Q39743	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1 (<i>Flaveria pringlei</i>)	Tunca	19.63/8.93	15.70/4.38	91	8	39	

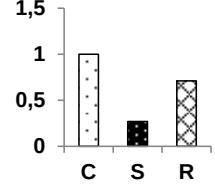
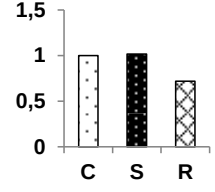
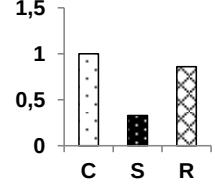
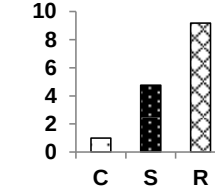
Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
29	Q39743	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1 (<i>Flaveria pringlei</i>)	Tunca	19.63/8.93	18.90/4.76	175	13	41	
1	Q39743	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1 (<i>Flaveria pringlei</i>)	Tarsan-1018	19.63/8.93	15.35/4.35	55	8	22	
10	Q39743	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1 (<i>Flaveria pringlei</i>)	Tarsan-1018	19.63/8.93	18.90/6.77	153	13	30	
2	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	Tarsan-1018	20.20/9.07	19.30/4.28	110	15	61	

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
14	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	Tarsan-1018	20.20/9.07	29.70/6.14	154	13	35	
22	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	Tarsan-1018	20.20/9.07	18.20/7.25	148	14	51	
25	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	Tunca	20.20/9.07	16.63/4.48	220	15	39	
26	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	Tunca	20.20/9.07	17.05/4.35	237	15	47	

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
33	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	Tunca	20.20/9.07	15.70/5.18	319	18	40	
54	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	<i>H. ag</i>	20.20/9.07	10.00/5.00	91	15	51	
55	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	<i>H. ag</i>	20.20/9.07	16.02/5.27	161	13	44	
56	P07089	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Flaveria trinervia</i>)	<i>H. ag</i>	19.53/8.93	18.53/5.00	61	8	27	

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
68	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	<i>H. ag</i>	20.20/9.07	29.00/7.18	142	10	37	
69	P08705	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Helianthus annuus</i>)	<i>H. ag</i>	20.20/9.07	28.70/8.26	61	9	29	
20	P45738	Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir (<i>Helianthus annuus</i>)	Tarsan-1018	53.82/5.95	46.60/6.70	443	28	37	
17	Q43157	Ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz (<i>Spinacia oleracea</i>)	Tarsan-1018	30.35/8.23	25.00/6.70	251	9	24	

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
44	Q43843	Ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz (<i>Solanum tuberosum</i>)	Tunca	29.86/7.71	24.80/6.76	97	5	13	
64	Q43157	Ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz (<i>Spinacia oleracea</i>)	<i>H. ag</i>	30.35/8.23	24.00/6.66	147	7	23	
12	Q9M4S8	Trioz fosfat izomeraz (<i>Fragaria ananassa</i>)	Tarsan-1018	33.51/7.64	26.50/5.66	240	11	15	
59	P46285	Sedoheptuloz -1,7-bisfosfataz (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>H. ag</i>	42.03/6.04	37.50/5.18	130	15	32	

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
58	Q40281	Ribuloz bisfosfat karboksilaz/oksijenaz aktivaz (<i>Malus domestica</i>)	<i>H. ag</i>	48.05/8.20	39.40/5.16	491	21	29	
41	Q42961	Fosfoglisarat kinaz (<i>Nicotiana tabacum</i>)	Tunca	50.15/6.11	42.50/5.71	415	19	12	
19	P19866	Gliseralehit-3-fosfat dehidrogenaz A (<i>Spinacia oleracea</i>)	Tarsan-1018	43.00/7.62	42.80/6.70	60	9	19	
42	P16096	Fruktoz 1,6-bisfosfat aldolaz (<i>Spinacia oleracea</i>)	Tunca	42.44/6.85	35.00/6.32	255	11	17	

^a SwissProt ve NCBI veri tabanlarına karşı MASCOT taraması yapıldığında en iyi sonuca göre belirlenen aksesyon numarası

^b SwissProt ve NCBI veri tabanlarına karşı MASCOT taraması yapıldığında en iyi sonuca göre belirlenen protein ve bitki türü

^c Tezde kullanılan ve proteinin tanımlandığı ayçiçeği genotipi

- ^d MALDI-TOF/TOF analizleri ile tanımlanan proteinin teorik moleküler ağırlığı (KDa) ve izoelektrik noktası (PI)
- ^e MALDI-TOF/TOF analizleri ile tanımlanan proteinin deneysel moleküler ağırlığı (KDa) ve izoelektrik noktası (PI)
- ^f MS analizleri ve MASCOT taramasında proteinin tanımlanması için olasılık skoru
- ^g Eşleşen peptit sayısı
- ^h Yüzde (%) olarak dizi eşleşmesi
- ⁱ Ayçiçeği genotiplerinde proteinlerin ifade düzeyindeki değişimler

genotiplerinde (benek: 17 ve 44) protein ifadesinde kontrole göre kuraklık uygulamasında azalış (%37), iyileşmede ise artış (sırasıyla %48 ve %29) belirlenmiştir. Atasal genotip *H. agrophyllus*'da ise (benek: 64) kuraklık ve iyileşme uygulamalarında (S ve R) önemli düzeyde (%72 ve 2 kat) artış tespit edilmiştir.

Dihidroksiaseton fosfat ile D-gliseraldehit-3-fosfat arasında hızlı ve geri dönüşümlü aldoz/ketoz dönüşümünü gerçekleştiren **trioz fosfat izomeraz**'ın ifadesi ayçiçeğinde yalnızca Tarsan-1018 genotipinde (benek: 12) değişim göstermiş olup; streste kontrole göre %9 azalmış, ancak iyileşmede %96'lık artış göstererek kontrol seviyesinin de üzerine çıkmıştır (Çizelge 4.14). Benzer şekilde, Calvin döngüsünün yenilenme basamağı için ara geçiş substratları üreten enzimlerden biri olan **sedoheptuloz -1,7-bisfosfataz** ifadesi *H. agrophyllus*'da (benek: 59) kontrole göre kuraklıkta %47 azalmış, iyileşmede ise %25 artmıştır (Çizelge 4.14). RuBisCO'nun katalitik şaperonu olarak nitelendirilen **ribuloz bisfosfat karboksilaz/oksijenaz aktivaz**'ın ifadesi atasal genotipte (benek: 58) hem stres hem iyileşme uygulamalarında kontrole göre önemli düzeyde azalmış (sırasıyla %73 ve %29) olup, ifade değeri iyileşmede strese göre 1.6 kat daha yüksektir (Çizelge 4.14).

3-fosfogliseratın (3-PGA), 1,3-bisfosfogliserata fosforilasyonunu katalizleyen Calvin döngüsü enzimlerinden **fosfogliserat kinaz** ifadesi Tunca genotipinde (benek: 41) streste kontrole göre önemli bir değişim göstermezken, iyileşmede %28 azalış göstermiştir (Çizelge 4.14). Bitkilerde fotosentetik karbon indirgenmesinde yer alan ve NAD(P)H bağımlı bir enzim olan kloroplastik **gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz A'nın** ifadesi ise Tarsan-1018 genotipinde (benek: 19) kuraklık ve iyileşme uygulamalarında (S ve R) kontrole göre azalmıştır (sırasıyla %67 ve %14) (Çizelge 4.14). Calvin döngüsü boyunca fotosentetik karbon akışını kontrol etme potansiyeline sahip olan **fruktoz 1,6-bisfosfat aldolaz**, ayçiçeği genotiplerinden Tunca'da (benek: 42) tanımlanmış ve bu protein ifadesi hem kuraklık hem de iyileşme uygulamalarında kontrole göre önemli düzeyde (sırasıyla 3.7 kat ve 8.1 kat) artmıştır (Çizelge 4.14).

4.3.2. Enerji ve Solunum Metabolizması

Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan proteinlerden %6'sını enerji ve solunum metabolizması ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.37). Gliserat ve hidroksipirüvat arasındaki NAD⁺ bağımlı reaksiyonu gerçekleştiren **gliserat dehidrogenaz** (benek:67) ile bitkilerde fotosolunum sırasında glioksilat ve serinin, glisin ve hidroksipirüvata çeviriminden sorumlu olan **serin--glioksilat aminotransferaz**'ın (benek:70) ifadesi

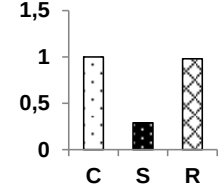
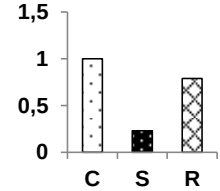
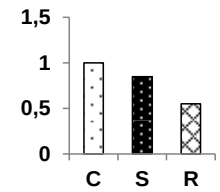
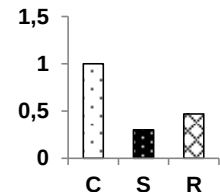
ayçiçeği genotiplerinden yalnızca *H. agrophyllus*'da değişim göstermiştir (Çizelge 4.15). Gliserat dehidrogenaz'ın ifadesi strese kontrole göre %71 azalırken, iyileşme uygulamasında kuraklığa göre 2.4 kat artmıştır. Serin--glioksilat aminotransferazın ifadesi de benzer şekilde kontrole göre kuraklık uygulamasında %77 ve iyileşmede ise %21 oranında azalmıştır. Ayrıca bu proteinin ifadesi, iyileşme uygulamasında kuraklığa göre 2.3 kat daha yüksektir. Ayçiçeği genotiplerinde **muhtemel sitokrom c oksidaz alt ünite II PS17**'nin (benek: 5) ifadesi yalnızca Tarsan-1018 genotipinde değişim göstermiş olup S ve R uygulamalarında bu proteinin ifadesinde kontrole göre sırasıyla % 15 ve % 45 azalışlar tespit edilmiştir. Gliseraldehit-3-fosfattan 1,3-difosfoglisarat sentezini katalizleyen sitozolik **Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz**'ın (benek:65) ifadesi ise atasal genotip olan *H. agrophyllus*'da (benek:65) kuraklık uygulamalarında (S ve R) önemli düzeyde (%70 ve %53) azalış göstermiştir (Çizelge 4.15).

4.3.3. Savunma Metabolizması

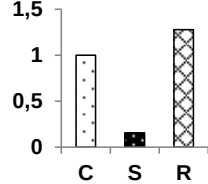
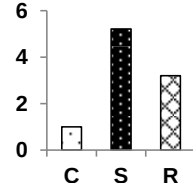
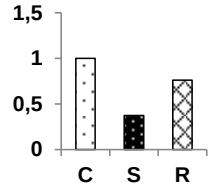
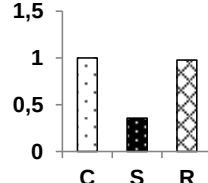
Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan proteinlerden %7'sinin savunma metabolizması ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.37). Lignin biyosentez metabolik yolunda önemli enzimlerden olan **temel peroksidazın** (POD) ifadesi ayçiçeği genotiplerinden Tunca'da (benek:32) değişim göstermiştir. POD ifadesi kuraklık uygulamasında kontrole göre önemli düzeyde (%84) azalmış, iyileşme uygulamasında ise hem stres (7.2 kat) hem de kontrol uygulamalarına (%28) göre artmıştır (Çizelge 4.16).

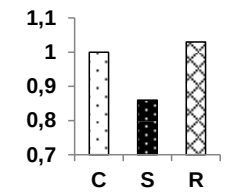
Ayçiçeği genotiplerinde kuraklık uygulamasında patojen ilişkili (PR) proteinler içerisinde yer alan kitinaz grubu proteinlerin ifadelerinin Tarsan-1018 ve Tunca çeşitlerinde değiştiği belirlenmiştir. **Asidik endokitinaz** ifadesi Tarsan-1018'de (benek: 6) kontrole göre strese 4.2 kat ve iyileşmede ise 2.2 kat artarken; Tunca'da (benek: 28 ve 31) strese ve iyileşmede sırasıyla %63 ve %24 ile %64 ve %2 düzeyinde azalışlar göstermiştir (Çizelge 4.16). Tarsan-1018 genotipinde Endokitinaz B'nin (benek: 4) ifadesi strese kontrole göre %14 azalmış olup, iyileşmede artarken bu artış önemli düzeyde bulunmamıştır (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.15. Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan enerji ve solunum metabolizmasına ait proteinler

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
Enerji ve Solunum Metabolizması									
67	P13443	Gliserat dehidrogenaz (<i>Cucumis sativus</i>)	<i>H. ag</i>	41.68/5.95	40.40/7.00	185	17	21	
70	Q56YA5	Serin--glioksilat aminotransferaz (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>H. ag</i>	44.18/7.69	44.00/8.07	91	7	12	
5	P84733	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt ünite II PS17 (<i>Pinus strobus</i>)	Tarsan-1018	83.10/7.40	31.70/4.17	27	4	100	
65	P34921	Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz (<i>Dianthus caryophyllus</i>)	<i>H. ag</i>	36.88/6.46	37.50/7.09	251	13	26	

Çizelge 4.16. Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan savunma metabolizmasına ait proteinler

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genoti p ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
Savunma Metabolizması									
32	Q4W118	Temel peroksidaz (<i>Zinnia elegans</i>)	Tunca	34.22/8.60	34.30/4.40	204	7	14	
6	P29024	Asidik endokitinaz (<i>Phaseolus angularis</i>)	Tarsan-1018	31.68/4.90	28.52/4.30	72	5	5	
28	P36908	Asidik endokitinaz (<i>Cicer arietinum</i>)	Tunca	31.21/4.70	27.70/4.48	60	4	3	
31	P36908	Asidik endokitinaz (<i>Cicer arietinum</i>)	Tunca	31.21/4.70	27.70/4.64	70	4	3	

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
4	P29023	Endokitinaz B (<i>Zea mays</i>)	Tarsan-1018	28.15/8.94	33.5/4.05	46	3	13	

4.3.4. Arjinin Metabolizması

Bitkilerde arjininden üre ve ornitin üretilen reaksiyondan sorumlu olan ve mitokondride yer alan **arjinaz 1** proteininin ifadesi (benek:40) ayçiçeği genotiplerinde yalnızca Tunca genotipinde değişim göstermiştir. Arjinaz ifadesi bu genotipte kuraklıkta %34 azalış gösterirken, iyileşme uygulamasında %11 oranında artmış; ayrıca iyileşmede kuraklığa göre %67 artış göstermiştir (Çizelge 4.17).

4.3.5. Nükleotid Metabolizması

Otofosforilasyon yoluyla fosfatın ATP'den nükleosit difosfatlara transferini katalizleyerek; protein, DNA sentezi ve GTP aracılı sinyal iletim yollarındaki nükleotid dengesini ayarlayarak stabil GTP seviyelerini muhafaza eden **nükleosit difosfat kinaz B**'nin ifadesi (benek: 43), Tunca genotipinde değişmiştir. Proteinin ifadesi kontrole göre strese azalırken (%39), iyileşme uygulamasında %10 oranında artmıştır (Çizelge 4.17).

4.3.6. Yağ Asiti ve Glikolipid Metabolizması

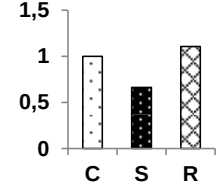
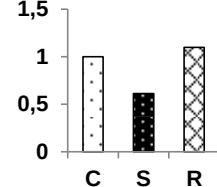
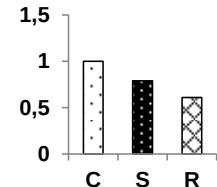
Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan proteinlerden %3'ünün yağ asiti ve glikolipid metabolizması ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.37). Bitkilerde yağ asitlerinin sentezi ile bunu takiben desatürasyonda ve yağ asitlerine açıl transferinde önemli bir kofaktör rolüne sahip olan **açıl taşıyıcı protein 3**'ün (benek: 23), ifadesi yalnızca Tarsan-1018'de değişmiştir. Açıl taşıyıcı protein 3 ifadesi, bu genotipte kuraklık ve iyileşme uygulamalarında kontrole göre (sırasıyla %21 ve %39) ve iyileşme uygulamasında kuraklığa göre %33 azalmıştır (Çizelge 4.17).

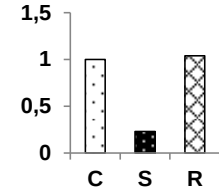
Tilakoid membranlarda yüksek oranda bulunan ve sülfolipid biyosentezinin anahtar enzimi olan **UDP-sülfokinovoz sentaz** protein (benek: 66) ifadesi *H. agrophyllus*'da kuraklık uygulamasında kontrole göre önemli düzeyde (%77) azalmıştır. İyileşme uygulamasında ise strese göre yaklaşık 3.4 kat artmış ve kontrol seviyesinden daha yüksek düzeye ulaşmıştır (Çizelge 4.17).

4.3.7. Protein Metabolizması

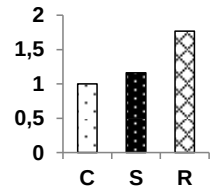
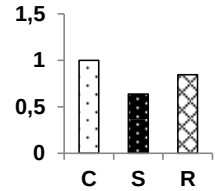
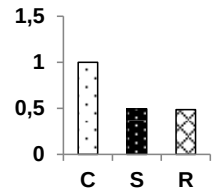
Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan proteinlerden %4'ünün protein metabolizması ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.37). Kloroplastik bir endoribonükleaz olan ve sekansa özgü stem-loop bağlanma aktivitesine sahip **kloroplast stem-loop bağlanma proteini 41 kDa a**'nın ifadesi ayçiçeği genotiplerinde hem Tarsan-1018 (benek: 18) hem de Tunca'da (benek: 45) farklı şekillerde değişim göstermiştir. Tarsan-

Çizelge 4.17. Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan arjinin metabolizması, nükleotid metabolizması ile yağ asiti ve glikolipid metabolizmasına ait proteinler

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneyisel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
Arjinin Metabolizması									
40	P46637	Arjinaz 1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Tunca	37.32/6.11	37.00/6.01	181	14	12	
Nükleotid Metabolizması									
43	P47920	Nükleosit difosfat kinaz B (<i>Flaveria bidentis</i>)	Tunca	16.19/6.43	11.90/6.85	358	12	54	
Yağ Asiti ve Glikolipid Metabolizması									
23	P52413	Açıl taşıyıcı protein 3 (<i>Cuphea lanceolata</i>)	Tarsan-1018	15.08/5.24	18.10/7.90	63	9	35	

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
66	O48917	UDP-sülfokinovoz sentaz (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>H. ag</i>	53.08/8.42	44.20/7.03	129	12	16	

Çizelge 4.18. Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan protein metabolizmasına ait proteinler

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
Protein Metabolizması									
18	Q9LYA9	Kloroplast stem-loop bağlanma proteini 41 kDa a (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Tarsan-1018	43.90/8.54	39.90/6.77	142	10	15	
45	Q9LYA9	Kloroplast stem-loop bağlanma proteini 41 kDa a (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Tunca	43.90/8.54	37.00/6.82	130	7	4	
27	Q1KVV9	30S ribozomal protein S2 (<i>Scenedesmus obliquus</i>)	Tunca	60.19/10.48	24.50/4.55	38	11	23	

1018'de stres ve iyileşme uygulamalarında proteinin ifadesi kontrole göre artarken (sırasıyla %16 ve %77), Tunca'da azalmıştır (sırasıyla %36 ve %15). Her iki genotip için de iyileşme uygulamalarında bu proteinin ifadesi strese göre %52 ve %33 oranlarında daha yüksektir (Çizelge 4.18).

30S ribozomal protein S2 (benek: 27), translasyonda S1'in 30S ribozomal alt-ünitesine bağlanma yolunda son proteinlerden biri olup mRNA'daki genetik şifrenin proteine aktarılmasında hayati öneme sahiptir. Bu proteinin ifadesi ayçiçeğinde Tunca genotipinde kuraklık uygulamalarında kontrole göre %50 azalmıştır (Çizelge 4.18).

4.3.8. Sinyal Metabolizması

Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan proteinlerden %3'ünün sinyal metabolizması ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.37). Plazma zarı H-ATPaz'ın ve ABA ilişkili gen ifadesinin düzenlenmesi ile hücrede sinyal iletiminde görev alan **14-3-3-benzeri protein**'in ifadesinin ayçiçeği genotiplerinde kuraklık uygulamalarında hem Tarsan-1018 (benek: 8) hem de *H. agrophyllus*'da (benek: 52) değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Her iki genotipte de bu proteinin ifadesi kuraklıkta kontrole göre artarken (sırasıyla %17 ve %44), iyileşmede hem kontrol hem de stres uygulamalarına göre önemli düzeyde (sırasıyla %70 ve %45'den fazla) azalmıştır (Çizelge 4.19).

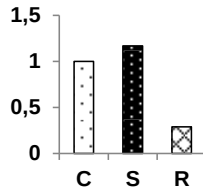
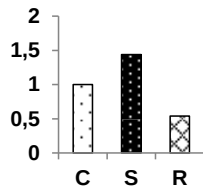
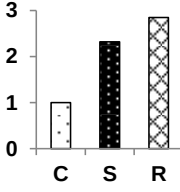
4.3.9. Hücre Çeper Biyogenezi

D-arabinoz 5-fosfat ve fosfoenolpiruvatın, 3-deoksi-D-manno-oktulosonat 8-fosfat (KDO-8 fosfat) ve inorganik fosfat oluşturmak üzere gerçekleştirdiği özgün reaksiyonu katalizleyen **2-dehidro-3-deoksifosfooktonat aldolaz 1** proteininin (benek: 36) ifadesi, Tunca genotipinde hem stres (1.3 kat) hem de iyileşme uygulamalarında (1.8 kat) kontrole göre artış gösterirken; iyileşmede strese göre %23 oranında artmıştır (Çizelge 4.19).

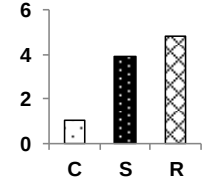
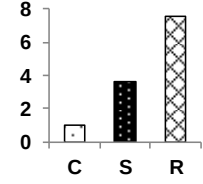
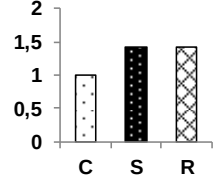
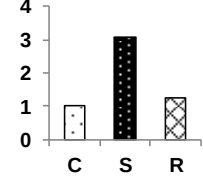
4.3.10. Düşük Peptit Eşleşmesine Sahip Proteinler

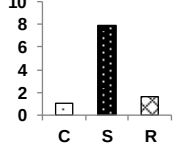
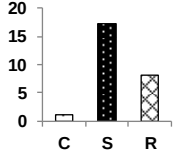
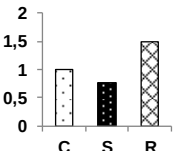
Yapılan analizler sonucunda Tarsan-1018 genotipinde 2, Tunca genotipinde 1 ve atasal genotip olan *Helianthus agrophyllus*'da 4 adet protein beneği düşük peptit eşleşmesi göstermiştir (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.19. Ayçiçeği genotiplerinde tanımlanan sinyal metabolizması ve hücre çeper biyogenezi ile ilişkili proteinler

Benek no	Aksesyon numarası ^a	Protein ismi/ Organizma ^b	Genotip ^c	Teorik MW/PI ^d	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	Eşleşen peptit ^g	Sekans Eşleşmesi (%) ^h	İfade düzeyi ⁱ
Sinyal Metabolizması									
8	O65352	14-3-3-benzeri protein (<i>Helianthus annuus</i>)	Tarsan-1018	28.93/4.65	30.27/4.65	563	31	65	
52	O65352	14-3-3-benzeri protein (<i>Helianthus annuus</i>)	<i>H. ag</i>	28.93/4.65	28.70/4.70	527	31	57	
Hücre Çeper Biyogenezi									
36	Q9AV97	2-dehidro-3-deoksifosfooktonat aldolaz 1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Tunca	31.64/6.33	22.30/5.40	46	5	18	

Çizelge 4.20. Ayçiçeği genotiplerinde düşük peptit skoruna sahip proteinler

Benek no	Protein ismi/Organizma ^b	Genotip ^c	Deneysel MW/PI ^e	Peptit/iyon skoru ^f	İfade düzeyi ^g
3	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Hordeum vulgare</i>)	Tarsan-1018	28.52/4.46	44	
7	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri 2B (<i>Solanum tuberosum</i>)	Tarsan-1018	28.00/4.77	30	
47	H/ACA ribonükleoprotein kompleks alt-ünite 3-benzeri protein (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Tunca	18.05/7.96	37	
48	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri (<i>Malus sp.</i>)	<i>H. ag</i>	15.34/4.26	33	

Benek no	Protein ismi/Organizma	Genotip	Deneysel MW/PI	Peptit/iyon skoru	İfade düzeyi
49	Translasyonel kontrol edilen tümör protein homoloğu (<i>Fragaria ananassa</i>)	<i>H. ag</i>	18.64/4.37	48	
50	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri 2 (<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>)	<i>H. ag</i>	19.20/4.56	26	
53	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt ünite II PS17 (<i>Pinus strobus</i>)	<i>H. ag</i>	44.20/4.48	41	

5. TARTIŞMA

5.1. Ayçiçeği Çeşitlerinin Kuraklığa Tolerans Düzeylerinin Belirlenmesi

Toprakta kullanılabilir su içeriği azaldığında ortaya çıkan kuraklık stresi, bitki büyüme ve gelişmesini etkileyen önemli bir çevresel sorundur [2]. İklimsel modellemeler, 2100 yılına kadar küresel ısınma ve giderek artan transpirasyonun bir sonucu olarak [296, 297] kuraklığın sıklığı ve şiddetinin %1 ile 30 arasında artacağını öngörmektedir [46]. Kuraklık gibi birçok abiyotik stres faktörü, doğrudan veya dolaylı olarak bitkilerin fotosentetik aktivitelerini etkilemektedir [298]. Bitkilerin kuraklık stresine verdiği ilk yanıt, stoma kapanması olup, stomatal sınırlamayı stresin şiddet ve süresinin artmasına bağlı olarak metabolik ve yapısal değişikliklere yol açan ikincil yanıtlar izler [299].

Bitkilerde stres koşullarında fotosentetik aktivitedeki değişimleri ortaya konulabilmek için etkin yöntemlerden biri de, klorofil *a* fluoresans ölçümleridir [298]. Bitkiye zarar vermeyen ve yüksek duyarlılığa sahip olan bu yöntemin strese maruz kalan genotiplerin seleksiyonunda oldukça kullanışlı bir yöntem olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır [272, 300-303]. Klorofil *a* fluoresans ölçümlerinden elde edilen özel fluoresans parametreleri PSII'nin fonksiyonu ve yapısı hakkında oldukça detaylı bilgi vermektedir. Karanlığa uyumlandırılmış yapraklara ışık verilmesi ile O-J-I-P geçişi olarak bilinen polifazik bir klorofil fluoresans eğrisi elde edilir. Bu eğri, fotosentetik aparatların yapısı ve fonksiyonu ile elektron taşınımı hakkında bilgiler vermektedir. Tilakoid zarlardaki enerji akışı teorisini temel alan JIP testi, fotosentezin biyofiziksel yönü ile fluoresans sinyalleri ve fluoresansın analitik ifadeleri arasındaki ilişkinin anlaşılmasına olanak vermektedir [304]. JIP testi ile analiz edilen fluoresans geçişleri, PSII'ye enerji akışının miktarının belirlenmesinde kullanılabilecek çok sayıda parametrenin türetilmesini sağlamaktadır.

Strasser ve ark. [305] tarafından geliştirilen ve bir klorofil *a* fluoresans parametresi olan performans indeksi ($PI = PI_{abs} - PI_{top}$); bitkilerin kuraklığa tolerans düzeylerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır [301]. Performans indeksinin çevresel streslere özellikle kuraklığa karşı toleransını ortaya koymada PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliğine (F_v/F_m) göre daha hassas bir parametre olduğu bildirilmiştir [302]. Performans indekslerinden biri olan PI_{abs} , fotosentezin ışık reaksiyonlarındaki birçok fonksiyonel basamağı birleştirir ve çevresel strese maruz kalan bitkilerdeki fotosentetik etkinliği ortaya koymada yaygın olarak kullanılmaktadır [272, 304, 306]. PI_{abs} , (i) aktif

reaksiyon merkezlerinin yoğunluğu, (ii) fotokimyasal ve fotokimyasal olmayan kullanım ile (iii) uyarılma enerjisinin plastokinon havuzuna doğru elektron taşınımına dönüştürülme etkinliğini kapsayan üç temel işlevsel aşamayı esas almaktadır [307, 308]. PI_{top} ise JIP-testine göre anten, reaksiyon merkezleri, elektron taşınımı ile sistemdeki son elektron alıcısının indirgenmesine kadar bütünleştiren bir parametredir [309]. Kontrol grupları arasında (C, C_M , C_S , C_{RM} ve C_{RS}) PI_{abs} ve PI_{top} değerleri önemli düzeyde değişim göstermemiştir. Performans indeksi (PI_{abs} ve PI_{top}) değerleri ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık uygulamalarında (M-S) kendi kontrolüne göre (C_M - C_S) önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Stres koşullarında bitkilerde gözlemlenen PI_{abs} 'lerdeki azalma, esas olarak, fotosistemler arası elektron taşınım akışındaki azalma ile ilişkili [302, 310], iken PI_{top} 'daki azalış bu stresin elektronun PSI'in son elektron alıcısına kadar olan iletimde de etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca stres koşullarında çeşitlerde azalan nispi su içeriği (Şekil 4.5) ile artan iyon sızıntısı (Şekil 4.8) sonuçları da PI değerlerindeki azalışı destekler niteliktedir. Orta şiddetli kuraklık sonrasında yapılan yeniden sulama uygulamasında (R_M) kuraklığa (M) göre performans indeksleri ayçiçeği genotiplerde genel olarak artmış ve PI (PI_{abs} ve PI_{top}) değerlerinde en fazla artış Tarsan-1018, Bosfora ve Coral çeşitlerinde belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık sonrasında yapılan yeniden sulama uygulamasında (R_S) ise kuraklığa (S) göre PI değerleri Coral ve Duna'da artarken; Bosfora, Hornet ve Sirena'da önemli düzeyde azalmıştır. Sulamada kuraklığa göre PI'ların artması Coral ve Duna'nın stresin fotosentez aktivitesi üzerindeki baskılamayı uzaklaştırmaya çalışıp iyileşme sürecine girdiğini gösterirken; Bosfora, Hornet ve Sirena'daki azalışı bu genotiplerde sulama koşullarında bile stresin sınırlayıcı etkisini devam ettirerek fotosentez aktivitesini azalttığını ortaya koymaktadır. Şiddetli kuraklıkta (S) orta şiddetli kuraklığa (M) göre hem PI_{abs} hem PI_{top} değerleri Tarsan-1018, Şems ve Bosfora hariç diğer çeşitlerde önemli düzeyde azalmıştır. Fotosistemler (PSII ve PSI) ile sistemler arası elektron taşınım aktivitesini bir bütün olarak ortaya koyan PI değerlerin [311] artan kuraklık şiddetinde Tarsan-1018, Şems ve Bosfora'da önemli düzeyde etkilenmemesi, çeşitlerin azalan fotosentetik aktivitesini belirli bir düzeyde sürdürerek strese tolerans göstermektedir. Yeniden sulama uygulamaları karşılaştırıldığında (R_S 'de R_M 'e göre) PI değerleri Duna ve Coral hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azalmış olup, en fazla azalışlar; Sirena, Hornet ve Bosfora'da belirlenmiştir. Yeniden sulama uygulamalarında PI'deki azalma, bu çeşitler için kuraklığın çok etkili (şiddetli ve uzun) ve iyileşme potansiyellerinin de düşük olduğunu göstermektedir. Coral'da PI

değerlerinin her iki kuraklık koşullarında azalırken; yeniden sulama uygulamalarında artmasına rağmen yeterli düzeyde iyileşmenin gerçekleşmemesi bu çeşitte tekrar su alımında su içeriğinin kontrol düzeyine ulaşmaması (Şekil 4.5) ile ilişkili olabileceği gibi membran hasarlarının göstergesi olan iyon sızıntısı oranının azalmamasıyla (Şekil 4.8) da bağlantılı olabilir.

JIP parametrelerinden bir diğeri de DI_0/RC , her bir reaksiyon merkezi başına, eksitasyon enerjisinin fotokimyasal olmayan yayılımını ifade etmektedir [312]. DI_0/RC değerleri tüm çeşitlerde stres uygulamalarında hem kontrollerine hem de birbirlerine göre artmıştır (Şekil 4.3-A). Kuraklıkta DI_0/RC değerinin artmasının, absorbe edilen aşırı ışık enerjisini ısı şeklinde dağıtarak fotosentetik yapıyı foto-oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir [313-315]. İyileşme uygulamaları stres ile karşılaştırıldığında; orta şiddetli kuraklığın sonrasındaki iyileşme uygulamasında Coral, Tarsan-1018 ve Bosfora'da DI_0/RC değeri azalırken; şiddetli kuraklığın sonrasındaki iyileşmede Hornet, Sirena ve Bosfora'da artış, Coral ve Duna'da ise azalış olduğu belirlenmiştir. Bu bağlamda yeniden sulamada DI_0/RC 'nin azalması, absorblanan uyarılma enerjisinin daha etkin bir şekilde fotokimyasal kullanıma yönlendirildiğini göstermektedir. DI_0/RC 'nin artışı ise yakalanan enerjinin; ısı, fluoresans ve diğer sistemlere enerjinin aktarıldığını gösterir [307]. Reaksiyon merkezi başına elektron taşıyıcılarının toplamını ile PS II ve PS I arasındaki elektron taşıyıcılarının durumunu yansıtan S_M değeri, kuraklıkta genel olarak çeşitlerde kontrollerine göre azalmıştır (Şekil 4.3-B). Bu azalış, fotosistemler arasında elektron taşınımının etkilendiğini göstermektedir [316]. Şiddetli kuraklıkta orta şiddetli kuraklığa göre S_M değerlerinin artışı, aktif reaksiyon merkezi sayısının artması ile ilişkili olabilir. Ayçiçeği çeşitlerinin S_M değerleri orta şiddetli kuraklığın sonrasında iyileşme uygulamasında artarken; şiddetli kuraklığın sonrasında iyileşme uygulamasında azalmış ve en fazla etkilenen çeşitlerin Bosfora ve Hornet olduğu belirlenmiştir. Bosfora ve Hornet çeşitlerinde S_M değerleri ile PI değerleri arasında birbirini destekler nitelikte sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.1 ve 4.2). S_M 'deki artış, reaksiyon merkezlerinin kapanması için (plastokinon havuzunun indirgenmesi) gerekli olan enerji ihtiyacının arttığını gösterirken; azalış ise elektron transportunda aksaklıkların olduğunu göstermektedir. PSII'nin tüm reaksiyon merkezleri okside (açık) iken, başlangıç fluoresansını ifade eden F_0 parametresi stres uygulamalarında tüm çeşitlerde kontrollerine göre artmıştır (Şekil 4.3-C). Kuraklık uygulamalarında F_0 'nun artması; fotosistem II'nin donör kısmında fotoinhibisyonun olduğunu

göstermektedir. Ayrıca bu değerdeki artış, reaksiyon merkezlerine antenlerden enerji aktarım etkinliğinin azalması ile de ilişkili olabilir. İyileşme uygulamalarında stres uygulamalarına göre Coral'da azalırken; diğer çeşitlerde genel olarak F_0 değeri artmıştır. Coral çeşidinde DI_0/RC değeri ile birlikte F_0 değerinin azalması (Şekil 4.3-A-C); bu iki parametrenin birbirleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir [317]. PSII anten pigmentleri tarafından enerjinin fotokimyasal olmayan dağılımının genellikle F_0 'da azalmaya neden olduğu bildirilmiştir [318]. Artan F_0 değeri ise (i) elektronların indirgenmiş Q_A 'dan aktarılamaması ve aktif olmayan reaksiyon merkezleri sayısının artmasından ya da (ii) LHCII'nin fotosistem II'den ayrılmasıyla reaksiyon merkezine düşük enerji transferi ile ilişkili olabilir [304]. PSII'nin maksimum kuantum verimini belirleyen TR_0/ABS (F_v/F_m) fotosentetik kapasitenin bir göstergesidir. TR_0/ABS parametresi yapraklardaki stres durumunun ölçümünde sıklıkla kullanılmasına rağmen, yaprakların su düzeyi %30'dan daha fazla oranda azaldığında kuraklığın etkisini gösterebilmektedir [319]. TR_0/ABS değerlerindeki değişim, hem kuraklık uygulamalarında kontrollerine göre hem de yeniden sulama uygulamalarında kuraklığa göre tüm genotiplerde %10'dan daha azdır (Şekil 4.3-D). Performans indeksleri ile birlikte S_M ve F_0 değerleri azalırken; DI_0/RC 'nin artması (Şekil 4.1-4.2-4.3A-B-C) ve buna rağmen TR_0/ABS değerlerindeki değişimlerin önemli düzeyde olmaması, kuraklıkla fotosistem II aktivitesinde kronik fotoinhibisyona neden olacak düzeyde sınırlamalar olmadığını göstermektedir. ET_0/TR_0 değeri ise yakalanan eksitonun Q_A 'dan elektron taşınım zincirine aktarılma etkinliğini ifade etmektedir. Her iki kuraklık uygulamasında ET_0/TR_0 değeri hem kontrollerine hem de kuraklığın şiddetine göre azalmıştır (Şekil 4.3-E). Bu azalış Q_A 'dan itibaren elektron aktarımındaki sınırlamaları göstermesine rağmen azalışın düzeyi inhibisyonun dinamik olduğunu göstermektedir. Şiddetli kuraklık sonrası uygulanan sulamada ET_0/TR_0 değeri Hornet ve Bosfora çeşitlerinde azalırken; Kaan, Duna ve Coral'da artmıştır (%10 oranında). ET_0/TR_0 değerinde yeniden sulama uygulamasında azalış stresin elektron taşınım sisteminde az da olsa olumsuz etkisinin devam ettiğini gösterirken; değer artışı elektron taşınımındaki aksaklıkların giderildiğini göstermektedir. Elektron taşınımının hızını ve verimliliğini ifade eden $PHI(E_0)$, çeşitlerde şiddetli kuraklık uygulamasında genel olarak tüm genotiplerde azalırken; orta şiddetteki kuraklığa göre ise sadece Hornet, Tunca ve Duna çeşitlerinde azalmıştır (%15) (Şekil 4.3-F). Bu çeşitlerden Duna ve Tunca yeniden sulandığında kontrol seviyesine ulaşmasa da iyileşme gerçekleştirmişlerdir.

Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık uygulamalarında aktif reaksiyon merkezi başına absorplanan enerjiyi ifade eden ABS/RC değeri genel olarak artarken, RE_0/ABS (yakalanan foton başına son elektron alıcısına elektron aktarımı; kuantum verimi) ile RE_0/ET_0 (sistemler arası elektron taşıyıcılarının bir elektronu ferrodoksine aktarım etkinliği) değerleri azalmıştır (Şekil 4.4-A, Şekil 4.4-B ve Şekil 4.4-C). ABS/RC parametresindeki artış, muhtemelen inaktif reaksiyon merkezi miktarının veya etkin anten büyüklüğünün artması ile ilişkilidir [313, 320]. Kuraklığa maruz kalan ayçiçeği çeşitlerinde ABS/RC 'ye benzer olarak DI_0/RC değerlerinde de artış belirlenmiş olup (Şekil 4.3-A), bu artış aşırı ışığa karşı korunma mekanizmaları ile ilgili olabilir [298]. ABS/RC 'nin artması ile RE_0/ABS ile RE_0/ET_0 'nun birlikte azalması, son elektron alıcısına elektron aktarımının aksadığını fakat var olan iletimin de bir şekilde devam ederek stres koşullarında fotokimyasal etkinliğin korunmaya çalışıldığını göstermektedir. Bu değişimleri TR_0/ABS , ET_0/TR_0 ve $PHI(E_0)$ parametrelerindeki değişimler de desteklemektedir (Şekil 4.3-D-E-F). Ayrıca ABS/RC , RE_0/ABS ve RE_0/ET_0 parametrelerine göre orta şiddetli kuraklığın devamındaki sulama ile tüm çeşitlerde, şiddetli kuraklığın devamındaki sulamada ise Hornet, Sirena ve Bosfora çeşitleri hariç iyileşme gerçekleşmiştir. Bu üç çeşitte ABS/RC değeri artarken, RE_0/ABS ve RE_0/ET_0 değerleri azalmıştır ve bu azalış stres ortadan kalksa bile eksitasyon enerjisinin yakalanması ile elektron taşınımındaki aksaklıkların artarak devam ettiğinin göstergesidir. Bu bağlamda, şiddetli kuraklık sonrasında yeniden sulama işlevi bitkilerde iyileşme sürecini geciktirebilir. Bu gecikme, bitkilerde kuraklık sinyalinin algılanması ve yanıtın geç oluşturulması veya sulama ile meydana gelebilecek hasarlar nedeni ile olabilir. ET_0/RC parametresi ise reaksiyon merkezi başına elektron taşınımını ifade eder. ET_0/RC değerleri sadece şiddetli kuraklığın devamındaki sulamada Hornet, Sirena ve Bosfora çeşitlerinde %15'den fazla artmıştır ve bu genotiplerde ET_0/RC değerleri ile birlikte ABS/RC 'nin de artışı, inaktif reaksiyon merkezi miktarının arttığının bir göstergesidir [321].

Kuraklık stresi sırasında nisbi su içeriği (NSI) farklı genotiplerin kuraklığa toleransının değerlendirilmesinde önemli fizyolojik parametrelerden biridir [322]. C3 bitkilerinde yaprak NSI için kritik değer yaklaşık % 70 olup, bu değerin altında fotosentetik etkinlikte sınırlamalar ortaya çıkar [298]. NSI hem kuraklık hem de iyileşme uygulamalarında tüm çeşitlerde genel olarak kontrol gruplarına göre önemli düzeyde düşüktür ve bu uygulamalarda NSI istatistiksel olarak en fazla Tunca çeşidinde azalmıştır (Şekil 4.5).

Su içeriğinin kuraklık koşullarında azaldığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır [24, 248, 323-327]. Stres koşullarında NSI'deki azalışın düzeyi hücre membranlarında oluşturduğu hasarın derecesine göre değişmektedir ve azalış düzeyi stres koşulları ortadan kalktığında dokunun rejenerasyonunu sınırlandırabilir [328]. Stres koşullarında en az azalış ile iyileşme koşullarında en fazla artışlar Hornet, Şems ve Tarsan-1018 genotiplerinde belirlenmiştir. Bu sonuçlar belirtilen çeşitlerin stres koşullarında osmotik koruyucu sentezinin artması gibi mekanizmalar ile suyu bünyesinde tutabildiğini gösterirken; iyileşme koşullarındaki ise su içeriğini kontrol seviyesine ulaştırabilecek düzeyde kuraklığa toleransları ile ilişkili olabilir.

Abiyotik stres koşulları, fotosentetik pigmentlerin; özellikle de klorofil içeriğinin önemli düzeyde düşmesine neden olmaktadır [329]. Ayçiçeği çeşitlerinde klorofil (a+b) içeriği kuraklık uygulamalarında önemli düzeyde değişim göstermezken; sadece şiddetli kuraklık sonrası sulamada şiddetli kuraklığa göre Hornet çeşidinde önemli düzeyde azalmıştır. Hornet çeşidindeki bu azalış; pigmentin sentezinin azalmasından ziyade klorofil parçalanmasının artışı ile ilişkili olabilir [329-331]. Bununla birlikte çeşitlerde stres koşullarında performans indekslerinin azalırken (Şekil 4.1-4.2); toplam klorofil a+b düzeyinin önemli oranda değişmemesi, fotosentetik aktivitedeki azalma pigment içeri ile değil, inaktif reaksiyon merkezleri ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Membranları, ışığa bağlı oksidatif hasarlardan koruyan [329] karotenoidler abiyotik/biyotik stres altında sinyalizasyonda da öncü bir rol oynamaktadır [332]. Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık stresi koşullarından klorofil içeriği önemli düzeyde etkilenmemesine rağmen; karotenoid içeriği orta şiddetli kuraklıkta Duna ve Kaan'da; şiddetli kuraklıkta tüm genotiplerde önemli düzeyde artmıştır. Stres koşullarında çeşitlerde karotenoid içeriğindeki artış, bu pigmentlerin kuraklıkta fazla ışık enerjisini absorbe ederek hem fotosistemleri hem de klorofil pigmentlerini ışığın ve kuraklığın zararlı etkilerinden korumaya çalıştığını göstermektedir.

Hücre zarlarının bütünlüğü hakkında bilgi veren iyon sızıntısı kuraklığa toleransın belirlenmesinde ayırt edici bir parametre olarak kullanılmaktadır [333]. Ayçiçeği çeşitlerinde her iki kuraklık uygulamasında ve ayrıca kuraklığı takiben iyileşme uygulamalarında iyon sızıntısı tüm çeşitlerde önemli oranda artmıştır. En fazla artışlar ise Tunca, Kaan, Coral ve Bosfora çeşitlerinde belirlenmiştir. Kuraklık koşullarında iyon sızıntısının arttığını bildiren birçok çalışma bulunmaktadır [334-337]. İyon sızıntısındaki yüksek orandaki artış; stres koşullarının membranlarda hem oksidatif hasara hem de

hücrel fonksiyonlarda bozulmalara neden olarak membran bütünlüğünün bozulduğunu göstermektedir [338]. Su içeriği azalırken; iyon sızıntısının artması fotosentetik aktivitede meydana gelen azalmaların stomatal olmayan engellemelere bağlı olduğunu gösteriyor olabilir. Yeniden sulama koşullarında ise Hornet, Duna Şems ve Tarsan-1018’de önemli düzeyde azalması, bu çeşitlerin membranlarda oluşan hasarları tamir etmeye çalışan mekanizmaları devreye sokması ile ilişkili olabilir.

Ayçiçeği çeşitlerinde kuraklık toleransının belirlenmesi için KFI ve IFI ile birlikte fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerden elde edilen hasar indeksleri ile iyileşme potansiyelleri hesaplanarak çeşitler, tolerans düzeylerine göre sınıflandırılmıştır. Buna göre; Şems, Tarsan-1018 ve Sirena kuraklığa toleranslı; Hornet, Tunca ve Duna kuraklığa orta derecede toleranslı ve Coral, Kaan ile Bosfora kuraklığa duyarlı çeşitler olarak belirlenmiştir.

5.2. Seçilen Ayçiçeği Çeşitleri ile Atasal Melezlerin Kuraklık Toleranslarının Karakterizasyonu

Bitkilerin gelişim evresi ile ilişkili olarak kuraklık stresine karşı oluşturdukları cevaplar kuraklığın süresi ve şiddetine bağlı olarak değişim göstermektedir. Bitkilerin kuraklığa toleransı, su kaybını azalttığı kısa süreli hücrel cevaplar ile fizyolojik ve gelişimsel süreçlerin yeniden şekillendirildiği uzun süreli cevapları kapsamaktadır [234]. Kuraklık stresi, bitkilerde biyokütle birikiminde ve büyüme hızında azalma gibi çok sayıda olumsuz etkilere neden olmaktadır [58]. Yapılan bu çalışmada tüm genotiplerde bitki boyu, kuraklık uygulaması ile genel olarak azalırken, yeniden sulama ile iyileşme sürecine girmiş ve bu süreçte en iyi gelişme gösteren genotipler, Tarsan-1018 ve Kaan olmuştur. Kuraklık uygulamalarında genotiplerin yaprak sayısındaki değişimlerin bitki boyu ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.9 ve 4.11). Stres koşullarında tüm ayçiçeği genotiplerinin taze ağırlığı genel olarak önemli düzeyde azalırken, yeniden sulama ile gerçekleşen iyileşme en iyi Tarsan-1018 çeşidinde saptanmıştır (Şekil 4.12). Genotiplerin taze ağırlığında belirlenen azalışlar su içeriği sonuçları ile de uyumludur (Şekil 4.16). Ayrıca, kuraklığın etkisini doğrudan gösteren ve seçici bir parametre olan kuru ağırlık (biyokütle) sonuçları, stres koşullarında toleranslı genotiplerde kuru ağırlığın önemli düzeyde değişmediğini; duyarlı çeşitlerde ise önemli düzeyde etkilendiğini ve bu genotiplerin iyileşme potansiyellerinin de toleranslı genotiplere göre daha düşük olduğunu göstermektedir (Şekil 4.14 ve 4.15). Toleranslı çeşitlerde kuraklık uygulaması ile bitki boyu, yaprak sayısı ve biyokütledeki azalmalar

stoma kapanmasına bağılı olarak transpirasyonun azalması ve su kaybının en aza indirgenmesi ile ilişkili olabilir [339]. Ayçiçeği yerel ve atasal genotiplerinde kuraklık stresinin toplam biyokütle, bitki boyu ve kuru madde içeriğinde azalmalara neden olduğunu bildiren bir çok çalışma bulunmaktadır [10, 340-342]. Bitki boyu ile kuru ve taze ağırlık tolerans indeksleri ve iyileşme potansiyelleri değerlendirildiğinde; atasal melezler ve Tarsan-1018 genotipleri kuraklık stresi koşullarında bitki boyu uzamasını ve yaprak çıkışını sınırlayarak ve toplam biyokütledeki değişimi de çok etkilemeden, stresin olumsuz etkilerinin üstesinden gelerek dayanım göstermiştir (Şekil 4.10, 4.13 ve 4.15).

Yaprak su içeriği, dokulardaki su durumunun bir göstergesidir. Su içeriğinin azalması, bitkide turgor kaybı ve solma, stomaların kapanması, fotosentetik aktivitenin azaltılması gibi diğer birçok temel metabolik süreçlerde değişime neden olmaktadır (Şekil 4.16). Ayçiçeğinin yerel ve atasal genotiplerinde kuraklıkla nisbi su içeriğinin; Tarsan-1018'de ve atasal melezlerde %10 düzeyinde azalırken, duyarlı çeşitlerde %25-%45 oranında azaldığı belirlenmiştir. Yapılan birçok çalışmada kuraklık stresinin bitkilerdeki oransal su kapsamını önemli düzeyde azalttığı bildirilmiştir [96, 205, 343-345]. Yeniden sulama sürecinde ise toleranslı genotiplerde nispi su içeriği kontrol düzeyine ulaşarak iyileşme sağlanmıştır. Ayçiçeğinde toleranslı genotiplerin (Tarsan-1018 ve Ha*Ha) diğerlerine göre su içeriğini daha yüksek tutabilmesi osmotik koruyucu olan glisin betain artışı ile ilişkili olabilir (Şekil 4.30). Bununla birlikte ayçiçeği çeşitlerinde su içeriğindeki değişimler fotokimyasal etkinlikteki değişimler ile benzerlik göstermiş olup (Şekil 4.17-4.23), duyarlı genotiplerde NSİ'nin %30'un altına düşmemesine rağmen fotosentezin ve membranların kuraklıktan etkilendiği görülmektedir (Şekil 4.26) [346] .

Kuraklık, soğuk ve tuzluluk gibi çevresel streslerde fotosentezde meydana gelen değişimler üzerinde önemli bir role sahip olan fotosistem II (PSII)'nin fotokimyasal aktivitesi birçok çalışma ile incelenmiştir [272, 299, 347, 348]. Ayçiçeği genotiplerinde yaşa bağılı olarak kontrol grupları (C, C_S ve C_R) arasında fotosentez aktivitesinde meydana gelen değişimlerin istatistiksel yönden anlamlı olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.17-4.23). Bu çalışmada ayçiçeği genotiplerinde duyarlı çeşitlerin (Kaan ve Tunca) toleranslı genotiplere (Tarsan-1018, Ha*Ha ve Ha*Hd) göre fotosentez aktivitesinin daha fazla etkilendiği belirlenmiştir.

Karanlığa uyumlandırılmış yapraklarda PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliğini ifade eden F_V/F_M [349] ile PSII'nin donör kısmındaki O₂ oluşturuucu kompleksin

etkinliğini ortaya koyan F_v/F_0 parametreleri kuraklık koşullarında ayçiçeği genotiplerinde sadece duyarlı çeşitler olan Kaan ve Tunca'da önemli düzeyde azalmış ve yeniden sulama koşullarında iyileşme gerçekleşmemiştir (Şekil 4.17 ve 4.18). Toleranslı genotiplerde F_v/F_M 'in önemli düzeyde değişmemesi, PSII ve PSI aktivitelerinin etkilenmediğini göstermektedir [350]. Duyarlı çeşitlerde F_v/F_M ve F_v/F_0 oranının azalması ise kuraklığın artan şiddetinde, PS II reaksiyon merkezleri tarafından eksitasyon enerjisinin yakalanması ve dönüştürülme oranının azalması ile birlikte suyun hidrolizinin aksamaması ve dolayısıyla PS II'nin fotokimyasal verimliliğinde bir düşüş olduğunu ortaya koymaktadır [351, 352]. Ayrıca stres koşullarının, PS II'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği (F_v/F_M) ile O_2 oluşturan kompleksin etkinliği (F_v/F_0) üzerindeki olumsuz etkisinin, iyileşme sürecinde de devam etmesi PSII aktivitesinde muhtemel hasarların tetiklendiği anlamına gelmektedir [317].

Işığa uyumlandırılmış yapraklarda fotosistem II'nin gerçek fotokimyasal etkinliğini ifade eden $\Phi PSII$, elektron aktarımında kullanılacak enerjinin etkinliğini direkt olarak değerlendirme olanağı sağlar [353]. Ayçiçeği genotiplerinde stres koşullarında Ha^*Hd hariç $\Phi PSII$ düzeyi tüm genotiplerde azalmıştır. Yeniden sulama ile strese göre, $\Phi PSII$ değeri Tarsan-1018 ve Ha^*Ha 'da artarak kontrol düzeyine ulaşmış ve iyileşme sağlanmıştır (Şekil 4.19). Genotiplerin $\Phi PSII$ değerlerindeki azalmalar F_v'/F_M' , ETR ve qP 'deki azalışlar ile benzerlik göstermektedir (Şekil 4.20-4.22). Işığa uyumlanmış yapraklarda PSII'nin enerji yakalama etkinliğini ifade eden F_v'/F_M' değerleri hem stres hem de iyileşme koşullarında duyarlı genotipler olan Kaan ve Tunca'da önemli düzeyde azalmıştır ve yeniden sulama bu çeşitlerin toparlanamadığı gözlenmiştir (Şekil 4.20). Q_A 'nın redoks durumunun bir yansıması olan qP ışığın fotokimyasal kullanımını ifade eder [298] ve ayçiçeği genotiplerinde qP 'deki düşüş (Şekil 4.22) kapalı PS II reaksiyon merkezlerinin oranındaki artıştan kaynaklanabilir [354]. Ayrıca, duyarlı genotiplerde PSII'nin fotokimyasal etkinlikteki azalışlar fotokimyasal kullanımdan ziyade, enerjinin yakalanma etkinliğinin azalması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [347]. Elektron taşınım hızı (ETH) stres koşullarında tüm genotiplerde azalırken, yeniden sulama ile yalnızca Tarsan-1018 (%12) ve Ha^*Ha 'da (%10) artış göstererek kontrol düzeyine ulaşmıştır (Şekil 4.21). qP ile birlikte ETH'nin azalışı, kuraklık koşullarında stomatal kapanma ile uyarılan yüksek CO_2 direncine bağlı olarak fotokimyasal aktivitenin etkilenmesi ile ilişkilidir [355].

Aşırı eksitasyon enerjisinin oluşturduğu basınca karşı enerjinin ısı şeklinde dağılımı ile PSII'nin korunmasında önemli bir role sahip olan NPQ, ışığın fotokimyasal olmayan

kullanımını ifade eder. Bu çalışmada stres ve iyileşme uygulamalarında genel olarak genotiplerdeki NPQ değişimlerinin anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.23). Tüm fotosentetik parametreler birlikte ele alındığında atasal melezler ile Tarsan-1018 çeşidinin diğer ayçiçeği çeşitlerine göre kuraklığın oluşturduğu fotosentez aktivitesindeki inhibisyonların daha iyi üstesinden gelebildiğini göstermiştir (Çizelge 4.9). Bu genotiplerde kuraklığa maruz kalma esnasında PSII'nin daha az hasarla işleyişini sürdürebilmesi, fotokimyasal verimliliği devam ettirmesi, yeniden sulama ile gerçekleşen iyileşmeyi destekler niteliktedir [356]. Fotosentezde gelen aşırı ışık enerjisini yakalayan ve ısı şeklinde dağıtarak, membranlarda peroksidasyonlara karşı koruyan önemli yardımcı pigment grubu da karotenoidlerdir. Bunun yanı sıra, karotenoidler stres koşullarının algılanmasında ve bitkinin gelişim evrelerinde sinyal molekülü olarak da rol oynamaktadır [105, 329]. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ışığın absorpsiyonu ve enerjinin, reaksiyon merkezlerine iletilmesinden sorumlu olan [310] klorofil a+b içeriği sadece duyarlı çeşit olan Kaan'da önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.24). Klorofil içeriğindeki bu azalışın nedeni, kuraklığın indüklediği oksidatif hasar nedeniyle sentezi artan ROS'ların hem klorofil molekülünün yapısını bozması hem de kloroplastta yapısal hasara neden olması ile ilişkili olabilir [343, 354, 357]. Bu çeşitte pigment miktarının azalışı eksitasyon enerjisinin yakalanma etkinliğinin azalışı ile uyumludur (Şekil 4.20). Atasal melezler ile toleranslı çeşitler (Tarsan-1018 ve Şems) antenlerindeki mevcut klorofil içeriği ile fotosentetik etkinliği stabil tutarak ve fotosentetik aparatlarını fotoinhibisyonlara karşı koruyarak, kuraklığa karşı tolerans kazanmışlardır. Bununla birlikte duyarlı çeşit olan Tunca'da fotosentez aktivitesi stres koşullarında azalırken, toplam pigment içeriğinin değişmediği saptanmıştır. Tunca'da muhtemelen fotosistemlerdeki inaktif reaksiyon merkezlerinin fazla olması nedeni ile klorofil a+b tarafından absorbe edilen eksitasyon enerjisinin yeterli düzeyde fotokimyasal yola aktarılamadığının bir göstergesi olabilir (Şekil 4.22 ve 4.24). Ayrıca, ayçiçeği genotiplerinde stres koşullarında karotenoid içeriği genel olarak artış gösterirken, sadece Kaan ve Tunca'daki artış anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.25). Bu çeşitlerde genel olarak kuraklıkta toplam klorofil içeriği azalırken, karotenoid içeriğinin artması fotoooksidasyonlara karşı koruma ve ROS'ların detoksifikasyonunda rol almaları ile ilişkili olabilir [358].

Kuraklık stresinin bitki metabolizması üzerindeki önemli etkisi, hücre membranlarındaki değişikliklerle kendini gösterir ve stres membran işlevlerinde ciddi bozukluklara neden olur [359]. Oksidatif stres lipid yapısını, membran organizasyonunu ve bütünlüğünü

bozan lipid peroksidasyonuna neden olur [360-362]. Stres koşullarında lipid peroksidasyon ürünü olan MDA içeriği tüm ayçiçeği genotiplerinde önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.26). Ha*Hd ile Tarsan-1018 genotiplerinde stres koşullarında lipid peroksidasyonlara karşı membran bütünlüğünün korunmasında antioksidan savunma enzimlerinin etkin bir rol oynadığı görülmektedir (Şekil 4.31-4.36). Kuraklık stresi, ikinci bir stres olarak ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi yoluyla membran bütünlüğünün bozulması, protein denatürasyonu ve diğer biyomoleküllerin oksidatif hasarına neden olarak da oksidatif stresi tetikler. Bitkilerde uzun süreli su eksikliği ile birlikte stomaların kapanması ve CO₂ sınırlamasına bağlı olarak fotosentez hızında azalmalara neden olur [79]. Bu koşullarda fotosentetik elektron taşıyımındaki inaktivasyonlar ROS'ların oluşumuna yol açar [90]. Hidrojen peroksit (H₂O₂) ya süperoksit radikalinden (O₂⁻) kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenen reaksiyon sonucunda oluşur ve düşük konsantrasyonlarda sinyal molekülü gibi davranan bu molekül yüksek konsantrasyonlarda ise toksik etkiye sahiptir [99]. Bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal aktivitelerinin devamlılığı için stres koşulları altında H₂O₂ içeriğinin düşük seviyelerde tutulması önemlidir [363]. Duyarlı genotiplerde stres koşullarında H₂O₂ içeriği artarken, iyileşme koşullarında azalmıştır, fakat yine de kontrole göre önemli düzeyde yüksektir. Stres koşullarında H₂O₂ içeriğinin duyarlı genotiplerde diğerlerine göre daha yüksek olması ise, H₂O₂ kaynağının sadece SOD aktivitesinin olmadığını düşündürmektedir. Ayrıca kuraklık stresinde bitkilerde H₂O₂ birikimine paralel olarak MDA miktarının da artması hücre zarlarında da hasar olduğunu ve bu hasarın iyileşme koşullarında çeşitli savunma ve tamir mekanizmalarını devreye sokarak üstesinden gelmeye çalıştığını göstermektedir (Şekil 4.27).

Kuraklık koşullarında hem yüksek ışık hem de ROS'lara karşı fotosentetik aparatı korumak için bitkiler tarafından kullanılan bir diğer mekanizma da, antosiyanin gibi düşük molekül ağırlıklı antioksidanların birikimidir [364]. Bu çalışmada ayçiçeği genotiplerinde antosiyanin içeriği stres koşullarında önemli düzeyde artarken, iyileşme uygulamasında strese göre anlamlı düzeyde azalmış ancak bu azalma kontrol seviyesine düşmemiştir (Şekil 4.28). Antosiyaninler gibi şikimik asit yolundan sentezlenen flavonoidler de bitkileri UV radyasyonu ve patojenlere karşı koruma ile birlikte H₂O₂'nin detoksifikasyonunda görev alır [365, 366]. Ayçiçeği genotiplerinde flavonoid içeriği, antosiyanin içeriği ile benzer cevaplar vermiştir (Şekil 4.29). Toleranslı

genotiplerde flavonoid içeriğindeki değişimler ile antosiyanin, MDA, H_2O_2 ve glisin betaindeki değişimler uyumludur (Şekil 4.26-30). Bununla birlikte, Nakabayashi ve ark. [367], aşırı flavonoidin (ve antosiyanin) sentezinin kuraklığa karşı toleransı arttırmada önemli rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Kuartern yapıları amonyum bileşiklerinden biri olan glisin betain (GB) fizyolojik pH'da nötr olarak bulunan ve stres koşullarında bitkilerde koruyucu role sahip olan dipolar bir moleküldür. GB esas olarak kloroplastlarda bulunur ve tilakoid membranları ile RuBisCO ve oksijen oluşturma kompleksi gibi fotosentetik aparatların diğer önemli bileşenlerini stresle indüklenen inaktivasyon ve ayrışmadan korurken, fotosentetik verimliliği muhafaza eder [368]. Aynı zamanda GB'nin, proteinlerin kuaterner yapısını koruması (dolayısıyla enzim aktivitesinin muhafaza edilmesi) birikiminin stres toleransı ile pozitif ilişkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, şaperon aracılığıyla protein parçalanmasında doğrudan role sahip olan GB [369] protein biyosentezinin inhibisyonunu engelleyerek stres koşullarında PSII onarımını artırır [370]. Bu çalışmada GB miktarı atasal melezler ve toleranslı çeşitlerde stres koşullarında artarken; iyileşme koşullarında azalmış olup bu değerler kontrole göre önemli oranda yüksektir (Şekil 4.30). GB sentezinin stres koşullarında antosiyanin, flavonoid ve antioksidan savunma sistemleri ile benzer sonuçlar göstermesi bu molekülün kuraklık stresinin neden olduğu etkilerin üstesinden gelmede diğer savunma moleküllerine ve mekanizmalarına katkı sağlamaktadır (Şekil 4.28, 4.29, 4.31-4.36). Bununla birlikte, artan GB sentezi, strese maruz kalan bitkilerde aşırı H_2O_2 üretimini azaltmada yardımcı olabilir [371].

Strese bağlı olarak çeşitli süreçler sonucu ortaya çıkan ROS'lar oksidatif hasarı tetiklemektedir. Oluşan bu ROS'ların detoksifikasyonu ise ancak etkin bir antioksidan savunma sisteminin aktivasyonu ile mümkün olmaktadır. Antioksidatif savunma sistemlerinde yer alan enzimatik ve enzimatik olmayan metabolitlerin düzeylerindeki artışın pek çok bitkide kuraklığa tolerans mekanizmasında rol aldığı bildirilmiştir [352]. Antioksidan enzim aktiviteleri kuraklıkta tüm genotiplerde önemli düzeyde artarken, iyileşme koşullarında strese göre azalmıştır (Şekil 4.31-4.36). SOD, süperoksit molekülünü H_2O_2 'ye dönüştürerek oksidatif stres ile başa çıkmak ve böylece bitkilerin normal fizyolojik süreçlerini muhafaza etmek için en güçlü bitki antioksidanlarından biri olup [372], oksidatif strese karşı verilen savunma cevabında ilk savunma hattını oluşturur [373, 374]. İlk savunma hattı olan SOD'un aktivitesiyle oluşan ürünün (H_2O_2)

ortamdan uzaklaştırılmasında Asada-Halliwell-Foyer (askorbat-glutasyon döngüsü) metabolik yolunda görev alan APX ve GR ile POD aktivitesinin kuraklıkta duyarlı genotiplerde, toleranslı çeşit ve atasal melezlere göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.32-4.34). H₂O₂ detoksifikasyonunda görev alan bu enzimlerin aktivitelerinin duyarlı genotiplerde daha düşük olması toleransta yeterli olmadığını göstermektedir. Yüksek APX, GR ve POD aktiviteleri, stres koşulları altında artan ROS üretimi ile ilişkili olup kuraklığa toleranslı genotiplerin, daha iyi H₂O₂ uzaklaştırma yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir [105, 375]. Çeşitli çevresel streslere (kuraklık ve metal stresi gibi) karşı bitkilerin toleransında POD aktivitesinin önemli bir biyomarkör olabileceği bildirilmiştir [376, 377]. H₂O₂'nin detoksifikasyonunda yer alan POD aktivitesinin yerel Tarsan-1018 (7.5 kat) ve atasal melezlerdeki (6.5-7.5 kat) artışı, bu enzimin ayçiçeğinin kuraklığa toleransının belirlenmesinde bir araç olarak kullanılabilme potansiyelini desteklemektedir. CAT enzim aktivitesindeki artışların daha düşük olması bu enzimin H₂O₂'nin ortamdan uzaklaştırılmasında diğer enzimler kadar etkin rol almadığını göstermektedir.

Glikozun aldehit formunu içeren çeşitli karbonil metabolitlerinin şeker alkol olan sorbitole indirgenmesini katalizleyen NADPH bağımlı aldoz redüktaz (ALR) enzimi; hem hayvanlarda hem de bitkilerde stres koşullarında sitoplazmanın osmotik dengesinin sürdürülmesi ve makromoleküllerin korunmasında görev alan monomerik yapıda sitozolik bir proteindir [378, 379]. Bununla birlikte tuzluluk ve kuraklık gibi osmotik streslere maruz kalan çeşitli organizmalarda ALR'nin ROS ile reaktif karbonillerin süpürülmesinde de rol oynadığı bildirilmiştir [380-383]. Ayçiçeği genotiplerinde diğer antioksidan enzimlerde olduğu gibi stres koşullarında ALR enzim aktivitesi tüm genotiplerde önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.36). Toleranslı genotiplerde stres koşullarında artan ALR düzeyinin iyileşmedeki azalmasına rağmen anlamlı düzeyde kontrole göre yüksek olması enzimin etkinliğinin devam ettiğini göstermektedir. Bu toleranslı genotiplerde uygulamalardaki ALR aktivitesindeki değişimler, MDA ve H₂O₂ gibi zar hasarlarını gösteren parametreler ile uyumluluk göstermektedir (Şekil 4.26-4.27). ALR'yi aşırı ifade eden transgenik bitkilerdeki gelişmiş kuraklık toleransı özellikle lipid peroksidasyon ürünlerinin detoksifikasyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir [382]. Ayrıca ALR kuraklığa toleranslı *Xerophyta viscosa* bitkisinden tütüne aktarılan aldoz redüktaz geninin (*ALDRXV4*) ifadesi ile artan ALR aktivitesinin fotosentetik aparatta stres kaynaklı hasarın

hafifletilmesinde rolü olduğu bildirilmiştir [383]. Ayçiçeğinde stres koşullarında toleranslı genotiplerde duyarlılara göre fotosentez aktivitesinin daha az etkilenmesinde ALR'nin rolü olduğunun göstergesi olabilir.

İkinci aşamadan elde edilen bulgular incelendiğinde atasal melezler ile Tarsan-1018 çeşidinin kuraklığın üstesinden gelebilmek için bitki büyümesini azaltırken, savunma ve tamir mekanizmalarını devreye sokarak kuraklıkla baş etmeye çalıştığı tespit edilmiştir. Bu genotiplerde stres koşullarına bağlı olarak zar hasarlarının düşük olması ile birlikte fotosentez aktivitesi ve pigment içeriğinin diğer genotiplere göre daha az olumsuz yönde etkilenmesi, savunma ve onarımda görev alan antosiyanin, flavonoid, glisin betain ve antioksidan sistemler gibi mekanizmaların etkin bir şekilde çalıştığını ve aktivitesini devam ettirebildiğini göstermektedir. Duyarlı genotipler olan Kaan ve Tunca'da ise strese bağlı olarak hücrel membranlardaki yapısal bozulmalar ile birlikte ROS sentezinin artması ve savunma sistemlerinin aktivasyonunun yeterli olmaması bu genotiplerin stresin üstesinden gelebilmesi için gerekli olan dengenin bozulması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Analizi yapılan parametreler doğrultusunda genotiplere hasar indeksleri ve iyileşme potansiyellerine göre atasal melezlerde Ha*Ha-toleranslı ve Ha*Hd ise daha az toleranslı olarak belirlenmiştir. Çeşitler ise toleranslıdan duyarlıya doğru; Tarsan-1018, Şems, Kaan ve Tunca şeklinde sıralanmıştır (Çizelge 4.13). Tezin III. aşamasında kuraklığa bağlı olarak toleranslı ve duyarlı çeşitlerde proteom değişimlerindeki farklılıkları ortaya koyabilmek için yerel çeşitlerden toleranslı-Tarsan-1018 ve duyarlı-Tunca çeşitleri ile toleranslı atasal melez Ha*Ha'nın atası olan *Helianthus agrophyllus* kullanılmıştır.

5.3. Kuraklık ve İyileşme Uygulamalarında Ayçiçeği Proteomundaki Değişimler

Genomik teknolojiler ile birlikte proteomik; genlerin, transkriptlerin ve proteinlerin geniş ölçekli analizlerini sağlayarak biyolojik süreçlerin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olmaktadır [204, 384]. Proteomun geniş çaplı analizinin yapılabilmesine imkan veren proteomik, bitkilerde kuraklık toleransının araştırılması ile strese/toleransa bağlı yeni/mevcut proteinlerin tanımlanmasına, post translasyonel modifikasyonlar ile protein-protein etkileşimlerinin incelenmesine olanak sağlar [206].

Tezin bu aşamasında toleranslı (Tarsan-1018) ve duyarlı (Tunca) genotipler ile pozitif kontrol olarak atasal ayçiçeği *Helianthus agrophyllus*'un kuraklık ve iyileşme koşullarında yaprak proteomlarında meydana gelen değişimler 2 boyutlu jel

elektroforezinden belirlenen protein profillerinin karşılaştırılması ile ortaya konulmuştur. Jellerdeki protein profilleri üzerinden PDQest yazılımı ile yapılan analizlerde her bir genotip için 720 ± 30 adet protein beneği belirlenmiş ve yapılan uygulamalar arası karşılaştırmada MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi ve MASCOT veri tabanı kullanılarak ifadesi kendi kontrolüne göre 2 kat değişim (artış/azalış) gösteren 70 protein beneğinden 63 tanesi protein skoru ve kalan 7 tane benek ise peptid iyon skoru düzeyinde tanımlanmıştır. STRING veri tabanı kullanılarak protein-protein etkileşim ağları oluşturulmuş (Şekil 5.3) ve tanımlanmış proteinler fonksiyonlarına göre 9 farklı kategoride sınıflandırılmıştır (Şekil 4.37).

Fotosentez ve karbohidrat metabolizması, bu kategorilerin ilki olup, kuraklık uygulamalarında belirlenen proteinlerin %63'ünü kapsamaktadır. Tilakoid membranlardaki fotosistemlerin ışık toplayıcı kompleksinin bir parçası olan klorofil a/b bağlanma (LHCB) genlerinin ifadesi ışık, oksidatif stres, kloroplast sinyali, sirkadyan ritim ve ABA sinyalini de içeren pek çok çevresel ve gelişimsel olay tarafından düzenlenmektedir [385]. Işığın soğurulmasında yardımcı rol oynayan **klorofil a/b bağlanma proteinleri**'nin kuraklık ile birlikte ifadelerinin toleranslı genotiplerde arttığı duyarlı olanlarda ise azaldığını bildiren birçok çalışma bulunmaktadır [216, 251, 386]. Bu çalışmada, duyarlı genotip olan Tunca'da klorofil a/b bağlanma proteini ifadesi strese azalmıştır. Bu durum, PSI'in ışığın absorplanması ve elektron transferini sınırlandırması ile ilişkilidir ve fotosentetik aktivitede belirlenen azalış bu sonuçları desteklemektedir (Şekil 4.2,4.21,4.22). Ayçiçeğinde **klorofil a-b bağlanma proteini 13**'ün ifadesi atasal genotipte kuraklıkla artarken duyarlı çeşitte azalış göstermiştir. Domates bitkisi ile yapılan çalışmada, CAB-13 gen ifadesinin azalmasının, PSII ile LHCIİ kompleksinin yapısı, bileşimi ve kararlılığında değişimler meydana getirdiği ve fotosistemler arasında ışığın toplanmasının dengelenmesinde düzenleyici rolü olduğu bildirilmiştir [387]. Her üç genotipte de tanımlanmış olan **klorofil a-b bağlanma proteini 8**'in ifadesi kuraklık ve iyileşme uygulamalarında genotipler arasında farklılık göstermektedir. Bununla birlikte atasal genotipte hem stres hem iyileşme uygulamalarında LHCIİ ile ilişkili klorofil a-b bağlanma proteini 13 (CAB) ifadesinde artış ve LHCI ile ilişkili klorofil a-b bağlanma proteini 8'in ifadelerinde belirlenen azalışlar bu genotipin ışık reaksiyonlarında PSI'deki enerjisinin yakalanmasındaki azalışı PSII'deki enerji artışı ile dengelemeye çalıştığını göstermektedir.

Kuraklık stresi altında, fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında, ATP sentezi ile ilişkili proteinlerdeki değişimler de yer almaktadır. F_0F_1 -ATPaz olarak da bilinen ATP sentaz, kloroplastlarda tilakoid lümen ile stroma arasında oluşan H^+ (proton) gradiyentini kullanarak inorganik fosfat (P_i) ve ADP'den ATP sentezlenmesini sağlayan enzimdir. ATP sentaz alt birimlerinin kuraklık ve iyileşme uygulamalarında her üç genotipte de ifadelerinde değişimler meydana gelmiştir (Çizelge 4.14; Şekil 5.1). Ayçiçeği genotiplerinde **ATP sentaz delta zinciri**'nin ifadesi kuraklık ve iyileşme uygulamalarında (atasal genotip hariç) artış gösterirken, **ATP sentaz gama zinciri 1** ile **ATP sentaz alt ünite beta** ifadesi azalmıştır. Tarsan-1018'de ATP sentaz delta zinciri'nin ifadesinin artarken ATP sentaz gama zinciri 1'in azalması, Tunca'da ise ATP sentazın yapısında yer alan delta zinciri ile alt ünite betanın farklı şekilde ifade olması ATP sentezinin sekteye uğraması ATP sentazın etkin bir şekilde aktivite gösterememesi ile ilişkili olabilir. ATP sentaz alt birimlerinin farklı şekillerde ifade göstermeleri duyarlı bitkilerin kuraklıkta CO_2 indirgemesi için gerekli olan ATP ihtiyacını yeterince karşılayamadığını göstermektedir.

Oksijen oluşumunu arttırıcı protein bitkilerde (i) suyun parçalanmasında manganez kümesinin optimizasyonu ve (ii) reaksiyon merkezindeki proteinlerin oksijen radikali hasarından koruma şeklinde iki temel fonksiyona sahiptir. Kuraklık ve tuzun meydana getirdiği osmotik stresin bitki proteomunda oksijen oluşumunu arttırıcı protein 2'nin ifadesini arttırdığı bildirilmiştir [388-390]. Duyarlı genotipte **oksijen oluşumunu arttırıcı protein 2**'nin (OEE2) ifadesi artmıştır (Çizelge 4.14). Bu çeşitte ATP sentazın yapısında yer alan delta zinciri ile alt ünite betanın farklı şekilde ifade olması, ATP sentezinin sekteye uğradığını ve bununla birlikte OEE2 ifadesinin stresle artması ise ortamda bulunan H^+ konsantrasyonunun arttığını ve bunun etkin bir şekilde ATP sentezinde kullanılmadığının göstergesi olabilir. OEE2'nin protein konsantrasyonunda kuraklıkla azaldığını bildiren araştırmalar bulunmaktadır [254, 391, 392]. Buna karşın, bu proteinin ifadesi atasal genotipte stres uygulamasında azalış göstermiş ve iyileşme uygulamasında da azalış devam etmiştir. *Helianthus agrophyllus*'ta oksijen oluşumunu arttırıcı protein 2 ile ATP sentaz delta zinciri'nin benzer düzeyde azalış göstermesi suyun parçalanması ile ortaya çıkacak H^+ miktarı ile ATP sentezinin eş zamanlı olarak azaldığını ve bu sayede ortam asiditesinin korunmasına ve hücrel fonksiyonların optimum düzeyde gerçekleşmesine katkı sağlamakla ilişkili olabilir.

Fotosistem I reaksiyon merkezi alt ünite IV B (PsaE) proteini bitkilerde; ferredoksinin hem PSI'e yerleşmesinde hem de ferredoksin-NADP oksidoredüktaz ile etkileşiminde ve ayrıca PsaC ile PSI çekirdeği arasındaki etkileşimin düzenlenmesinde görev alır. Fotosistem I reaksiyon merkezi alt ünite IV B'nin ifadeleri toleranslı ve duyarlı çeşitlerde farklı şekilde değişimler göstermiştir (Çizelge 4.14). Toleranslı çeşitte protein ifadesi kontrole göre önemli düzeyde artış gösterirken, duyarlı genotipte hem stres hem de sonrasındaki iyileşme sürecinde azalmıştır. Tuz ve kuraklık koşullarında bu protein ifadesinin buğday ve keten bitkilerinde azalış gösterdiği bildirilmiştir [393, 394]. Bu proteinin ifadesinin duyarlı genotipte kuraklık koşullarında azalırken ve LHCI ile ilişkili klorofil a-b bağlanma proteini 8'in ifadesinin artması PSI tarafından yakalanan enerjinin arttığını ancak, bu enerjinin etkin bir şekilde elektron aktarımına gönderilmediğini ortaya koymaktadır.

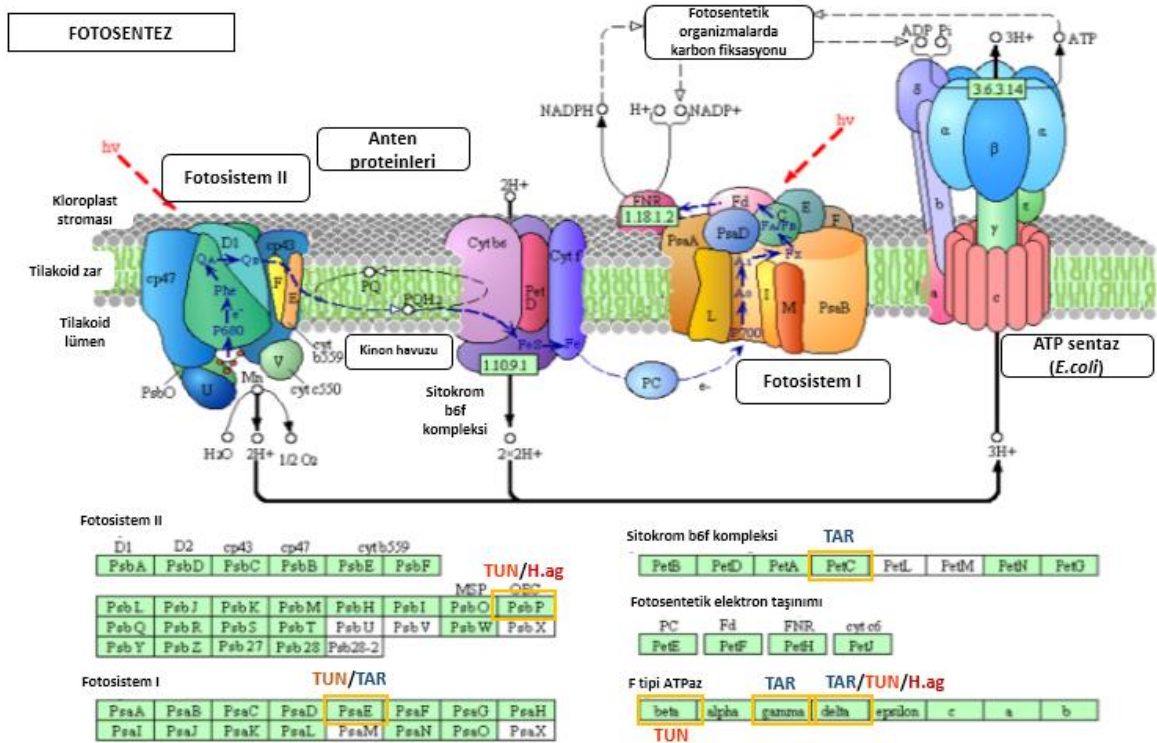
Hem siklik elektron transferi, hem de tilakoid membranlarda fotosistemler arasında doğrusal elektron transferinde görev alan **sitokrom b6-f kompleksinin** bir alt birimi olan **demir kükürt alt birimi**'nin (petC) ifadesi toleranslı çeşitte kuraklıkla azalmış, iyileşmede ise kontrol seviyesine geri dönmüştür. Kamal ve ark., [395] kuraklık uygulamasında petC ifadesinin azaldığını ve bu azalmanın fotosentezi olumsuz yönde etkilediğini ifade etmiştir. Toleranslı genotipte petC ifadesinin kuraklıktaki azalması fotosentezi sınırlandırarak ETS'yi aşırı eksitasyondan korumaya çalışması; iyileşmedeki artış ise kuraklığın yol açtığı bu sınırlamanın bertaraf edilmesi ile ilişkili olabilir.

Kuraklık koşullarında ayçiçeği genotiplerinde fotosentezin ışık reaksiyonlarında görev alan bazı proteinlerin ifadesindeki değişimler ile fotosentetik aktivitenin etkilendiğini ve bu durumun karbon reaksiyonlarındaki bazı proteinlerin ifadelerine yansıdığı tespit edilmiştir. Bitkilerde CO₂ fiksasyonunun birinci basamağında anahtar enzim olan RuBisCO, 8 büyük ve 8 küçük alt birimden oluşmaktadır. Yapılan bu çalışmada tüm ayçiçeği genotiplerinde kuraklık koşullarında **RuBisCO küçük zinciri**'nin ifadesi genel olarak tüm genotiplerde azalış gösterirken, **RuBisCO büyük zinciri**'nin ifadesi yalnızca Tarsan-1018'de tanımlanmış ve artmıştır (Çizelge 4.14-Şekil 5.2). Yapılan pek çok çalışmada RuBisCO küçük ve büyük zincirinin proteinin ifadelerinin kuraklık stresinin süresi ve şiddeti ile ilişkili olarak farklı düzeylerde değişim (artış/azalış) gösterdiği tespit edilmiştir [225, 234, 246, 247, 249, 250, 396]. Kuraklık koşullarında genotiplerde farklı pl ve moleküler ağırlıkta küçük RuBisCO alt birimlerinin protein jeller

üzerinde belirlenmesi; bu proteinlerin degregasyon ürünü, muhtemel splays varyantları, translasyon sonrası modifiye olmuş izoformları ya da aynı proteinin parçalanmış izoformları olmasından kaynaklanabilir [397, 398]. Toleranslı genotiplerde (Tarsan-1018 ve *H.agrophyllus*) yeniden sulama sonrasında RuBisCO hem küçük alt birimlerinin ifadelerindeki artışlar CO₂ bağlanma etkinliğinin artması ile ilişkili olabilir. RuBisCO ile birlikte RuBisCO aktivaz stres koşulları altında net fotosentezin birincil sınırlayıcı enzimlerini oluşturmaktadır [399]. Moleküler şaperon özelliğine sahip olan RuBisCO aktivaz, osmotik stres koşulları altında proteolizin hafifletilmesi ile düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır [400]. RuBisCO aktivaz, ifadesinin atasal genotipte kuraklıkta azalması ve iyileşme koşullarında artması, uygulamalarda ortamdaki aktif RuBisCO düzeyinin değişimi ile ilişkilidir ve hem stres hem de iyileşme koşullarında ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincirlerin ifadelerindeki değişimler de bu bulguyu destekler niteliktedir. Kuraklıkla birlikte artan sıcaklığa RuBisCO aktivazın duyarlı olduğu bildirilmiştir [401]. Bu genotipte iyileşme sürecinde RuBisCO aktivaz ifadesindeki artış kloroplastın kuraklık stresi boyunca işleyişinin sürdürülmesinde rol oynayabilir. RuBisCO aktivitesi, RuBisCO aktivaz enzimi tarafından düzenlenir, bu işlevi inaktif RuBisCO'dan enerji (ATP) harcayarak şeker fosfatı uzaklaştırarak düzenler. Kuraklık koşullarında RuBisCO aktivitesindeki bozulmaların ATP konsantrasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [398]. Bu sonuç atasal genotipte ATP sentaz delta zincirindeki azalış ile de uyumludur (Çizelge 4.14).

Ksiloz-5-fosfatın, ribuloz-5-fosfata dönüşümünü katalizleyen Calvin döngüsü enzimlerinden **ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz** her üç ayçiçeği genotipinde de tanımlanmış olup (Çizelge 4.14-Şekil 5.2), protein ifadesi sadece toleranslı atasal genotiplerde kuraklıkta artmıştır. Raorane ve ark. [228] ile Cheng ve ark. [223] tarafından kuraklık uygulaması ile bu protein ifadesinin arttığı bildirilmiştir. Buna karşın, bu proteinin ifadesi çeşitlerde kuraklıkla azalırken, iyileşmede artması ise ribuloz 1,5-bisfosfatın rejenerasyonunu sağlayarak dayanıma katkıda bulunmuştur.

Dihidroksiaseton fosfat ile D-gliseraldehit-3-fosfat arasında hızlı ve geri dönüşümlü aldoz/ketoz dönüşümünü gerçekleştiren **trioz fosfat izomeraz**ın ifadesinin toleranslı Tarsan-1018 çeşidinde; streste hemen hemen değişmeyip, iyileşmede ise %96'lık artış



Şekil 5.1. KEGG veri tabanı kullanılarak genotiplerde tanımlanan ve fotosentezin ışık reaksiyonunda görev alan proteinler (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

göstererek kontrol seviyesinin de üzerine çıkmıştır (Çizelge 4.14). Trioz fosfat izomerazın artan ifadelerinin tuz ve kuraklık streslerine karşı tolerans mekanizmasında yer alan proteinlerden biri olduğunu bildirilmiştir [398, 402].

Fotosentetik Calvin döngüsünün düzenlenmesinde önemli bir role sahip olan **sedoheptuloz-1,7-bisfosfataz** ifadesi kuraklık koşullarında atasal genotipte azalırken iyileşmede kontrol seviyesinden fazla ifade edilmiştir (Çizelge 4.14). Das ve ark. [254] da kuraklık koşullarında soyada bu enzimin ifadesinde azalış tespit etmiştir. Kuraklıkta sedoheptuloz-1,7-bisfosfataz ifadesindeki azalma fotosentetik kapasitedeki azalış ile ilişkili olabilirken, iyileşme koşullarındaki artış ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz ile birlikte Calvin döngüsünün etkinliğini artırmaya katkıda bulunmuştur.

Fotosentezde RuBP'nin rejenerasyonunda anahtar role sahip olan **fruktoz 1,6-bisfosfat aldolaz** (FBPA) ifadesi hem kuraklık hem de iyileşme uygulamalarında Tunca'da artış göstermiştir. Kuraklık koşulları altında bu enzimin ifadesinin ABA bağımlı yol tarafından artırıldığı düşünülmektedir ve bu enzim ifadesindeki az bir değişimin de şeker ve nişasta seviyesinde önemli değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir [403].

Bitkiler, sitozolik ve kloroplastik olmak üzere iki tip gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaza (GAPDH) sahiptir. Bunlardan kloroplastik GAPDH, Calvin döngüsünün fotosentetik karbon asimilasyonunun tek indirgeyici adımını katalize eder. Toleranslı genotipte **gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz A** ifadesi kuraklıkla azalırken iyileşme ile artmış olup (Çizelge 4.14), patates bitkisinde GAPDH'in artan ifadesinin kuraklık toleransındaki artış ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir [404]. Ayrıca, GAPDH'in kuraklık toleransı ile anlamlı bir pozitif korelasyona sahip olduğu bildirilmiştir [208].

Ayçiçeği genotiplerinde **enerji ve solunum metabolizmasında** görev alan 4 protein tanımlanmıştır. Bu proteinlerden fotosolunumda peroksizomda görev alan; gliserat ve hidroksipirüvat arasında NAD^+ bağımlı reaksiyonu katalize eden **gliserat dehidrogenaz** ve glioksilat ile serinden, glisin ile hidroksipirüvat oluşumunu katalizleyen **serin--glioksilat aminotransferaz** (SGAT) enzimlerinin *H. agrophyllus*'da stres koşullarında ifadelerinde azalmalar saptanmıştır (Çizelge 4.15). SGAT'nin kuraklık koşullarında mısırdaki ifadesinin azaldığı tespit edilmiştir [405]. Glisin betainin öncüsünün sentezinde yer alan gliserat dehidrogenaz'ın (GDH) kuraklıkla birlikte bitkilerde birikimi bildirilmiştir [406]. Atasal genotipte GDH ifadesinin kuraklıkla birlikte azalması ve iyileşmede artması, glisin betain miktarındaki değişimler ile uyumluluk göstermektedir (Şekil 4.30). Ayrıca, bu enzimlerin ifadelerinde kuraklıkta meydana gelen azalmalar fotorespirasyonun fotosistemleri hasara karşı korumada yeterince etkin olmadığını göstermektedir. Atasal genotipte glikolizde yer alan **gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz**'ın ifadesinin streste azalırken iyileşme koşullarında artması, bitkinin oluşan hasarın tamirinde gerekli enerji ihtiyacını karşılamak için glikoz metabolizmasının teşvik edilmesi ile ilişkili olabilir.

Solunum zincirinin merkezi enzimi olan **sitokrom c oksidazın alt birimlerinden olan alt ünite II PS17 proteini (muhtemel)**, Tarsan-1018'de tanımlanmış olup bu proteinin ifadesi kuraklık ve iyileşme uygulamalarında azalmıştır (Çizelge 4.15). Budak ve ark., [250] da yabani buğdayda kuraklık koşullarında bu protein ifadesinin azaldığını bildirmiştir. Oksidatif fosforilasyonda görev alan proteinlerin ifadesinin kuraklıkta azalmasının senesensi geciktirme ile ilişkili olabileceği de belirtilmiştir [407].

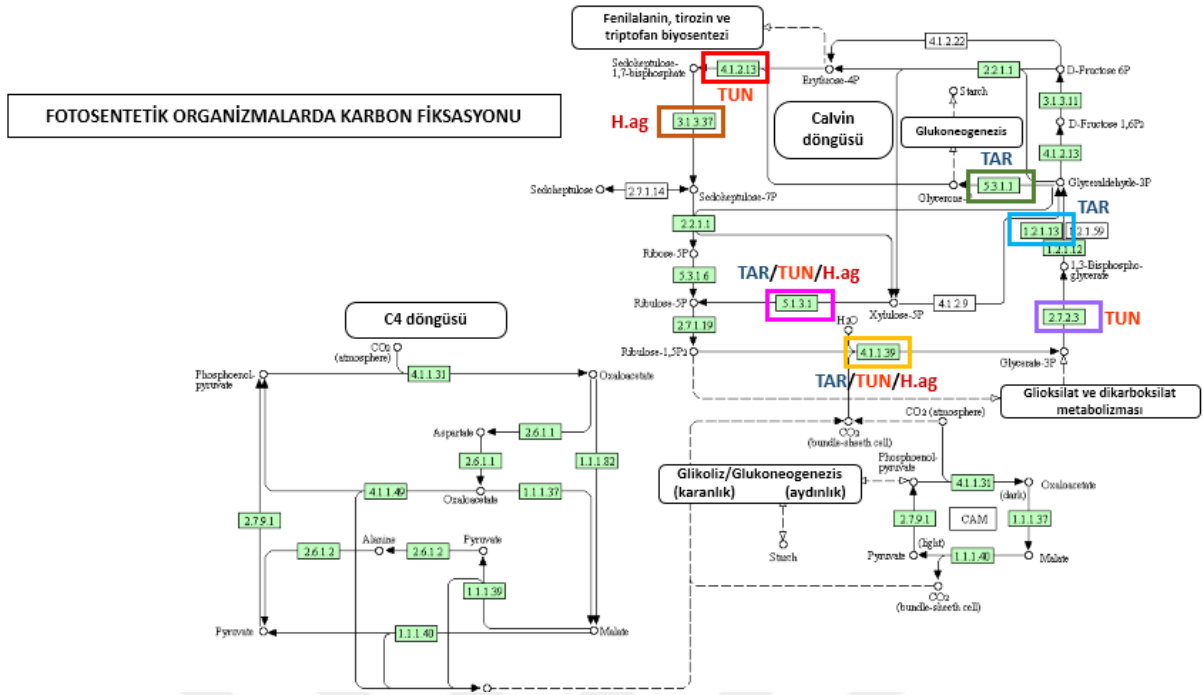
Stres koşulları altında bitkilerin toleransı için **savunma metabolizmasında** görev alan 3 adet protein saptanmıştır. Ayçiçeği genotiplerinde savunma metabolizmasında yer alan **peroksidaz**; fenolik bileşikler, lignin öncülleri, oksin ve sekonder metabolitler gibi çeşitli elektron vericilerini kullanarak H_2O_2 'nin indirgenmesini katalize eden bir

enzimdir. Proteomik çalışmalarda kuraklığa dayanıklı pirinç [228] ve meşede [227] POD miktarının artması ile reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda bu enzimin önemi belirtilmiştir. Duyarlı genotipte toplam POD enzim aktivitesi kuraklık koşullarında önemli düzeyde artarken, iyileşme uygulamasında azalması bulgusu; bu proteinin ifadesi ile uyumlu bulunmamıştır (Şekil 4.34-Çizelge 4.16). Bu durum savunma metabolizmasında belirlenen peroksidazın, muhtemelen POD'un izoformlarından biri olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada patojen ilişkili proteinlerden (PR) **asidik endokitinaz** ve **endokitinaz B** enzimleri, Tarsan-1018 ve Tunca genotiplerinde tanımlanmıştır. Kuraklık ve iyileşme uygulamalarında bu enzimlerin ifade değişimleri genotipler (Tarsan-1018'de artış ve Tunca'da azalış) arasında farklılık göstermektedir (Çizelge 4.16). Dani ve ark. [419] tütün bitkisinde tuz stresi uygulamasında bitkilerin savunma sistemlerinin zayıf olduğu durumlarda, ikincil streslere karşı (patojen gb) savunma amacıyla kitinaz grubu proteinleri de içine alan PR proteinlerini devreye soktuğunu ifade etmiştir. Ayrıca, Lee ve ark. [420], su stresine cevap olarak ABA birikiminin kitinaz gibi PR proteinlerinin ekspresyonunu uyarabileceğini bildirilmiştir.

Arjinin metabolizmasında görev alan; üre, ornitin ve poliamin sentezi ile ilişkili mitokondriyal bir enzim olan **arjinaz 1**'in ifadesi Tunca çeşidinde kuraklıkta %34 azalış gösterirken, iyileşmede kuraklığa göre artmıştır (Çizelge 4.17). Wang ve ark. [408] arjinaz enzim aktivitesinin stres uygulamasında azaldığını ifade etmiştir. Ayrıca, Shi ve ark. [409] arjinaz mutantları ile yaptıkları çalışmalarında kuraklıkta, arjinazı aşırı eksprese eden bitkilerde yabancılar göre daha fazla su kaybı olduğunu belirlemişlerdir. Duyarlı genotipte kuraklıkta bu enzim ifadesindeki azalma bitkinin daha fazla su kaybindan kaçınmak için gerçekleştirdiği bir strateji olabileceği düşünülmektedir.

Nükleotid metabolizmasında görev alan ve hücrel sitozin trifosfat (CTP), guanozin trifosfat (GTP) ve uridin trifosfat (UTP) seviyelerinin düzenlenmesi ve korunmasında ATP'yi kullanan **nükleosit difosfat kinaz B**'nin ifadesi Tunca çeşidinde kontrole göre stres uygulamasında azalırken (%39), iyileşme uygulamasında kontrol seviyesine ulaşmıştır (Çizelge 4.17). Mushtaq ve ark. [410] bu protein ifadesinin kuraklıkla azaldığını tespit etmiştir. Nükleosit difosfat kinaz B ifadesinin kuraklıkta azalması protein ve DNA sentezi ile birlikte nükleosit difosfat seviyesinin azaldığını, iyileşmede ise protein ifadesini artırarak bu bileşiklerin hücrel düzeyinin korunmasına katkı sağlamak için gerçekleştiği düşünülmektedir.



Şekil 5.2. KEGG veri tabanı kullanılarak genotiplerde tanımlanan ve fotosentezin karbon fiksasyonunda görev alan proteinler (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

Yağ asiti ve glikolipid metabolizmasında görev alan ve bitkilerde yağ asitlerinin sentezi için açıl grubunun yağ asitlerine transferini gerçekleştiren **açıl taşıyıcı protein 3**'ün ifadesi yalnızca Tarsan-1018'de kuraklık ve iyileşme uygulamalarında azalış göstermiştir (Çizelge 4.17). Xu ve ark. [411] pirinç bitkisinde tuz stresi altında açıl taşıyıcı protein ifadesinin azaldığını belirlemiştir. Bu proteinin ifadesinin toleranslı genotipte stres uygulamalarında azalması yağ asiti biyosentezinin degregasyonunun artması ya da yağ asiti *de novo* sentezi ile ilgili aksaklık olabileceğini göstermektedir. Sülfolipid biyosentezinin en önemli basamağı olan UDP-sülfokinovozun sentezi, **UDP-sülfokinovoz sentaz** (SQD1) enzimi tarafından katalizlenmektedir. Fosfatidilgliserol ile birlikte sülfolipidler, fotosentetik zarların işlevini yerine getirebilmesi için gerekli olan negatif yüklü bir lipid-su arayüzünün korunmasına katkıda bulunur [412]. UDP-sülfokinovoz sentaz ifadesi atasal genotipte kuraklıkta kontrole göre azalırken iyileşmede ise kontrol düzeyine ulaşmıştır (Çizelge 4.17). Kuraklık koşullarında SQD1 ifadesindeki azalış tilakoid membranlarda meydana gelen hasarı gösterirken; iyileşme koşullarındaki artış ise, bu hasarın tamir edilebildiğini göstermektedir. Atasal genotipte, enerji ve solunum metabolizmasında yer alan gliserat dehidrogenaz ve serin--gliksilat aminotransferaz ile yağ asiti ve glikolipid metabolizmasında görev alan UDP-sülfokinovoz sentaz'ın ifadelerinin azaldığı da belirlenmiştir (Çizelge 4.15). Bu genotipin kuraklıkta her üç metabolik yoldaki aktiviteyi sınırlandırarak olumsuz

koşullarla başa çıkabildiğini ve devamındaki sulama ile de iyileşme sürecine girdiğini göstermektedir.

Öncü mRNA'ların işlenmesi ve olgun mRNA'ya dönüşmesinde önemli role sahip endoribonükleaz olan ***kloroplast stem-loop bağlanma proteini 41 kDa a'nın*** ifadesinin stres ve iyileşme uygulamalarında Tarsan-1018'de kontrole göre arttığı; Tunca'da ise azaldığı tespit edilmiştir. Bu proteinin *Arabidopsis*'te homologu olan CSP41B'nin ifadesinin ABA ve su stresi tarafından baskılandığı belirlenmiş olup, bu azalmanın plastid biyogenezini engellediği ve ayrıca kloroplastta RNA metabolizmasında değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir [413]. Tarsan-1018 genotipinde kuraklık uygulamasında bu protein ifadesindeki artış fotosentezde görev alan ve kuraklık koşullarında ifadesi artan proteinler ile ilişkili olabilir. ***30S ribozomal protein S2***; translasyonda S1'in 30S ribozomal alt-üniteye bağlanması için gerekli olup mRNA'daki translasyonda hayati öneme sahip bir proteindir. Bu proteinin ifadesi duyarlı Tunca genotipinde kuraklık uygulamalarında kontrole göre %50 azalış göstermiştir (Çizelge 4.18). Protein biyosentezinde görev alan ribozomal proteinlerin alt birimi olan ve strese karşı belirteç olarak kullanılan [414], 30S ribozomal protein S2'nin, pirinç bitkisinde tuz stresi altında ifadesinin azaldığı belirlenmiştir [411]. Protein metabolizmasına yer alan Kloroplast stem-loop bağlanma proteini 41 kDa a ile 30S ribozomal protein S2'nin ifadelerinin Tunca'da streste benzer şekilde azalış göstermesi kuraklıkla birlikte protein sentezinin olumsuz yönde etkilendiğini göstermektedir.

Sinyal metabolizmasında yer alan ve fosfoserintreonin bağlanma molekülleri olan 14-3-3 proteinleri, protein kinaz C regülasyonu, ADP ribozillenmesi ve transkripsiyon faktörleri ile birlikte transkripsiyonun düzenlenmesinde görev alır [415]. ***14-3-3-benzeri*** proteinin ifadesi, Tarsan-1018 ve atasal genotipte kuraklıkta kontrole göre artarken, iyileşme uygulamasında ise önemli düzeyde azalış göstermiştir (Çizelge 4.19). Hücre zarı H-ATPaz'ın sinyalizasyonunda rol aldığı bilinen 14-3-3 proteinlerin, *Arabidopsis*'de ve pamuk bitkisinde aşırı ifadesinin, kuraklık stresine toleransın ayarlanmasını sağladığı bildirilmiştir [416-418]. Bununla birlikte, kuraklığa toleranslı transgenik pamukta 14-3-3 proteininin aşırı ifadesi stomanın açılmasını teşvik ederek transpirasyon ve fotosentez oranını artırarak toleransta etkili olduğu bildirilmiştir [415, 418].

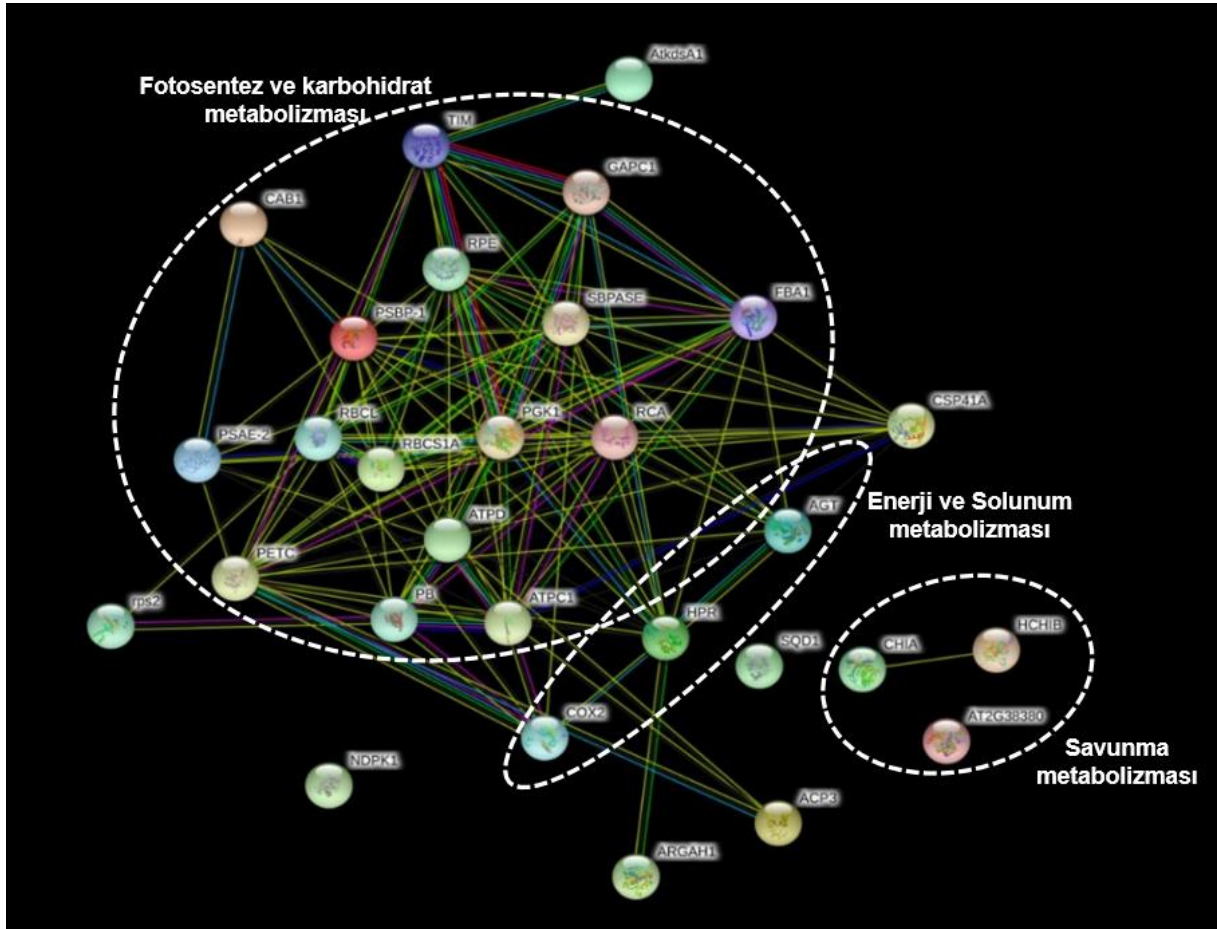
Tanımlanan proteinlerden ***2-dehidro-3-deoksifosfooktonat aldolaz 1 hücre çeper biyogenezinde*** görev almaktadır. Bu proteininin ifadesi, duyarlı genotipte hem stres

hem de iyileşme uygulamalarında kontrole göre önemli düzeyde artış göstermiştir (Çizelge 4.19). 2-dehidro-3-deoksifosfooktonat aldolaz 1 enzimi, 3-deoksi-D-manno oktulusunat (KDO) biyosentezinde görev almaktadır ve KDO hücre çeperi polisakkaritlerinden ramnogalaktorounan II'nin önemli şeker bileşenlerindendir. Bu protein ifadesinin Tunca'da stres uygulamalarında artması, stres koşulları altında membran hasarına karşı lipopolisakkarit sentezini artırarak membran yapısının stabilizasyonu sağlamaya çalışması ile ilişkili olabilir.

Ayçiçeğinde kuraklık ve iyileşme uygulamalarında ifadelerinde önemli düzeyde değişim saptanan proteinlerin birbirleri ile doğrudan (fiziksel) ve dolaylı (işlevsel) ilişkileri ile protein-protein etkileşimlerinin değerlendirmesini ve entegrasyonu sağlayan STRING veri tabanı kullanılarak etkileşimleri saptanmıştır. Bu analiz tanımlanan proteinlerin aksesyon numaralarının *Arabidopsis thaliana*'da tanımlanan ve özdeş olan proteinler üzerinden gerçekleştirilmiştir (Çizelge 5.1). Yapılan analizler sonucunda tanımlanan proteinlerin büyük çoğunluğunun fotosentez ve karbohidrat metabolizmalarında yer aldığı saptanmıştır (Şekil 5.3). Bunun yanı sıra solunum ve enerji metabolizmasında yer alan proteinler ile fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında yer alan proteinler yakın etkileşim halindedir. Savunma metabolizmasında yer alan proteinler (CHIA ve HCHIB) kendi arasında farklı bir grup oluşturmakta ve diğer proteinlerden ayrı bölgede yer almaktadır. Kloroplast stem-loop bağlanma proteini 41 kDa a, 2-dehidro-3-deoksifosfooktonat aldolaz 1, 30S ribozomal protein S2, arjinaz 1 ve açıl taşıyıcı protein 3; fotosentez ve karbohidrat ile solunum ve enerji metabolizmasında yer almamasına rağmen bu metabolizmalarda görev alan proteinler ile etkileşim halindedir. Nükleosit difosfat kinaz B, temel peroksidaz ve UDP-sülfokinovoz sentaz enzimleri diğer proteinler ile doğrudan veya dolaylı bir bağlantı göstermemiş olup toplam ağ görüntüsü içerisinde tek tek dağılım sergilemiştir.

Çizelge 5.1. Ayçiçeğinde tanımlanan proteinlere *Arabidopsis*'te özdeş olan proteinler ile gen isimleri

Aksesyon numarası	Protein ismi	<i>Arabidopsis</i> 'te özdeş aksesyon numarası	<i>Arabidopsis</i> 'te özdeş gen ismi
P27489	Klorofil a-b bağlanma proteini 13	P04778	CAB1
P29795	Oksijen oluşumunu arttırıcı protein 2	Q42029	PSBP-1
Q41229	Fotosistem I reaksiyon merkezi alt ünite IV B	Q9S714	PSAE-2
Q39743	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1	P10795	RBCS1A
P08705- P07089	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zinciri	B3H5S2	RBCS
P45738	Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir	O03042	RBCL
Q43843- Q43157	Ribuloz-5-fosfat 3-epimeraz	Q9SAU2	RPE
Q9M4S8	Trioz fosfat izomeraz	Q9SKP6	TIM
Q42961	Fosfogliserat kinaz	Q9LD57	PGK1
P32980	ATP sentaz delta zinciri	Q9SSS9	ATPD
Q01908	ATP sentaz gama zinciri 1	Q01908	ATPC1
Q1KXV2	ATP sentaz alt ünite beta	P19366	PB
P46285	Sedoheptuloz -1,7-bisfosfataz	P46283	SBPASE
P34921	Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz	P25858	GAPC1
P19866	Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz A	P25856	GAPA
Q40281	Ribuloz bisfosfat karboksilaz/oksijenaz aktivaz	P10896	RCA
P16096	Fruktoz 1,6-bisfosfat aldolaz	Q9SJU4	FBA1
O49078	Sitokrom b6-f kompleksi demir-kükürt alt ünitesi	Q9ZR03	PETC
P13443	Gliserat dehidrogenaz	Q9C9W5	HPR
Q56YA5	Serin--glioksilat aminotransferaz	Q56YA5	AGT
P84733	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt ünite II PS17	P93285	COX2
Q4W118	Temel peroksidaz	P24102	AT2G38380
P36908- P29024	Asidik endokitinaz	P19172	CHIA
P29023	Endokitinaz B	P19171	HCHIB
P46637	Arjinaz 1	P46637	ARGAH1
P47920	Nükleosit difosfat kinaz B	P39207	NDPK1
P52413	Açıl taşıyıcı protein 3	P25702	ACP3
O48917	UDP-sülfokinovoz sentaz	O48917	SQD1
Q9LYA9	Kloroplast stem-loop bağlanma proteini 41 kDa a	Q9LYA9	CSP41A
Q1KVV9	30S ribozomal protein S2	P56797	rps2
Q9AV97	2-dehidro-3-deoksifosfooktonat aldolaz 1	Q9AV97	AtkdsA1



Şekil 5.3. Ayçiçeğinde tanımlanan proteinlerin *Arabidopsis*'te özdeşlerinin etkileşimleri ve yer aldıkları metabolizmalar (STRING veritabanı-<http://string-db.org>).

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Günümüzde iklimsel değişimlere bağlı olarak ortaya çıkan ve etkisi giderek hissedilen kuraklık, yağlı tohumlu bitkilerde verim kayıplarına yol açan en önemli stres faktörlerinden biridir. Yağlı tohum üretiminde dünyada 4. sırada yer alan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), yüksek düzeyde doymamış yağ asitleri içeriği ile ülkemizde en fazla ekimi yapılan yağlı tohumlu bitkidir. Tohumlarındaki yağ içeriğinin yanı sıra, yüksek oranda protein, selüloz ve mineral maddeye sahip olan ayçiçeği; boya, kozmetik, kimyasal madde, kâğıt ve biyodizel üretiminde ham madde olarak da kullanılmaktadır.

Ayçiçeği bitkisinin büyüme ve gelişiminde özellikle çiçeklenme öncesi dönemde topraktaki suyun noksanlığı, bitki verimini (tane ve yağ) etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Bu dönemde kuraklığın ayçiçeği bitkisi üzerindeki etkisinin incelenmesi, bitkinin yapısında ve metabolizmasında meydana gelen değişimlerin aydınlatılması ve toleranslı genotiplerin belirlenmesi açısından önemlidir. Bu kapsamda, ayçiçeği bitkisinin (yerel ve atasal genotipler) kuraklığa karşı geliştirdiği tolerans mekanizmaları; morfolojik, fotosentetik, fizyolojik, biyokimyasal ve proteom düzeyinde incelenmiş ve **ilk kez** ayrıntılı olarak ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Tezin I. aşamasında farklı şiddette ve sürede kuraklığa maruz kalan ayçiçeği çeşitlerinde stresin etkisi, fotosentetik performansları ile fizyolojik ve biyokimyasal yanıtları açısından değerlendirilmiş ve çeşitler tolerans düzeylerine göre sınıflandırılmıştır:

- Kuraklıkta azalan su içeriğine bağlı olarak, fotosentetik etkinliğin azalması (enerjinin yakalanması ve transferini ile fotosistemler arası elektron taşınımındaki aksaklıklar, inaktif reaksiyon merkezleri sayısındaki artış gibi) membranların bütünlüğünü etkileyerek çeşitlerde farklı düzeylerde dinamik fotohasarlara yol açmıştır. Sulama ile oluşan hasarları tamir edebilen çeşitler iyileşmeyi başarmışlardır.
- Fotosentetik performansları ile fizyolojik ve biyokimyasal verilerden hesaplanan kuraklık ve iyileşme faktör indeksleri ile hasar düzeyleri ve iyileşme potansiyelleri değerlendirildiğinde ayçiçeği çeşitlerinden; Şems, Tarsan-1018 ve Sirena kuraklığa toleranslı; Hornet, Tunca ve Duna kuraklığa orta derecede toleranslı ve Coral, Kaan ile Bosfora kuraklığa duyarlı olarak sınıflandırılmıştır.

Tezin II. aşamasında, seçilen ayçiçeği çeşitleri ile atasal melezlerin kuraklığa dayanım kapasiteleri, fotosentetik ve antioksidant enzim aktiviteleri ile bunların fenotipteki yansımaları değerlendirilerek karakterize edilmiştir:

- Bu aşamada toleranslı genotipler, duyarlı çeşitlere göre stresin üstesinden daha etkin bir şekilde gelmişlerdir. Toleranslı genotipler anten komplekslerindeki fotosentetik pigment (klorofil a+b ve karotenoid) içeriğini koruyarak, eksitasyon enerjisini (F_V'/F_M') elektron taşıma zincirine iletip (ETH) yakalanan bu enerjiyi ısı şeklinde dağıtmadan (NPQ) fotokimyada (qP) daha verimli kullanmayı başarmışlardır. Bu süreçte, toleranslı genotipler duyarlı genotiplere göre yüksek GB içeriği ile tilakoid membranları daha iyi korumuş ve bu sayede fotosentetik etkinliğinin devamlılığını sağlamışlardır. Ayrıca toleranslı genotipler su içeriğini (NSİ) daha iyi muhafaza ederek, fotokimyasal reaksiyonların işleyişini sürdürebilmişlerdir.
- Toleranslı genotipler duyarlı genotiplere göre, fizyolojik ve biyokimyasal aktivitelerinin devamlılığını sağlamak için SOD aktivesinin ürünü olan H_2O_2 içeriğini düşük seviyelerde tutabilmeyi muhtemelen, Askorbat-Glutatyon yolağında yer alan APX ve GR ile POD enzimlerinin birlikte aktiviteleri sonucunda mümkün kılmıştır. Duyarlı genotiplerde H_2O_2 içeriğinin toleranslı genotiplerden daha yüksek olması ise kaynağının sadece SOD aktivitesi olmadığını düşündürmektedir. Belirlenen yüksek H_2O_2 içeriği, bu genotiplerde ilişkili antioksidan enzimlerin aktivasyonunun detoksifikasyonda yeterli olmadığını göstermektedir. Bununla birlikte, antosiyanin ve flavonoid gibi ışık filtre eden pigmentlerin kuraklığın üstesinden gelmede, savunma sistemine katkı sağladığı da belirlenmiştir.
- Su içeriğinin korunmasında rol alan sorbitolün sentezinde görevli ALR enzim aktivitesinin, yabani melezlerde çeşitlere göre daha fazla artması, bu genotiplerin kuraklığa karşı daha iyi performans sergilediğini göstermektedir.
- Toleranslı genotipler (Tarsan-1018 çeşidi ile yabani melezler) fotosentetik etkinlikleri ile savunma sistemlerini aktive ederek kuraklığa dayanımlarını; biyokütleyi (kuru ağırlık) azaltmadan, boy uzaması ile yaprak çıkışını sınırlandırarak morfolojilerine yansıtmışlardır.

Tezin III. aşamasında, toleranslı (Tarsan-1018) ve duyarlı (Tunca) olarak karakterize edilen çeşitler ile dayanıklı atasal *Helianthus agrophyllus*'un, kuraklık stresine karşı oluşturduğu cevaplar proteom düzeyindeki değişimler belirlenerek karşılaştırılmıştır:

- Kuraklıkta tüm genotiplerde en çok fotosentez ve karbon metabolizmalarının etkilendiği ve bu yollarda çok sayıda proteinin ifadesinin değiştiği saptanmıştır. Toleranslı genotiplerin duyarlı çeşide göre hem stres hem iyileşme uygulamalarında fotosistemler arasında enerji yakalanma kapasitesini dengelemeye çalışarak metabolik düzenlemeyi gerçekleştirebilmişlerdir.
- Sinyal metabolizmasında yer alan ve toleranslı genotiplerde tanımlanan 14-3-3 benzeri proteininin ifadesinin kuraklıktaki artışı dayanım ile ilişkili olabilir. Bu protein, kuraklıkta erken uyarı hormonu olan ABA'yı teşvik eden genlerin ifadesi ile çoklu sinyal iletim ağını aktive ederek, stomanın açılıp kapanmasını düzenler ve böylece karbon asimilasyonunu ve su kaybını belirli bir düzeyde tutarak, genotiplerin kuraklığa toleransında etkin bir rol almış olabilir. Bunlara ek olarak, kuraklıkta duyarlı genotipte nükleotid ve protein metabolizmaları ile birlikte sinyal iletiminin de olumsuz yönde etkilenmesi, Tunca'yı diğer genotiplere göre dayanımda daha başarısız kılmıştır.

Bu tez kapsamındaki tüm sonuçlar ele alındığında;

- Çeşitlere göre daha toleranslı olan yabani genotip *Helianthus agrophyllus*, yeni çeşitlerin ıslahı için iyi bir gen kaynağı olma potansiyelini sürdürmektedir.
- Kuraklıkta en iyi performansı sergileyen Tarsan-1018 çeşidinin, yeni çeşit geliştirilmesi için ıslah çalışmalarında aday olarak kullanılması önerilmektedir.
- Ayrıca Tarsan-1018 çeşidinin ülkemizde kuraklık riski olan bölgelerinde ekimi de önerilmektedir.
- Fotosentetik performans indekslerinin, strese maruz kalan bitkilerde fotosentez aktivitesinde meydana gelen değişimleri ortaya koyması ve stres toleranslarının belirlenmesinde uygun bir seleksiyon parametresi olduğu tespit edilmiştir.
- H₂O₂ detoksifikasyonunda görev alan POD enzim aktivitesinin toleranslı genotiplerde yüksek orandaki artışları, POD enziminin kuraklığa toleransın belirlenmesinde bir markör olarak kullanılabilme potansiyelini ortaya koymaktadır.
- Bitkilerde birçok metabolik aktivitenin düzenlenmesinde rol oynayan sinyal yollarında görev alan 14-3-3 benzeri proteinlerinin, toleranslı genotiplerde

tanımlanması ve kuraklık koşullarında ifadesinin artması ile bu proteinin ileride kuraklık ile ilgili yapılacak çalışmalarda anahtar protein olarak değerlendirilebilir.

- Proteomik aşamasında tanımlanan proteinlerin %77'sinin kloroplastta görev aldığı belirlenmiştir. Bu bağlamda, total proteinden proteom analizine ek olarak kloroplast izolasyonu ile organel proteomunun analizi yapılabilir ve daha detaylı bilgiler elde edilebilir.
- Proteomiğin yanı sıra yeni proteinlerin tanımlanması için fosfoproteomik gibi diğer analizler de yapılarak translasyon sonrası modifikasyonlar ortaya çıkarılabilir.
- Proteomik analizler için kullanılan jel temelli yöntemin ara basamaklarında bazı proteinlerin kaybedilme riski nedeni ile jel temelli olmayan tekniklerin (LC-MS/MS gibi) kullanılması da alternatif olarak önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- [1] Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., Pareek, A., and Singla-Pareek, S. L., Transcription Factors and Plants Response to Drought Stress: Current Understanding and Future Directions, *Frontiers in Plant Science*, vol. 7, **2016**.
- [2] Yadav, S., and Sharma, K. D., "Molecular and Morphophysiological Analysis of Drought Stress in Plants," *Plant Growth: InTech*, **2016**.
- [3] Samancioğlu, A. and Yıldırım, E., Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakteri Uygulamalarının Bitkilerde Kuraklığa Toleransı Arttırmadaki Etkileri, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, vol. 20, pp. 72-79, **2015**.
- [4] Wu, X., and Wang, W., Increasing Confidence of Proteomics Data Regarding the Identification of Stress-Responsive Proteins in Crop Plants, *Frontiers in Plant Science*, vol. 7, **2016**.
- [5] Shanker, A. K., Maheswari, M., Yadav, S., Desai, S., Bhanu, D., Attal, N. B., and Venkateswarlu, B., Drought Stress Responses in Crops, *Functional & Integrative Genomics*, vol. 14, no. 1, pp. 11-22, **2014**.
- [6] Pachauri, R. K., Allen, M. R., Barros, V. R., Broome, J., Cramer, W., Christ, R., Church, J. A., Clarke, L., Dahe, Q., and Dasgupta, P., *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*: IPCC, **2014**.
- [7] Kantar, M. B., Sosa, C. C., Khoury, C. K., Castañeda-Álvarez, N. P., Achicanoy, H. A., Bernau, V., Kane, N. C., Marek, L., Seiler, G., and Rieseberg, L. H., Ecogeography and Utility to Plant Breeding of the Crop Wild Relatives of Sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.
- [8] Andrianasolo, F. N., Casadebaig, P., Langlade, N., Debaeke, P., and Maury, P., Effects of Plant Growth Stage and Leaf Aging on the Response of Transpiration and Photosynthesis to Water Deficit in Sunflower, *Functional Plant Biology*, vol. 43, no. 8, pp. 797-805, **2016**.
- [9] FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO) Statistical Databases, **2014**.
- [10] Ahmad, S., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Ashraf, M., and Waraich, E. A., Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Response to Drought Stress at Germination and Seedling Growth Stages, *Pakistan Journal of Botany*, vol. 41, no. 2, pp. 647-654, **2009**.
- [11] Andrade, F. H., Sadras, V. O., Vega, C. R. C., and Echarte, L., Physiological Determinants of Crop Growth and Yield in Maize, Sunflower and Soybean: Their Application to Crop Management, Modeling and Breeding, *Journal of Crop Improvement*, vol. 14, no. 1-2, pp. 51-101, **2005**.
- [12] Jocic, S., Miladinovic, D., and Kaya, Y., Breeding and Genetics of Sunflower, *Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, vol. 710, pp. 1-26, **2015**.
- [13] Sabah, M., Söke Ovasında İkinci Ürün Yağlık Ayçiçeği Üretiminde Enerji Kullanımı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, , Adana, **2010**.

- [14] Seiler, G. J., Qi, L. L., and Marek, L. F., Utilization of Sunflower Crop Wild Relatives for Cultivated Sunflower Improvement, *Crop Science*, **2017**.
- [15] Seiler, G., Gulya, T., and Fredrick, M. L., Exploration for Wild Helianthus Species from the Desert Southwestern USA for Potential Drought Tolerance/Recolección De Las Especies Silvestres Del Género Helianthus En Las Partes Desiertas Del Suroeste De Los Ee. Uu. Como Fuentes De Tolerancia a Sequía Potenciales/Collecte D'espèces Sauvages D'helianthus Dans Les Régions Désertiques Du Sud-Ouest Des Étatsunis En Tant Que Sources Potentielles De Tolérance À La Sécheresse, *Helia*, vol. 29, no. 45, pp. 1-10, **2006**.
- [16] Panero, J., and Funk, V. A., Toward a Phylogenetic Subfamilial Classification for the Compositae (Asteraceae), **2002**.
- [17] Zambelli, A., León, A., and Garcés, R., Mutagenesis in Sunflower, *Sunflower: Chemistry, Production, Processing, and Utilization*, pp. 27, **2015**.
- [18] Warburton, M. L., Rauf, S., Marek, L., Hussain, M., Ogunola, O., and de Jesus Sanchez Gonzalez, J., The Use of Crop Wild Relatives in Maize and Sunflower Breeding, *Crop Science*, **2017**.
- [19] Sala, C. A., Bulos, M., Altieri, E., and Ramos, M. L., Sunflower: Improving Crop Productivity and Abiotic Stress Tolerance, *Improving Crop Resistance to Abiotic Stress, Volume 1 & Volume 2*, pp. 1203-1249, **2012**.
- [20] Milton, E., Goolsby, E., and Donovan, L., Cultivated Helianthus Annuus Differs from Two Wild Relatives in Germination Response to Simulated Drought Stress, *Helia*, vol. 36, no. 59, pp. 35-46, **2013**.
- [21] Rieseberg, L. H., and Seiler, G. J., Molecular Evidence and the Origin and Development of the Domesticated Sunflower (*Helianthus annuum*, Asteraceae), *Economic Botany*, vol. 44, pp. 79-91, **1990**.
- [22] Kaya, Y., Jovic, S., and Miladinovic, D., "Sunflower," *Technological Innovations in Major World Oil Crops, Volume 1*, pp. 85-129: Springer, 2012.
- [23] Badouin, H., Gouzy, J., Grassa, C. J., Murat, F., Staton, S. E., Cottret, L., Lelandais-Brière, C., Owens, G. L., Carrère, S., and Mayjonade, B., The Sunflower Genome Provides Insights into Oil Metabolism, Flowering and Asterid Evolution, *Nature*, vol. 546, no. 7656, pp. 148-152, **2017**.
- [24] Sarazin, V., Duclercq, J., Guillot, X., Sangwan, B., and Sangwan, R. S., Water-Stressed Sunflower Transcriptome Analysis Revealed Important Molecular Markers Involved in Drought Stress Response and Tolerance, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 142, pp. 45-53, **2017**.
- [25] Debaeke, P., Bedoussac, L., Bonnet, C., Bret-Mestries, E., Seassau, C., Gavaland, A., Raffailac, D., Tribouillois, H., Véricel, G., and Justes, E., Sunflower Crop: Environmental-Friendly and Agroecological, *OCL*, **2017**.
- [26] Alberio, C., Izquierdo, N., and Aguirrezábal, L., Sunflower Crop Physiology and Agronomy, *Martínez-Force (eds.)*, pp. 53-91, **2015**.
- [27] Schneiter, A., and Miller, J., Description of Sunflower Growth Stages, *Crop Science*, vol. 21, no. 6, pp. 901-903, **1981**.

- [28] Joksimović, J., Atlagić, J., Marinković, R., and Jovanović, D., Genetic Control of Oleic and Linoleic Acid Contents in Sunflower/Control Genético Del Contenido De Aceite Oleico Y Linólico En Girasol/Contrôle Génétique Des Contenus D'acide Oléique Et Linoléique Chez Le Tournesol, *Helia*, vol. 29, no. 44, pp. 33-40, **2006**.
- [29] Doğan, M., Sulanmayan Koşullarda Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Çeşitlerinin Tarımsal ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, **2010**.
- [30] KGM, Ayçiçeği Raporu, T. C. G. V. T., Bakanlığı, p. 31, **2014**.
- [31] Sadras, V., Echarte, L., and Andrade, F., Profiles of Leaf Senescence During Reproductive Growth of Sunflower and Maize, *Annals of Botany*, vol. 85, no. 2, pp. 187-195, **2000**.
- [32] Anonim, Kaya, Y., Ayçiçeği Tarımı; <https://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?Sayfald=54> (Haziran, **2014**).
- [33] Gürkan, H., Bulut, H., Eskioğlu, O., and Çalık, Y., İklim Modelleri ile Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Verimi Projeksiyonları, IV. Türkiye İklim Değişikliği Kongresi, 5-7 Temmuz, İstanbul, Türkiye, **2017**.
- [34] Castillo, F. M., Vásquez, S. C., and Calderini, D. F., Does the Pre-Flowering Period Determine the Potential Grain Weight of Sunflower?, *Field Crops Research*, vol. 212, pp. 23-33, **2017**.
- [35] Škorić, D., Sunflower Breeding for Resistance to Abiotic Stresses/Mejoramiento De Girasol Por Resistencia a Estrés Abióticos/Sélection Du Tournesol Pour La Résistance Aux Stress Abiotiques, *Helia*, vol. 32, no. 50, pp. 1-16, **2009**.
- [36] Berglund, D. R., Sunflower Production, University, N. D. S., ed., p. 117, **2007**.
- [37] Demirel, A., Kırşehir Ekolojik Koşullarında Bazı Yağlık Ayçiçeği Çeşitlerinin Verim ve Verim Öğelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırşehir, **2014**.
- [38] Moradi-Ghahderijani, M., Jafarian, S., and Keshavarz, H., Alleviation of Water Stress Effects and Improved Oil Yield in Sunflower by Application of Soil and Foliar Amendments, *Rhizosphere*, vol. 4, pp. 54-61, **2017**.
- [39] Fernández-Martínez, J. M., Pérez-Vich, B., and Velasco, L., "Sunflower," *Oil Crops*, pp. 155-232: Springer, **2009**.
- [40] Edelist, C., Raffoux, X., Falque, M., Dillmann, C., Sicard, D., Rieseberg, L. H., and Karrenberg, S., Differential Expression of Candidate Salt-Tolerance Genes in the Halophyte *Helianthus paradoxus* and Its Glycophyte Progenitors *H. annuus* and *H. petiolaris* (Asteraceae), *American Journal of Botany*, vol. 96, no. 10, pp. 1830-1838, **2009**.
- [41] Tuteja, N., Gill, S. S., and Tuteja, R., Plant Responses to Abiotic Stresses: Shedding Light on Salt, Drought, Cold and Heavy Metal Stress, *Omics and Plant Abiotic Stress Tolerance*, pp. 39-64, **2011**.
- [42] Ruggiero, A., Punzo, P., Landi, S., Costa, A., Van Oosten, M. J., and Grillo, S., Improving Plant Water Use Efficiency through Molecular Genetics, *Horticulturae*, vol. 3, no. 2, pp. 31, **2017**.

- [43] Jaleel, C. A., Gopi, R., and Panneerselvam, R., Growth and Photosynthetic Pigments Responses of Two Varieties of *Catharanthus roseus* to Triadimefon Treatment, *Comptes Rendus Biologies*, vol. 331, no. 4, pp. 272-277, **2008**.
- [44] Jaleel, C. A., Gopi, R., Sankar, B., Gomathinayagam, M., and Panneerselvam, R., Differential Responses in Water Use Efficiency in Two Varieties of *Catharanthus Roseus* under Drought Stress, *Comptes Rendus Biologies*, vol. 331, no. 1, pp. 42-47, **2008**.
- [45] Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., da Silva, J. A. T., and Fujita, M., "Plant Response and Tolerance to Abiotic Oxidative Stress: Antioxidant Defense Is a Key Factor," *Crop Stress and Its Management: Perspectives and Strategies*, pp. 261-315: Springer, **2012**.
- [46] Obidiegwu, J. E., Bryan, G. J., Jones, H. G., and Prashar, A., Coping with Drought: Stress and Adaptive Responses in Potato and Perspectives for Improvement, *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.
- [47] Poonam, R. B., Handa, N., Kaur, H., Rattan, A., and Bali, S., Sugar Signalling in Plants: A Novel Mechanism for Drought Stress Management, *P. Ahmad (eds), Chichester: John Wiley & Sons, Ltd*, pp. 287-302, **2016**.
- [48] Pirasteh-Anosheh, H., Saed-Moucheshi, A., Pakniyat, H., and Pessarakli, M., Stomatal Responses to Drought Stress, *Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach, 2 Volume Set*, pp. 24, **2016**.
- [49] Zhao, T.-J., Sun, S., Liu, Y., Liu, J.-M., Liu, Q., Yan, Y.-B., and Zhou, H.-M., Regulating the Drought-Responsive Element (Dre)-Mediated Signaling Pathway by Synergic Functions of Trans-Active and Trans-Inactive Dre Binding Factors in *Brassica Napus*, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 281, no. 16, pp. 10752-10759, **2006**.
- [50] Janiak, A., Kwaśniewski, M., and Szarejko, I., Gene Expression Regulation in Roots under Drought, *Journal of Experimental Botany*, vol. 67, no. 4, pp. 1003-1014, **2015**.
- [51] Kögler, F., and Söffker, D., Water (Stress) Models and Deficit Irrigation: System-Theoretical Description and Causality Mapping, *Ecological Modelling*, vol. 361, pp. 135-156, **2017**.
- [52] Zargar, S. M., Gupta, N., Nazir, M., Mahajan, R., Malik, F. A., Sofi, N. R., Shikari, A. B., and Salgotra, R., Impact of Drought on Photosynthesis: Molecular Perspective, *Plant Gene*, **2017**.
- [53] Siddique, M., Hamid, A., and Islam, M., Drought Stress Effects on Water Relations of Wheat, *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, vol. 41, **2000**.
- [54] Kusaka, M., Ohta, M., and Fujimura, T., Contribution of Inorganic Components to Osmotic Adjustment and Leaf Folding for Drought Tolerance in Pearl Millet, *Physiologia Plantarum*, vol. 125, no. 4, pp. 474-489, **2005**.
- [55] Shao, H.-b., Chu, L.-y., Shao, M.-a., Jaleel, C. A., and Hong-mei, M., Higher Plant Antioxidants and Redox Signaling under Environmental Stresses, *Comptes Rendus Biologies*, vol. 331, no. 6, pp. 433-441, **2008**.
- [56] Yancey, P. H., Clark, M. E., Hand, S. C., Bowlus, R. D., and Somero, G. N., Living with Water Stress: Evolution of Osmolyte Systems, *Science*, vol. 217, no. 4566, pp. 1214-1222, **1982**.

- [57] Sarwat, M., and Tuteja, N., Hormonal Signaling to Control Stomatal Movement During Drought Stress, *Plant Gene*, vol. 11, pp. 143-153, **2017**.
- [58] Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S., Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management, *Agronomy for Sustainable Development*, vol. 29, no. 1, pp. 185-212, **2009**.
- [59] McWilliams, D., Drought Strategies for Cotton, Cooperative Extension Service Circular 582, College of Agriculture and Home Economics, *New Mexico State University, USA*, **2003**.
- [60] Peuke, A., and Rennenberg, H., Carbon, Nitrogen, Phosphorus, and Sulphur Concentration and Partitioning in Beech Ecotypes (*Fagus sylvatica* L.): Phosphorus Most Affected by Drought, *Trees*, vol. 18, no. 6, pp. 639-648, **2004**.
- [61] Foy, C., Plant Adaptation to Mineral Stress in Problem Soils, *Iowa State Journal of Research*, vol. 57, pp. 339-354, **1983**.
- [62] Bie, Z., Ito, T., and Shinohara, Y., Effects of Sodium Sulfate and Sodium Bicarbonate on the Growth, Gas Exchange and Mineral Composition of Lettuce, *Scientia Horticulturae*, vol. 99, no. 3, pp. 215-224, **2004**.
- [63] Oktem, A., Effect of Water Shortage on Yield, and Protein and Mineral Compositions of Drip-Irrigated Sweet Corn in Sustainable Agricultural Systems, *Agricultural Water Management*, vol. 95, no. 9, pp. 1003-1010, **2008**.
- [64] Akinci, Ş., and Lösel, D. M., "Plant Water-Stress Response Mechanisms," *Water Stress: InTech*, **2012**.
- [65] Sade, B., Soyulu, S., and Soyulu, E., Drought and Oxidative Stress, *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 54, pp. 11102-11109, **2011**.
- [66] Páli, T., Garab, G., Horváth, L., and Kóta, Z., Functional Significance of the Lipid-Protein Interface in Photosynthetic Membranes, *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 60, no. 8, pp. 1591-1606, **2003**.
- [67] Hölzl, G., and Dörmann, P., Structure and Function of Glycoglycerolipids in Plants and Bacteria, *Progress in Lipid Research*, vol. 46, no. 5, pp. 225-243, **2007**.
- [68] Perlikowski, D., Czyżniejewski, M., Marczak, Ł., Augustyniak, A., and Kosmala, A., Water Deficit Affects Primary Metabolism Differently in Two *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea* Introgression Forms with a Distinct Capacity for Photosynthesis and Membrane Regeneration, *Frontiers in Plant Science*, vol. 7, **2016**.
- [69] Gigon, A., Matos, A.-R., Laffray, D., Zuily-Fodil, Y., and Pham-Thi, A.-T., Effect of Drought Stress on Lipid Metabolism in the Leaves of *Arabidopsis thaliana* (Ecotype Columbia), *Annals of Botany*, vol. 94, no. 3, pp. 345-351, **2004**.
- [70] Anh, T. P. T., Borrel-Flood, C., da Silva, J. V., Justin, A. M., and Mazliak, P., Effects of Water Stress on Lipid Metabolism in Cotton Leaves, *Phytochemistry*, vol. 24, no. 4, pp. 723-727, **1985**.
- [71] Navari-Izzo, F., Quartacci, M., and Izzo, R., Lipid Changes in Maize Seedlings in Response to Field Water Deficits, *Journal of Experimental Botany*, vol. 40, no. 6, pp. 675-680, **1989**.

- [72] Martin, B. A., Schoper, J. B., and Rinne, R. W., Changes in Soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) Glycerolipids in Response to Water Stress, *Plant Physiology*, vol. 81, no. 3, pp. 798-801, **1986**.
- [73] Baker, N. R., Chlorophyll Fluorescence: A Probe of Photosynthesis in Vivo, *Annual Reviews of Plant Biology*, vol. 59, pp. 89-113, **2008**.
- [74] Zhou, S., Duursma, R. A., Medlyn, B. E., Kelly, J. W., and Prentice, I. C., How Should We Model Plant Responses to Drought? An Analysis of Stomatal and Non-Stomatal Responses to Water Stress, *Agricultural and Forest Meteorology*, vol. 182, pp. 204-214, **2013**.
- [75] Chaves, M. M., Maroco, J. P., and Pereira, J. S., Understanding Plant Responses to Drought-from Genes to the Whole Plant, *Functional Plant Biology*, vol. 30, no. 3, pp. 239-264, **2003**.
- [76] Gowing, D., Jones, H., and Davies, W., Xylem-Transported Abscissic Acid: The Relative Importance of Its Mass and Its Concentration in the Control of Stomatal Aperture, *Plant, Cell & Environment*, vol. 16, no. 4, pp. 453-459, **1993**.
- [77] Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., Carvalho, I., Faria, T., and Pinheiro, C., How Plants Cope with Water Stress in the Field? Photosynthesis and Growth, *Annals of Botany*, vol. 89, no. 7, pp. 907-916, **2002**.
- [78] Wilkinson, S., and Davies, W. J., Aba-Based Chemical Signalling: The Co-Ordination of Responses to Stress in Plants, *Plant, Cell & Environment*, vol. 25, no. 2, pp. 195-210, **2002**.
- [79] Lawlor, D. W., Limitation to Photosynthesis in Water-Stressed Leaves: Stomata vs. Metabolism and the Role of ATP, *Annals of Botany*, vol. 89, no. 7, pp. 871-885, **2002**.
- [80] McDowell, N. G., Mechanisms Linking Drought, Hydraulics, Carbon Metabolism, and Vegetation Mortality, *Plant Physiology*, vol. 155, no. 3, pp. 1051-1059, **2011**.
- [81] Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., and Vivekanandan, M., Drought-Induced Responses of Photosynthesis and Antioxidant Metabolism in Higher Plants, *Journal of Plant Physiology*, vol. 161, no. 11, pp. 1189-1202, **2004**.
- [82] Massacci, A., Nabiev, S., Pietrosanti, L., Nematov, S., Chernikova, T., Thor, K., and Leipner, J., Response of the Photosynthetic Apparatus of Cotton (*Gossypium hirsutum*) to the Onset of Drought Stress under Field Conditions Studied by Gas-Exchange Analysis and Chlorophyll Fluorescence Imaging, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 46, no. 2, pp. 189-195, **2008**.
- [83] Parry, M., Andralojc, P., Mitchell, R. A., Madgwick, P., and Keys, A., Manipulation of Rubisco: The Amount, Activity, Function and Regulation, *Journal of Experimental Botany*, vol. 54, no. 386, pp. 1321-1333, **2003**.
- [84] Salehi-Lisar, S. Y., and Bakhshayeshan-Agdam, H., "Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance," *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 1*, pp. 1-16: Springer, **2016**.
- [85] Tezara, W., Mitchell, V., Driscoll, S., and Lawlor, D., Water Stress Inhibits Plant Photosynthesis by Decreasing Coupling Factor and Atp, *Nature*, vol. 401, no. 6756, pp. 914-917, **1999**.

- [86] Green, B., and Durnford, D., The Chlorophyll-Carotenoid Proteins of Oxygenic Photosynthesis, *Annual Review Of Plant Biology*, vol. 47, no. 1, pp. 685-714, **1996**.
- [87] Alonso, R., Elvira, S., Castillo, F., and Gimeno, B., Interactive Effects of Ozone and Drought Stress on Pigments and Activities of Antioxidative Enzymes in *Pinus Halepensis*, *Plant, Cell & Environment*, vol. 24, no. 9, pp. 905-916, **2001**.
- [88] Foyer, C. H., Prospects for Enhancement of the Soluble Antioxidants, Ascorbate and Glutathione, *Biofactors*, vol. 15, no. 2-4, pp. 75-78, **2001**.
- [89] Lu, C., and Zhang, J., Effects of Water Stress on Photosystem Ii Photochemistry and Its Thermostability in Wheat Plants, *Journal of Experimental Botany*, vol. 50, no. 336, pp. 1199-1206, **1999**.
- [90] Asada, K., The Water-Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons, *Annual Review Of Plant Biology*, vol. 50, no. 1, pp. 601-639, **1999**.
- [91] Ibáñez, H., Ballester, A., Muñoz, R., and Quiles, M. J., Chlororespiration and Tolerance to Drought, Heat and High Illumination, *Journal of Plant Physiology*, vol. 167, no. 9, pp. 732-738, **2010**.
- [92] Sperlich, D., Barbeta, A., Ogaya, R., Sabaté, S., and Peñuelas, J., Balance between Carbon Gain and Loss under Long-Term Drought: Impacts on Foliar Respiration and Photosynthesis in *Quercus ilex* L., *Journal of Experimental Botany*, vol. 67, no. 3, pp. 821-833, **2015**.
- [93] Hasibeder, R., Fuchslueger, L., Richter, A., and Bahn, M., Summer Drought Alters Carbon Allocation to Roots and Root Respiration in Mountain Grassland, *New Phytologist*, vol. 205, no. 3, pp. 1117-1127, **2015**.
- [94] Vanlerberghe, G. C., Alternative Oxidase: A Mitochondrial Respiratory Pathway to Maintain Metabolic and Signaling Homeostasis During Abiotic and Biotic Stress in Plants, *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 14, no. 4, pp. 6805-6847, **2013**.
- [95] Finnegan, P. M., Soole, K. L., and Umbach, A. L., "Alternative Mitochondrial Electron Transport Proteins in Higher Plants," *Plant Mitochondria: From Genome to Function*, pp. 163-230: Springer, **2004**.
- [96] Anjum, S. A., Xie, X.-y., Wang, L.-c., Saleem, M. F., Man, C., and Lei, W., Morphological, Physiological and Biochemical Responses of Plants to Drought Stress, *African Journal of Agricultural Research*, vol. 6, no. 9, pp. 2026-2032, **2011**.
- [97] Valderrama, R., Corpas, F. J., Carreras, A., Gómez-rodríguez, M. V., Chaki, M., Pedrajas, J. R., Fernández-ocaña, A., Del Río, L. A., and Barroso, J. B., The Dehydrogenase-Mediated Recycling of NADPH Is a Key Antioxidant System against Salt-Induced Oxidative Stress in Olive Plants, *Plant, Cell & Environment*, vol. 29, no. 7, pp. 1449-1459, **2006**.
- [98] Halliwell, B., Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life, *Plant Physiology*, vol. 141, no. 2, pp. 312-322, **2006**.

- [99] Das, K., and Roychoudhury, A., Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants as Ros-Scavengers During Environmental Stress in Plants, *Frontiers in Environmental Science*, vol. 2, pp. 53, **2014**.
- [100] Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., and Pessarakli, M., Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions, *Journal of Botany*, vol. 2012, **2012**.
- [101] Peng, C., Ou, Z., Liu, N., and Lin, G., Response to High Temperature in Flag Leaves of Super High-Yielding Rice Pei'ai 64s/E32 and Liangyoupeijiu, *Rice Science*, vol. 12, no. 3, pp. 179-186, **2005**.
- [102] Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Driscoll, S., Novitskaya, L., and Foyer, C. H., Drought and Oxidative Load in the Leaves of C3 Plants: A Predominant Role for Photorespiration?, *Annals of Botany*, vol. 89, no. 7, pp. 841-850, **2002**.
- [103] Bright, J., Desikan, R., Hancock, J. T., Weir, I. S., and Neill, S. J., Aba-Induced No Generation and Stomatal Closure in *Arabidopsis* Are Dependent on H₂O₂ Synthesis, *The Plant Journal*, vol. 45, no. 1, pp. 113-122, **2006**.
- [104] Tanou, G., Molassiotis, A., and Diamantidis, G., Induction of Reactive Oxygen Species and Necrotic Death-Like Destruction in Strawberry Leaves by Salinity, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 65, no. 2, pp. 270-281, **2009**.
- [105] Gill, S. S., and Tuteja, N., Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 48, no. 12, pp. 909-930, **2010**.
- [106] Wagner, D., Przybyla, D., op den Camp, R., Kim, C., Landgraf, F., Lee, K. P., Wüsch, M., Laloi, C., Nater, M., and Hideg, E., The Genetic Basis of Singlet Oxygen-Induced Stress Responses of *Arabidopsis thaliana*, *Science*, vol. 306, no. 5699, pp. 1183-1185, **2004**.
- [107] Krieger-Liszkay, A., Fufezan, C., and Trebst, A., Singlet Oxygen Production in Photosystem II and Related Protection Mechanism, *Photosynthesis Research*, vol. 98, no. 1-3, pp. 551-564, **2008**.
- [108] Miller, G., Suzuki, N., CIFTCI-YILMAZ, S., and Mittler, R., Reactive Oxygen Species Homeostasis and Signalling During Drought and Salinity Stresses, *Plant, Cell & Environment*, vol. 33, no. 4, pp. 453-467, **2010**.
- [109] Gill, S. S., Khan, N. A., Anjum, N. A., and Tuteja, N., Amelioration of Cadmium Stress in Crop Plants by Nutrients Management: Morphological, Physiological and Biochemical Aspects, *Plant Stress*, vol. 5, no. 1, pp. 1-23, **2011**.
- [110] Liang, Y., Chen, Q., Liu, Q., Zhang, W., and Ding, R., Exogenous Silicon (Si) Increases Antioxidant Enzyme Activity and Reduces Lipid Peroxidation in Roots of Salt-Stressed Barley (*Hordeum vulgare*), *Journal of Plant Physiology*, vol. 160, no. 10, pp. 1157-1164, **2003**.
- [111] Mobin, M., and Khan, N. A., Photosynthetic Activity, Pigment Composition and Antioxidative Response of Two Mustard (*Brassica juncea*) Cultivars Differing in Photosynthetic Capacity Subjected to Cadmium Stress, *Journal of Plant Physiology*, vol. 164, no. 5, pp. 601-610, **2007**.
- [112] Singh, S., Khan, N. A., Nazar, R., and Anjum, N. A., Photosynthetic Traits and Activities of Antioxidant Enzymes in Blackgram (*Vigna mungo* L. hepper) under Cadmium Stress, *American Journal of Plant Physiology*, vol. 3, pp. 25-32, **2008**.

- [113] Dar, M. I., Naikoo, M. I., Khan, F. A., Rehman, F., Green, I. D., Naushin, F., and Ansari, A. A., "An Introduction to Reactive Oxygen Species Metabolism under Changing Climate in Plants," *Reactive Oxygen Species and Antioxidant Systems in Plants: Role and Regulation under Abiotic Stress*, pp. 25-52: Springer, **2017**.
- [114] Mittler, R., Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance, *Trends in Plant Science*, vol. 7, no. 9, pp. 405-410, **2002**.
- [115] Mittler, R., Ros Are Good, *Trends in Plant Science*, vol. 22, no. 1, pp. 11-19, **2017**.
- [116] Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F., and Noctor, G., Catalase Function in Plants: A Focus on *Arabidopsis* Mutants as Stress-Mimic Models, *Journal of Experimental Botany*, vol. 61, no. 15, pp. 4197-4220, **2010**.
- [117] Noctor, G., and Foyer, C. H., Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control, *Annual Review of Plant Biology*, vol. 49, no. 1, pp. 249-279, **1998**.
- [118] Dalton, D. A., Baird, L. M., Langeberg, L., Taugher, C. Y., Anyan, W. R., Vance, C. P., and Sarath, G., Subcellular Localization of Oxygen Defense Enzymes in Soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) Root Nodules, *Plant Physiology*, vol. 102, no. 2, pp. 481-489, **1993**.
- [119] Jiménez, A., Hernández, J. A., Pastori, G., del Río, L. A., and Sevilla, F., Role of the Ascorbate-Glutathione Cycle of Mitochondria and Peroxisomes in the Senescence of Pea Leaves, *Plant Physiology*, vol. 118, no. 4, pp. 1327-1335, **1998**.
- [120] Eltayeb, A. E., Kawano, N., Badawi, G. H., Kaminaka, H., Sanekata, T., Morishima, I., Shibahara, T., Inanaga, S., and Tanaka, K., Enhanced Tolerance to Ozone and Drought Stresses in Transgenic Tobacco Overexpressing Dehydroascorbate Reductase in Cytosol, *Physiologia Plantarum*, vol. 127, no. 1, pp. 57-65, **2006**.
- [121] Chen, Z., and Gallie, D. R., Dehydroascorbate Reductase Affects Leaf Growth, Development, and Function, *Plant Physiology*, vol. 142, no. 2, pp. 775-787, **2006**.
- [122] Pang, C.-H., and Wang, B.-S., "Role of Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase in Ascorbate–Glutathione Cycle and Stress Tolerance in Plants," *Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants*, pp. 91-113: Springer, 2010.
- [123] Kühn, H., and Borchert, A., Regulation of Enzymatic Lipid Peroxidation: The Interplay of Peroxidizing and Peroxide Reducing Enzymes, *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 33, no. 2, pp. 154-172, **2002**.
- [124] Miao, Y., Lv, D., Wang, P., Wang, X.-C., Chen, J., Miao, C., and Song, C.-P., An *Arabidopsis* Glutathione Peroxidase Functions as Both a Redox Transducer and a Scavenger in Absciscic Acid and Drought Stress Responses, *The Plant Cell*, vol. 18, no. 10, pp. 2749-2766, **2006**.

- [125] de Pinto, M. C., and De Gara, L., Changes in the Ascorbate Metabolism of Apoplastic and Symplastic Spaces Are Associated with Cell Differentiation, *Journal of Experimental Botany*, vol. 55, no. 408, pp. 2559-2569, **2004**.
- [126] Smirnoff, N., Ascorbate, Tocopherol and Carotenoids: Metabolism, Pathway Engineering and Functions, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*, pp. 53-86, **2005**.
- [127] Barnes, J., Zheng, Y., and Lyons, T., "Plant Resistance to Ozone: The Role of Ascorbate," *Air Pollution and Plant Biotechnology*, pp. 235-252: Springer, 2002.
- [128] Zaefyzadeh, M., Quliyev, R. A., Babayeva, S. M., and Abbasov, M. A., The Effect of the Interaction between Genotypes and Drought Stress on the Superoxide Dismutase and Chlorophyll Content in Durum Wheat Landraces, *Turkish Journal of Biology*, vol. 33, no. 1, pp. 1-7, **2009**.
- [129] Smirnoff, N., The Role of Active Oxygen in the Response of Plants to Water Deficit and Desiccation, *New Phytologist*, vol. 125, no. 1, pp. 27-58, **1993**.
- [130] Mullineaux, P. M., and Rausch, T., Glutathione, Photosynthesis and the Redox Regulation of Stress-Responsive Gene Expression, *Photosynthesis Research*, vol. 86, no. 3, pp. 459-474, **2005**.
- [131] Rausch, T., and Wachter, A., Sulfur Metabolism: A Versatile Platform for Launching Defence Operations, *Trends in Plant Science*, vol. 10, no. 10, pp. 503-509, **2005**.
- [132] Li, J., and Jin, H., Regulation of Brassinosteroid Signaling, *Trends in Plant Science*, vol. 12, no. 1, pp. 37-41, **2007**.
- [133] May, M. J., Vernoux, T., Leaver, C., Montagu, M. V., and Inzé, D., Glutathione Homeostasis in Plants: Implications for Environmental Sensing and Plant Development, *Journal of Experimental Botany*, vol. 49, no. 321, pp. 649-667, **1998**.
- [134] Fryer, M., The Antioxidant Effects of Thylakoid Vitamin E (α -Tocopherol), *Plant, Cell & Environment*, vol. 15, no. 4, pp. 381-392, **1992**.
- [135] Holländer-Czytko, H., Grabowski, J., Sandorf, I., Weckermann, K., and Weiler, E. W., Tocopherol Content and Activities of Tyrosine Aminotransferase and Cystine Lyase in Arabidopsis under Stress Conditions, *Journal of Plant Physiology*, vol. 162, no. 7, pp. 767-770, **2005**.
- [136] Kiffin, R., Bandyopadhyay, U., and Cuervo, A. M., Oxidative Stress and Autophagy, *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 8, no. 1-2, pp. 152-162, **2006**.
- [137] Niyogi, K. K., Safety Valves for Photosynthesis, *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 3, no. 6, pp. 455-460, **2000**.
- [138] Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F., and Khan, F. A., "Proline Accumulation in Plants: Roles in Stress Tolerance and Plant Development," *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*, pp. 155-166: Springer, **2016**.
- [139] Fini, A., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Ferrini, F., and Tattini, M., Stress-Induced Flavonoid Biosynthesis and the Antioxidant Machinery of Plants, *Plant Signaling & Behavior*, vol. 6, no. 5, pp. 709-711, **2011**.

- [140] Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., and Tattini, M., Flavonoids as Antioxidants in Plants: Location and Functional Significance, *Plant Science*, vol. 196, pp. 67-76, **2012**.
- [141] Blokhina, O., Virolainen, E., and Fagerstedt, K. V., Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review, *Annals of Botany*, vol. 91, no. 2, pp. 179-194, **2003**.
- [142] Ashraf, M., Biotechnological Approach of Improving Plant Salt Tolerance Using Antioxidants as Markers, *Biotechnology Advances*, vol. 27, no. 1, pp. 84-93, **2009**.
- [143] Ratna Kumar, P., Raina, S. K., Kumar, S., Bhagat, K. P., Singh, Y., and Bal, S. K., Adaptation and Mitigation Strategies of Plant under Drought and High-Temperature Stress, *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*, pp. 421-436, **2013**.
- [144] Tyerman, S., Niemietz, C., and Bramley, H., Plant Aquaporins: Multifunctional Water and Solute Channels with Expanding Roles, *Plant, Cell & Environment*, vol. 25, no. 2, pp. 173-194, **2002**.
- [145] Danielson, J. Å., and Johanson, U., Unexpected Complexity of the Aquaporin Gene Family in the Moss *Physcomitrella Patens*, *BMC Plant Biology*, vol. 8, no. 1, pp. 45, **2008**.
- [146] Ayadi, M., Mieulet, D., Fabre, D., Verdeil, J.-L., Vernet, A., Guiderdoni, E., and Masmoudi, K., Functional Analysis of the Durum Wheat Gene Tdpp2; 1 and Its Promoter Region in Response to Abiotic Stress in Rice, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 79, pp. 98-108, **2014**.
- [147] Galau, G. A., Bijaisoradat, N., and Hughes, D. W., Accumulation Kinetics of Cotton Late Embryogenesis-Abundant Mrnas and Storage Protein Mrnas: Coordinate Regulation During Embryogenesis and the Role of Absciscic Acid, *Developmental Biology*, vol. 123, no. 1, pp. 198-212, **1987**.
- [148] Dang, N. X., Popova, A. V., Hundertmark, M., and Hinch, D. K., Functional Characterization of Selected Lea Proteins from *Arabidopsis Thaliana* in Yeast and in Vitro, *Planta*, vol. 240, no. 2, pp. 325-336, **2014**.
- [149] Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K., Molecular Responses to Dehydration and Low Temperature: Differences and Cross-Talk between Two Stress Signaling Pathways, *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 3, no. 3, pp. 217-223, **2000**.
- [150] Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., and Sharma, K. K., Transgenic Approaches for Abiotic Stress Tolerance in Plants: Retrospect and Prospects, *Plant Cell Reports*, vol. 27, no. 3, pp. 411-424, **2008**.
- [151] Ismail, A. M., Hall, A. E., and Close, T. J., Purification and Partial Characterization of a Dehydrin Involved in Chilling Tolerance During Seedling Emergence of Cowpea, *Plant Physiology*, vol. 120, no. 1, pp. 237-244, **1999**.
- [152] Gururani, M. A., Venkatesh, J., and Tran, L. S. P., Regulation of Photosynthesis During Abiotic Stress-Induced Photoinhibition, *Molecular Plant*, vol. 8, no. 9, pp. 1304-1320, **2015**.
- [153] Xu, D., Duan, X., Wang, B., Hong, B., Ho, T.-H. D., and Wu, R., Expression of a Late Embryogenesis Abundant Protein Gene, Hva1, from Barley Confers

- Tolerance to Water Deficit and Salt Stress in Transgenic Rice, *Plant Physiology*, vol. 110, no. 1, pp. 249-257, **1996**.
- [154] Babu, R. C., Zhang, J., Blum, A., Ho, T.-H. D., Wu, R., and Nguyen, H., Hva1, a Lea Gene from Barley Confers Dehydration Tolerance in Transgenic Rice (*Oryza sativa* L.) via Cell Membrane Protection, *Plant Science*, vol. 166, no. 4, pp. 855-862, **2004**.
- [155] Vinocur, B., and Altman, A., Recent Advances in Engineering Plant Tolerance to Abiotic Stress: Achievements and Limitations, *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 16, no. 2, pp. 123-132, **2005**.
- [156] Goyal, K., Walton, L. J., and Tunnacliffe, A., Lea Proteins Prevent Protein Aggregation Due to Water Stress, *Biochemical Journal*, vol. 388, no. 1, pp. 151-157, **2005**.
- [157] Waters, E. R., Lee, G. J., and Vierling, E., Evolution, Structure and Function of the Small Heat Shock Proteins in Plants, *Journal of Experimental Botany*, vol. 47, no. 3, pp. 325-338, **1996**.
- [158] Sun, W., Bernard, C., Van De Cotte, B., Van Montagu, M., and Verbruggen, N., At-Hsp17. 6a, Encoding a Small Heat-Shock Protein in Arabidopsis, Can Enhance Osmotolerance Upon Overexpression, *The Plant Journal*, vol. 27, no. 5, pp. 407-415, **2001**.
- [159] Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., and Altman, A., Role of Plant Heat-Shock Proteins and Molecular Chaperones in the Abiotic Stress Response, *Trends in Plant Science*, vol. 9, no. 5, pp. 244-252, **2004**.
- [160] Saxena, S. C., Kaur, H., Verma, P., Petla, B. P., Andugula, V. R., and Majee, M., "Osmoprotectants: Potential for Crop Improvement under Adverse Conditions," *Plant Acclimation to Environmental Stress*, pp. 197-232: Springer, **2013**.
- [161] Shen, B., Jensen, R. G., and Bohnert, H. J., Mannitol Protects against Oxidation by Hydroxyl Radicals, *Plant Physiology*, vol. 115, no. 2, pp. 527-532, **1997**.
- [162] Avonce, N., Leyman, B., Mascorro-Gallardo, J. O., Van Dijck, P., Thevelein, J. M., and Iturriaga, G., The *Arabidopsis* Trehalose-6-P Synthase Attps1 Gene Is a Regulator of Glucose, Absciscic Acid, and Stress Signaling, *Plant Physiology*, vol. 136, no. 3, pp. 3649-3659, **2004**.
- [163] Garg, A. K., Kim, J.-K., Owens, T. G., Ranwala, A. P., Do Choi, Y., Kochian, L. V., and Wu, R. J., Trehalose Accumulation in Rice Plants Confers High Tolerance Levels to Different Abiotic Stresses, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 99, no. 25, pp. 15898-15903, **2002**.
- [164] Vendruscolo, E. C. G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C. A., Molinari, H. B. C., Marur, C. J., and Vieira, L. G. E., Stress-Induced Synthesis of Proline Confers Tolerance to Water Deficit in Transgenic Wheat, *Journal of Plant Physiology*, vol. 164, no. 10, pp. 1367-1376, **2007**.
- [165] Molinari, H. B. C., Marur, C. J., Daros, E., De Campos, M. K. F., De Carvalho, J. F. R. P., Pereira, L. F. P., and Vieira, L. G. E., Evaluation of the Stress-Inducible Production of Proline in Transgenic Sugarcane (*Saccharum* spp.): Osmotic Adjustment, Chlorophyll Fluorescence and Oxidative Stress, *Physiologia Plantarum*, vol. 130, no. 2, pp. 218-229, **2007**.

- [166] Yang, X., and Lu, C., Photosynthesis Is Improved by Exogenous Glycinebetaine in Salt-Stressed Maize Plants, *Physiologia Plantarum*, vol. 124, no. 3, pp. 343-352, **2005**.
- [167] Ashraf, M., and Foolad, M., Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 59, no. 2, pp. 206-216, **2007**.
- [168] Hassine, A. B., Ghanem, M. E., Bouzid, S., and Lutts, S., An Inland and a Coastal Population of the Mediterranean Xero-Halophyte Species *Atriplex Halimus* L. Differ in Their Ability to Accumulate Proline and Glycinebetaine in Response to Salinity and Water Stress, *Journal of Experimental Botany*, vol. 59, no. 6, pp. 1315-1326, **2008**.
- [169] Praxedes, S. C., DaMatta, F. M., Loureiro, M. E., Ferrao, M. A., and Cordeiro, A. T., Effects of Long-Term Soil Drought on Photosynthesis and Carbohydrate Metabolism in Mature Robusta Coffee (*Coffea canephora pierre* var. *kouillou*) Leaves, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 56, no. 3, pp. 263-273, **2006**.
- [170] Sperdouli, I., and Moustakas, M., Interaction of Proline, Sugars, and Anthocyanins During Photosynthetic Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to Drought Stress, *Journal of Plant Physiology*, vol. 169, no. 6, pp. 577-585, **2012**.
- [171] Rolland, F., Baena-Gonzalez, E., and Sheen, J., Sugar Sensing and Signaling in Plants: Conserved and Novel Mechanisms, *Annual Reviews of Plant Biology*, vol. 57, pp. 675-709, **2006**.
- [172] Wrzaczek, M., and Hirt, H., Plant MAP Kinase Pathways: How Many and What For?, *Biology of the Cell*, vol. 93, no. 1-2, pp. 81-87, **2001**.
- [173] Knight, H., Calcium Signaling During Abiotic Stress in Plants, *International Review of Cytology*, vol. 195, pp. 269-324, **1999**.
- [174] Nuruzzaman, M., Sharoni, A. M., and Kikuchi, S., Roles of NAC Transcription Factors in the Regulation of Biotic and Abiotic Stress Responses in Plants, *Frontiers in Microbiology*, vol. 4, **2013**.
- [175] Franco-Zorrilla, J. M., López-Vidriero, I., Carrasco, J. L., Godoy, M., Vera, P., and Solano, R., DNA-Binding Specificities of Plant Transcription Factors and Their Potential to Define Target Genes, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 111, no. 6, pp. 2367-2372, **2014**.
- [176] Gollack, D., Lüking, I., and Yang, O., Plant Tolerance to Drought and Salinity: Stress Regulating Transcription Factors and Their Functional Significance in the Cellular Transcriptional Network, *Plant Cell Reports*, vol. 30, no. 8, pp. 1383-1391, **2011**.
- [177] Jin, J., Zhang, H., Kong, L., Gao, G., and Luo, J., PlantTFDB 3.0: A Portal for the Functional and Evolutionary Study of Plant Transcription Factors, *Nucleic Acids Research*, vol. 42, no. D1, pp. D1182-D1187, **2013**.
- [178] Maruyama, K., Todaka, D., Mizoi, J., Yoshida, T., Kidokoro, S., Matsukura, S., Takasaki, H., Sakurai, T., Yamamoto, Y. Y., and Yoshiwara, K., Identification of Cis-Acting Promoter Elements in Cold-and Dehydration-Induced Transcriptional Pathways in *Arabidopsis*, Rice, and Soybean, *DNA Research*, vol. 19, no. 1, pp. 37-49, **2011**.

- [179] Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., and Tran, L.-S. P., Response of Plants to Water Stress, *Frontiers in Plant Science*, vol. 5, **2014**.
- [180] Yoshida, T., Mogami, J., and Yamaguchi-Shinozaki, K., Aba-Dependent and Aba-Independent Signaling in Response to Osmotic Stress in Plants, *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 21, pp. 133-139, **2014**.
- [181] Singh, D., and Laxmi, A., Transcriptional Regulation of Drought Response: A Tortuous Network of Transcriptional Factors, *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.
- [182] Ramegowda, V., Senthil-Kumar, M., Nataraja, K. N., Reddy, M. K., Mysore, K. S., and Udayakumar, M., Expression of a Finger Millet Transcription Factor, Ecnac1, in Tobacco Confers Abiotic Stress-Tolerance, *PloS one*, vol. 7, no. 7, pp. e40397, **2012**.
- [183] Rabara, R. C., Tripathi, P., and Rushton, P. J., The Potential of Transcription Factor-Based Genetic Engineering in Improving Crop Tolerance to Drought, *Omics: a Journal of Integrative Biology*, vol. 18, no. 10, pp. 601-614, **2014**.
- [184] Barbosa, E. G. G., Leite, J. P., Marin, S. R. R., Marinho, J. P., Carvalho, J. d. F. C., Fuganti-Pagliarini, R., Farias, J. R. B., Neumaier, N., Marcelino-Guimarães, F. C., and de Oliveira, M. C. N., Overexpression of the Aba-Dependent Areb1 Transcription Factor from *Arabidopsis thaliana* Improves Soybean Tolerance to Water Deficit, *Plant Molecular Biology Reporter*, vol. 31, no. 3, pp. 719-730, **2013**.
- [185] Chen, L., Song, Y., Li, S., Zhang, L., Zou, C., and Yu, D., The Role of WRKY Transcription Factors in Plant Abiotic Stresses, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, vol. 1819, no. 2, pp. 120-128, **2012**.
- [186] Todaka, D., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K., Recent Advances in the Dissection of Drought-Stress Regulatory Networks and Strategies for Development of Drought-Tolerant Transgenic Rice Plants, *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.
- [187] Song, X., Li, Y., and Hou, X., Genome-Wide Analysis of the Ap2/Erf Transcription Factor Superfamily in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*), *BMC Genomics*, vol. 14, no. 1, pp. 573, **2013**.
- [188] Iwaki, T., Guo, L., Ryals, J. A., Yasuda, S., Shimazaki, T., Kikuchi, A., Watanabe, K. N., Kasuga, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Ogawa, T., Metabolic Profiling of Transgenic Potato Tubers Expressing *Arabidopsis* Dehydration Response Element-Binding Protein 1a (DREB1A), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 61, no. 4, pp. 893-900, **2013**.
- [189] de Paiva Rolla, A. A., Carvalho, J. d. F. C., Fuganti-Pagliarini, R., Engels, C., Do Rio, A., Marin, S. R. R., de Oliveira, M. C. N., Beneventi, M. A., Marcelino-Guimarães, F. C., and Farias, J. R. B., Phenotyping Soybean Plants Transformed with RD29A: Atdreb1a for Drought Tolerance in the Greenhouse and Field, *Transgenic Research*, vol. 23, no. 1, pp. 75-87, **2014**.
- [190] Chen, H., Lai, Z., Shi, J., Xiao, Y., Chen, Z., and Xu, X., Roles of *Arabidopsis* Wrky18, Wrky40 and Wrky60 Transcription Factors in Plant Responses to Abscissic Acid and Abiotic Stress, *BMC Plant Biology*, vol. 10, no. 1, pp. 281, **2010**.

- [191] Shang, Y., Yan, L., Liu, Z.-Q., Cao, Z., Mei, C., Xin, Q., Wu, F.-Q., Wang, X.-F., Du, S.-Y., and Jiang, T., The Mg-Chelatase H Subunit of *Arabidopsis* Antagonizes a Group of Wrky Transcription Repressors to Relieve Aba-Responsive Genes of Inhibition, *The Plant Cell*, vol. 22, no. 6, pp. 1909-1935, **2010**.
- [192] Wani, S. H., Kumar, V., Shriram, V., and Sah, S. K., Phytohormones and Their Metabolic Engineering for Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, *The Crop Journal*, vol. 4, no. 3, pp. 162-176, **2016**.
- [193] Casimiro, I., Beeckman, T., Graham, N., Bhalerao, R., Zhang, H., Casero, P., Sandberg, G., and Bennett, M. J., Dissecting *Arabidopsis* Lateral Root Development, *Trends in Plant Science*, vol. 8, no. 4, pp. 165-171, **2003**.
- [194] Sakakibara, H., Cytokinins: Activity, Biosynthesis, and Translocation, *Annual Reviews of Plant Biology*, vol. 57, pp. 431-449, **2006**.
- [195] Watkins, J. M., Hechler, P. J., and Muday, G. K., Ethylene-Induced Flavonol Accumulation in Guard Cells Suppresses Reactive Oxygen Species and Moderates Stomatal Aperture, *Plant Physiology*, vol. 164, no. 4, pp. 1707-1717, **2014**.
- [196] Farber, M., Attia, Z., and Weiss, D., Cytokinin Activity Increases Stomatal Density and Transpiration Rate in Tomato, *Journal of Experimental Botany*, pp. erw398, **2016**.
- [197] Colebrook, E. H., Thomas, S. G., Phillips, A. L., and Hedden, P., The Role of Gibberellin Signalling in Plant Responses to Abiotic Stress, *Journal of Experimental Biology*, vol. 217, no. 1, pp. 67-75, **2014**.
- [198] J Ahammed, G., Xia, X.-J., Li, X., Shi, K., Yu, J.-Q., and Zhou, Y.-H., Role of Brassinosteroid in Plant Adaptation to Abiotic Stresses and Its Interplay with Other Hormones, *Current Protein and Peptide Science*, vol. 16, no. 5, pp. 462-473, **2015**.
- [199] Behnamnia, M., Protective Roles of Brassinolide on Tomato Seedlings under Drought Stress, *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, vol. 8, no. 4, pp. 552, **2015**.
- [200] Chen, J., Nolan, T. M., Ye, H., Zhang, M., Tong, H., Xin, P., Chu, J., Chu, C., Li, Z., and Yin, Y., *Arabidopsis* Wrky46, Wrky54, and Wrky70 Transcription Factors Are Involved in Brassinosteroid-Regulated Plant Growth and Drought Responses, *The Plant Cell*, vol. 29, no. 6, pp. 1425-1439, **2017**.
- [201] Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A., and Khan, N. A., Salicylic Acid-Induced Abiotic Stress Tolerance and Underlying Mechanisms in Plants, *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.
- [202] Van Ha, C., Leyva-González, M. A., Osakabe, Y., Tran, U. T., Nishiyama, R., Watanabe, Y., Tanaka, M., Seki, M., Yamaguchi, S., and Van Dong, N., Positive Regulatory Role of Strigolactone in Plant Responses to Drought and Salt Stress, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 111, no. 2, pp. 851-856, **2014**.
- [203] Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, I. T., and Renaut, J., Plant Proteome Changes under Abiotic Stress-Contribution of Proteomics Studies to Understanding Plant Stress Response, *Journal of Proteomics*, vol. 74, no. 8, pp. 1301-1322, **2011**.

- [204] Hakeem, K. R., Chandna, R., Ahmad, P., Iqbal, M., and Ozturk, M., Relevance of Proteomic Investigations in Plant Abiotic Stress Physiology, *Omics: a Journal of Integrative Biology*, vol. 16, no. 11, pp. 621-635, **2012**.
- [205] Jedmowski, C., Ashoub, A., Beckhaus, T., Berberich, T., Karas, M., and Brüggemann, W., Comparative Analysis of Sorghum Bicolor Proteome in Response to Drought Stress and Following Recovery, *International Journal of Proteomics*, vol. 2014, **2014**.
- [206] Barkla, B. J., Vera-Estrella, R., and Pantoja, O., Progress and Challenges for Abiotic Stress Proteomics of Crop Plants, *Proteomics*, vol. 13, no. 12-13, pp. 1801-1815, **2013**.
- [207] Kosova, K., Vitamvas, P., Urban, M. O., Kholova, J., and Prášil, I. T., Breeding for Enhanced Drought Resistance in Barley and Wheat–Drought-Associated Traits, Genetic Resources and Their Potential Utilization in Breeding Programmes, *Czech Journal of Genetic Plant Breeding*, vol. 50, no. 4, pp. 247-261, **2014**.
- [208] Wang, X., Cai, X., Xu, C., Wang, Q., and Dai, S., Drought-Responsive Mechanisms in Plant Leaves Revealed by Proteomics, *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, no. 10, pp. 1706, **2016**.
- [209] Moshkov, I., and Novikova, G., Superfamily of Plant Monomeric Gtp-Binding Proteins: 2. Rab Proteins Are the Regulators of Vesicles Trafficking and Plant Responses to Stresses, *Russian Journal of Plant Physiology*, vol. 55, no. 1, pp. 119-129, **2008**.
- [210] Yadav, D. K., Shukla, D., and Tuteja, N., Rice Heterotrimeric G-Protein Alpha Subunit (Rga1): In Silico Analysis of the Gene and Promoter and Its Upregulation under Abiotic Stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 63, pp. 262-271, **2013**.
- [211] Xu, D.-b., Chen, M., Ma, Y.-n., Xu, Z.-s., Li, L.-c., Chen, Y.-f., and Ma, Y.-z., A G-Protein B Subunit, Agb1, Negatively Regulates the Aba Response and Drought Tolerance by Down-Regulating Atmpk6-Related Pathway in Arabidopsis, *PLoS One*, vol. 10, no. 1, pp. e0116385, **2015**.
- [212] Zhang, L., Hu, G., Cheng, Y., and Huang, J., Heterotrimeric G Protein A and B Subunits Antagonistically Modulate Stomatal Density in *Arabidopsis thaliana*, *Developmental Biology*, vol. 324, no. 1, pp. 68-75, **2008**.
- [213] Huang, G.-T., Ma, S.-L., Bai, L.-P., Zhang, L., Ma, H., Jia, P., Liu, J., Zhong, M., and Guo, Z.-F., Signal Transduction During Cold, Salt, and Drought Stresses in Plants, *Molecular Biology Reports*, vol. 39, no. 2, pp. 969-987, **2012**.
- [214] Jia, X.-Y., Xu, C.-Y., Jing, R.-L., Li, R.-Z., Mao, X.-G., Wang, J.-P., and Chang, X.-P., Molecular Cloning and Characterization of Wheat Calreticulin (Crt) Gene Involved in Drought-Stressed Responses, *Journal of Experimental Botany*, vol. 59, no. 4, pp. 739-751, **2008**.
- [215] Zhang, M., Lv, D., Ge, P., Bian, Y., Chen, G., Zhu, G., Li, X., and Yan, Y., Phosphoproteome Analysis Reveals New Drought Response and Defense Mechanisms of Seedling Leaves in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.), *Journal of proteomics*, vol. 109, pp. 290-308, **2014**.

- [216] Benešová, M., Holá, D., Fischer, L., Jedelský, P. L., Hnilička, F., Wilhelmová, N., Rothová, O., Kočová, M., Procházková, D., and Honnerová, J., The Physiology and Proteomics of Drought Tolerance in Maize: Early Stomatal Closure as a Cause of Lower Tolerance to Short-Term Dehydration?, *PLoS One*, vol. 7, no. 6, pp. e38017, **2012**.
- [217] Oliver, M. J., Jain, R., Balbuena, T. S., Agrawal, G., Gasulla, F., and Thelen, J. J., Proteome Analysis of Leaves of the Desiccation-Tolerant Grass, *Sporobolus stapfianus*, in Response to Dehydration, *Phytochemistry*, vol. 72, no. 10, pp. 1273-1284, **2011**.
- [218] Cheng, Y., Qi, Y., Zhu, Q., Chen, X., Wang, N., Zhao, X., Chen, H., Cui, X., Xu, L., and Zhang, W., New Changes in the Plasma-Membrane-Associated Proteome of Rice Roots under Salt Stress, *Proteomics*, vol. 9, no. 11, pp. 3100-3114, **2009**.
- [219] Nouri, M. Z., and Komatsu, S., Comparative Analysis of Soybean Plasma Membrane Proteins under Osmotic Stress Using Gel-Based and LC MS/MS-Based Proteomics Approaches, *Proteomics*, vol. 10, no. 10, pp. 1930-1945, **2010**.
- [220] Zörb, C., Schmitt, S., and Mühling, K. H., Proteomic Changes in Maize Roots after Short-Term Adjustment to Saline Growth Conditions, *Proteomics*, vol. 10, no. 24, pp. 4441-4449, **2010**.
- [221] Chattopadhyay, A., Subba, P., Pandey, A., Bhushan, D., Kumar, R., Datta, A., Chakraborty, S., and Chakraborty, N., Analysis of the Grasspea Proteome and Identification of Stress-Responsive Proteins Upon Exposure to High Salinity, Low Temperature, and Absciscic Acid Treatment, *Phytochemistry*, vol. 72, no. 10, pp. 1293-1307, **2011**.
- [222] Deeba, F., Pandey, A. K., Ranjan, S., Mishra, A., Singh, R., Sharma, Y., Shirke, P. A., and Pandey, V., Physiological and Proteomic Responses of Cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to Drought Stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 53, pp. 6-18, **2012**.
- [223] Cheng, Z., Dong, K., Ge, P., Bian, Y., Dong, L., Deng, X., Li, X., and Yan, Y., Identification of Leaf Proteins Differentially Accumulated between Wheat Cultivars Distinct in Their Levels of Drought Tolerance, *PloS one*, vol. 10, no. 5, pp. e0125302, **2015**.
- [224] Gharechahi, J., Hajirezaei, M.-R., and Salekdeh, G. H., Comparative Proteomic Analysis of Tobacco Expressing Cyanobacterial Flavodoxin and Its Wild Type under Drought Stress, *Journal of Plant Physiology*, vol. 175, pp. 48-58, **2015**.
- [225] Ji, K., Wang, Y., Sun, W., Lou, Q., Mei, H., Shen, S., and Chen, H., Drought-Responsive Mechanisms in Rice Genotypes with Contrasting Drought Tolerance During Reproductive Stage, *Journal of Plant Physiology*, vol. 169, no. 4, pp. 336-344, **2012**.
- [226] Zhou, X., Chen, S., Wu, H., Yang, Y., and Xu, H., Biochemical and Proteomics Analyses of Antioxidant Enzymes Reveal the Potential Stress Tolerance in *Rhododendron chrysanthum* Pall, *Biology Direct*, vol. 12, no. 1, pp. 10, **2017**.
- [227] Echevarría-Zomeño, S., Ariza, D., Jorge, I., Lenz, C., Del Campo, A., Jorrín, J. V., and Navarro, R. M., Changes in the Protein Profile of *Quercus ilex* Leaves

- in Response to Drought Stress and Recovery, *Journal of Plant Physiology*, vol. 166, no. 3, pp. 233-245, **2009**.
- [228] Raorane, M. L., Pabuayon, I. M., Varadarajan, A. R., Mutte, S. K., Kumar, A., Treumann, A., and Kohli, A., Proteomic Insights into the Role of the Large-Effect Qtl Qdty12. 1 for Rice Yield under Drought, *Molecular Breeding*, vol. 35, no. 6, pp. 139, **2015**.
- [229] Hao, P., Zhu, J., Gu, A., Lv, D., Ge, P., Chen, G., Li, X., and Yan, Y., An Integrative Proteome Analysis of Different Seedling Organs in Tolerant and Sensitive Wheat Cultivars under Drought Stress and Recovery, *Proteomics*, vol. 15, no. 9, pp. 1544-1563, **2015**.
- [230] Chmielewska, K., Rodziewicz, P., Swarczewicz, B., Sawikowska, A., Krajewski, P., Marczak, Ł., Ciesiołka, D., Kuczyńska, A., Mikołajczak, K., and Ogrodowicz, P., Analysis of Drought-Induced Proteomic and Metabolomic Changes in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Leaves and Roots Unravels Some Aspects of Biochemical Mechanisms Involved in Drought Tolerance, *Frontiers in Plant Science*, vol. 7, **2016**.
- [231] Koh, J., Chen, G., Yoo, M.-J., Zhu, N., Dufresne, D., Erickson, J. E., Shao, H., and Chen, S., Comparative Proteomic Analysis of *Brassica napus* in Response to Drought Stress, *Journal of Proteome Research*, vol. 14, no. 8, pp. 3068-3081, **2015**.
- [232] Mohammadi, P. P., Moieni, A., Hiraga, S., and Komatsu, S., Organ-Specific Proteomic Analysis of Drought-Stressed Soybean Seedlings, *Journal of Proteomics*, vol. 75, no. 6, pp. 1906-1923, **2012**.
- [233] Bonhomme, L., Valot, B., Tardieu, F., and Zivy, M., Phosphoproteome Dynamics Upon Changes in Plant Water Status Reveal Early Events Associated with Rapid Growth Adjustment in Maize Leaves, *Molecular & Cellular Proteomics*, vol. 11, no. 10, pp. 957-972, **2012**.
- [234] Urban, M. O., Vašek, J., Klíma, M., Krtková, J., Kosová, K., Prášil, I. T., and Vítámvás, P., Proteomic and Physiological Approach Reveals Drought-Induced Changes in Rapeseeds: Water-Saver and Water-Spender Strategy, *Journal of Proteomics*, vol. 152, pp. 188-205, **2017**.
- [235] He, C., Zhang, J., Duan, A., Zheng, S., Sun, H., and Fu, L., Proteins Responding to Drought and High-Temperature Stress in *Populus× Euramericana* Cv.'74/76', *Trees*, vol. 22, no. 6, pp. 803, **2008**.
- [236] Okushima, Y., Koizumi, N., Kusano, T., and Sano, H., Secreted Proteins of Tobacco Cultured By2 Cells: Identification of a New Member of Pathogenesis-Related Proteins, *Plant Molecular Biology*, vol. 42, no. 3, pp. 479-488, **2000**.
- [237] Van Loon, L., and Van Strien, E., The Families of Pathogenesis-Related Proteins, Their Activities, and Comparative Analysis of Pr-1 Type Proteins, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, vol. 55, no. 2, pp. 85-97, **1999**.
- [238] Bedon, F., Villar, E., Vincent, D., Dupuy, J. W., Lomenech, A., Mabialangoma, A., Chaumeil, P., Barré, A., Plomion, C., and Gion, J., Proteomic Plasticity of Two *Eucalyptus* Genotypes under Contrasted Water Regimes in the Field, *Plant, Cell & Environment*, vol. 35, no. 4, pp. 790-805, **2012**.

- [239] Ye, T., Shi, H., Wang, Y., Yang, F., and Chan, Z., Contrasting Proteomic and Metabolomic Responses of Bermudagrass to Drought and Salt Stresses, *Frontiers in Plant Science*, vol. 7, **2016**.
- [240] Jiang, G., Wang, Z., Shang, H., Yang, W., Hu, Z., Phillips, J., and Deng, X., Proteome Analysis of Leaves from the Resurrection Plant *Boea Hygrometrica* in Response to Dehydration and Rehydration, *Planta*, vol. 225, no. 6, pp. 1405, **2007**.
- [241] Wu, Y., Mirzaei, M., Pascovici, D., Chick, J. M., Atwell, B. J., and Haynes, P. A., Quantitative Proteomic Analysis of Two Different Rice Varieties Reveals That Drought Tolerance Is Correlated with Reduced Abundance of Photosynthetic Machinery and Increased Abundance of Clpd1 Protease, *Journal of Proteomics*, vol. 143, pp. 73-82, **2016**.
- [242] Zhu, J., Alvarez, S., Marsh, E. L., LeNoble, M. E., Cho, I.-J., Sivaguru, M., Chen, S., Nguyen, H. T., Wu, Y., and Schachtman, D. P., Cell Wall Proteome in the Maize Primary Root Elongation Zone. II. Region-Specific Changes in Water Soluble and Lightly Ionically Bound Proteins under Water Deficit, *Plant Physiology*, vol. 145, no. 4, pp. 1533-1548, **2007**.
- [243] Li, N., Zhang, S., Liang, Y., Qi, Y., Chen, J., Zhu, W., and Zhang, L., Label-Free Quantitative Proteomic Analysis of Drought Stress-Responsive Late Embryogenesis Abundant Proteins in the Seedling Leaves of Two Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes, *Journal of Proteomics*, vol. 172, pp. 122-142, **2018**.
- [244] Ford, K. L., Cassin, A., and Bacic, A., Quantitative Proteomic Analysis of Wheat Cultivars with Differing Drought Stress Tolerance, *Frontiers in Plant Science*, vol. 2, **2011**.
- [245] Ashoub, A., Baeumlisberger, M., Neupaertl, M., Karas, M., and Brüggemann, W., Characterization of Common and Distinctive Adjustments of Wild Barley Leaf Proteome under Drought Acclimation, Heat Stress and Their Combination, *Plant Molecular Biology*, vol. 87, no. 4-5, pp. 459-471, **2015**.
- [246] Qin, N., Xu, W., Hu, L., Li, Y., Wang, H., Qi, X., Fang, Y., and Hua, X., Drought Tolerance and Proteomics Studies of Transgenic Wheat Containing the Maize C4 Phosphoenolpyruvate Carboxylase (PepC) Gene, *Protoplasma*, vol. 253, no. 6, pp. 1503-1512, **2016**.
- [247] Shi, H., Ye, T., and Chan, Z., Comparative Proteomic Responses of Two Bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L). Pers.) Varieties Contrasting in Drought Stress Resistance, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 82, pp. 218-228, **2014**.
- [248] Katam, R., Sakata, K., Suravajhala, P., Pechan, T., Kambiranda, D. M., Naik, K. S., Guo, B., and Basha, S. M., Comparative Leaf Proteomics of Drought-Tolerant and-Susceptible Peanut in Response to Water Stress, *Journal of Proteomics*, vol. 143, pp. 209-226, **2016**.
- [249] Valero-Galván, J., González-Fernández, R., Navarro-Cerrillo, R. M., Gil-Pelegrín, E., and Jorrín-Novo, J. s. V., Physiological and Proteomic Analyses of Drought Stress Response in Holm Oak Provenances, *Journal of Proteome Research*, vol. 12, no. 11, pp. 5110-5123, **2013**.

- [250] Budak, H., Akpinar, B. A., Unver, T., and Turktas, M., Proteome Changes in Wild and Modern Wheat Leaves Upon Drought Stress by Two-Dimensional Electrophoresis and NanoLC-ESI-MS/MSs, *Plant Molecular Biology*, vol. 83, no. 1-2, pp. 89-103, **2013**.
- [251] Zhou, S., Li, M., Guan, Q., Liu, F., Zhang, S., Chen, W., Yin, L., Qin, Y., and Ma, F., Physiological and Proteome Analysis Suggest Critical Roles for the Photosynthetic System for High Water-Use Efficiency under Drought Stress in Malus, *Plant Science*, vol. 236, pp. 44-60, **2015**.
- [252] Akashi, K., Yoshida, K., Kuwano, M., Kajikawa, M., Yoshimura, K., Hoshiyasu, S., Inagaki, N., and Yokota, A., Dynamic Changes in the Leaf Proteome of a C3 Xerophyte, *Citrullus lanatus* (Wild Watermelon), in Response to Water Deficit, *Planta*, vol. 233, no. 5, pp. 947-960, **2011**.
- [253] Wang, N., Zhao, J., He, X., Sun, H., Zhang, G., and Wu, F., Comparative Proteomic Analysis of Drought Tolerance in the Two Contrasting Tibetan Wild Genotypes and Cultivated Genotype, *BMC Genomics*, vol. 16, no. 1, pp. 432, **2015**.
- [254] Das, A., Eldakak, M., Paudel, B., Kim, D.-W., Hemmati, H., Basu, C., and Rohila, J. S., Leaf Proteome Analysis Reveals Prospective Drought and Heat Stress Response Mechanisms in Soybean, *BioMed Research International*, vol. 2016, **2016**.
- [255] Xu, C., and Huang, B., Comparative Analysis of Drought Responsive Proteins in Kentucky Bluegrass Cultivars Contrasting in Drought Tolerance, *Crop science*, vol. 50, no. 6, pp. 2543-2552, **2010**.
- [256] Simova-Stoilova, L. P., Romero-Rodríguez, M. C., Sánchez-Lucas, R., Navarro-Cerrillo, R. M., Medina-Aunon, J. A., and Jorrín-Novo, J. V., 2-De Proteomics Analysis of Drought Treated Seedlings of *Quercus ilex* Supports a Root Active Strategy for Metabolic Adaptation in Response to Water Shortage, *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.
- [257] Khodadadi, E., Fakheri, B. A., Aharizad, S., Emamjomeh, A., Norouzi, M., and Komatsu, S., Leaf Proteomics of Drought-Sensitive and-Tolerant Genotypes of Fennel, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, vol. 1865, no. 11, pp. 1433-1444, **2017**.
- [258] Hu, J., Rampitsch, C., and Bykova, N. V., Advances in Plant Proteomics toward Improvement of Crop Productivity and Stress Resistance, *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.
- [259] Benhassaine-Kesri, G., Aid, F., Demandre, C., Kader, J. C., and Mazliak, P., Drought Stress Affects Chloroplast Lipid Metabolism in Rape (*Brassica napus*) Leaves, *Physiologia Plantarum*, vol. 115, no. 2, pp. 221-227, **2002**.
- [260] Gasulla, F., Dorp, K., Dombrink, I., Zähringer, U., Gisch, N., Dörmann, P., and Bartels, D., The Role of Lipid Metabolism in the Acquisition of Desiccation Tolerance in *Cratogeomys plantagineum*: A Comparative Approach, *The Plant Journal*, vol. 75, no. 5, pp. 726-741, **2013**.
- [261] Zhao, Y., Wang, Y., Yang, H., Wang, W., Wu, J., and Hu, X., Quantitative Proteomic Analyses Identify ABA-Related Proteins and Signal Pathways in

- Maize Leaves under Drought Conditions, *Frontiers in Plant Science*, vol. 7, **2016**.
- [262] Ahmad, J., Bashir, H., Bagheri, R., Baig, A., Al-Huqail, A., Ibrahim, M. M., and Qureshi, M. I., Drought and Salinity Induced Changes in Ecophysiology and Proteomic Profile of *Parthenium hysterophorus*, *PloS one*, vol. 12, no. 9, pp. e0185118, **2017**.
- [263] Ghabooli, M., Khatabi, B., Ahmadi, F. S., Sepehri, M., Mirzaei, M., Amirkhani, A., Jorrín-Novo, J. V., and Salekdeh, G. H., Proteomics Study Reveals the Molecular Mechanisms Underlying Water Stress Tolerance Induced by *Piriformospora indica* in Barley, *Journal of Proteomics*, vol. 94, pp. 289-301, **2013**.
- [264] Cao, Y., Luo, Q., Tian, Y., and Meng, F., Physiological and Proteomic Analyses of the Drought Stress Response in *Amygdalus mira* (Koehne) Yü Et Lu Roots, *BMC plant biology*, vol. 17, no. 1, pp. 53, **2017**.
- [265] Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Qiang, S., and Goltsev, V., Simultaneous in Vivo Recording of Prompt and Delayed Fluorescence and 820-nm Reflection Changes During Drying and after Rehydration of the Resurrection Plant *Haberlea Rhodopensis*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, vol. 1797, no. 6, pp. 1313-1326, **2010**.
- [266] Tsimilli-Michael, M., and Strasser, R. J., In Vivo Assessment of Stress Impact on Plant's Vitality: Applications in Detecting and Evaluating the Beneficial Role of Mycorrhization on Host Plants, *Mycorrhiza*, vol. 3, pp. 679-703, **2008**.
- [267] Tóth, S. Z., Schansker, G., Kissimon, J., Kovács, L., and Strasser, R. J., Biophysical Studies of Photosystem II-Related Recovery Processes after a Heat Pulse in Barley Seedlings (*Hordeum vulgare* L.), *Journal of Plant Physiology*, vol. 162, no. 2, pp. 181-194, **2005**.
- [268] Strasser, B. J., Strasser, R. J., "Measuring Fast Fluorescence Transients to Address Environmental Questions: The Jip-Test," *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, Mathis, P., ed., pp. 977-980, Dordrecht: The Kluwer Academic, **1995**.
- [269] Strasser, B. J., Dau, H., Heinze, I., and Senger, H., Comparison of Light Induced and Cell Cycle Dependent Changes in the Photosynthetic Apparatus: A Fluorescence Induction Study on the Green Alga *Scenedesmus obliquus*, *Photosynthesis Research*, vol. 60, no. 2-3, pp. 217-227, **1999**.
- [270] Tsimilli-Michael, M., Eggenberg, P., Biro, B., Köves-Pechy, K., Vörös, I., and Strasser, R., Synergistic and Antagonistic Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Azospirillum* and *Rhizobium* Nitrogen-Fixers on the Photosynthetic Activity of Alfalfa, Probed by the Polyphasic Chlorophyll a Fluorescence Transient Ojip, *Applied Soil Ecology*, vol. 15, no. 2, pp. 169-182, **2000**.
- [271] Strauss, A., Krüger, G., Strasser, R., and Van Heerden, P., Ranking of Dark Chilling Tolerance in Soybean Genotypes Probed by the Chlorophyll a Fluorescence Transient Ojip, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 56, no. 2, pp. 147-157, **2006**.
- [272] Oukarroum, A., El Madidi, S., Schansker, G., and Strasser, R. J., Probing the Responses of Barley Cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by Chlorophyll a

- Fluorescence OLKJIP under Drought Stress and Re-Watering, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 60, no. 3, pp. 438-446, **2007**.
- [273] Çiçek, N., Çakırlar, H., and Strasser, R. J., Arpa Bitkisinde Ultraviyole-B Stresinin Fotosistem II Etkinliği Üzerine Etkisi, *Anadolu University of Sciences & Technology-C: Life Sciences & Biotechnology*, vol. 2, no. 1, **2012**.
- [274] Farrant, J. M., A Comparison of Mechanisms of Desiccation Tolerance among Three Angiosperm Resurrection Plant Species, *Plant Ecology*, vol. 151, no. 1, pp. 29-39, **2000**.
- [275] Lichtenthaler, H. K., [34] Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes, *Methods in enzymology*, vol. 148, pp. 350-382, **1987**.
- [276] Redmann, R., Haraldson, J., and Gusta, L., Leakage of Uv-Absorbing Substances as a Measure of Salt Injury in Leaf Tissue of Woody Species, *Physiologia Plantarum*, vol. 67, no. 1, pp. 87-91, **1986**.
- [277] C., G., "Frost Hardiness of Coniferous Seedlings: Principles and Applications," *In Evaluating Seedling Quality: Principles, Procedures and Predictive Abilities of Major Tests*, Duryea, M. L., ed., pp. 107-123, Corvallis: Oregon State University, **1985**.
- [278] Blumenthal, C., Bekes, F., Wrigley, C., and Barlow, E., The Acquisition and Maintenance of Thermotolerance in Australian Wheats, *Functional Plant Biology*, vol. 17, no. 1, pp. 37-47, **1990**.
- [279] Schreiber, U., Bilger, W., and Neubauer, C., "Chlorophyll Fluorescence as a Nonintrusive Indicator for Rapid Assessment of in Vivo Photosynthesis," *Ecophysiology of Photosynthesis*, pp. 49-70: Springer, 1995.
- [280] Genty, B., Briantais, J.-M., and Baker, N. R., The Relationship between the Quantum Yield of Photosynthetic Electron Transport and Quenching of Chlorophyll Fluorescence, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, vol. 990, no. 1, pp. 87-92, **1989**.
- [281] Esterbauer, H., and Cheeseman, K. H., [42] Determination of Aldehydic Lipid Peroxidation Products: Malonaldehyde and 4-Hydroxynonenal, *Methods in Enzymology*, vol. 186, pp. 407-421, **1990**.
- [282] Mancinelli, A., Yang, C.-P. H., Lindquist, P., Anderson, O., and Rabino, I., Photocontrol of Anthocyanin Synthesis Iii. The Action of Streptomycin on the Synthesis of Chlorophyll and Anthocyanin, *Plant Physiology*, vol. 55, no. 2, pp. 251-257, **1975**.
- [283] Mirecki, R. M., and Teramura, A. H., Effects of Ultraviolet-B Irradiance on Soybean V. The Dependence of Plant Sensitivity on the Photosynthetic Photon Flux Density During and after Leaf Expansion, *Plant Physiology*, vol. 74, no. 3, pp. 475-480, **1984**.
- [284] Grieve, C., and Grattan, S., Rapid Assay for Determination of Water Soluble Quaternary Ammonium Compounds, *Plant and Soil*, vol. 70, no. 2, pp. 303-307, **1983**.
- [285] Bradford, M. M., A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, *Analytical Biochemistry*, vol. 72, no. 1-2, pp. 248-254, **1976**.

- [286] Beyer, W. F., and Fridovich, I., Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions, *Analytical Biochemistry*, vol. 161, no. 2, pp. 559-566, **1987**.
- [287] Wang, S. Y., Jiao, H. J., and Faust, M., Changes in Ascorbate, Glutathione, and Related Enzyme Activities During Thidiazuron-Induced Bud Break of Apple, *Physiologia Plantarum*, vol. 82, no. 2, pp. 231-236, **1991**.
- [288] Rao, M. V., Hale, B. A., and Ormrod, D. P., Amelioration of Ozone-Induced Oxidative Damage in Wheat Plants Grown under High Carbon Dioxide (Role of Antioxidant Enzymes), *Plant Physiology*, vol. 109, no. 2, pp. 421-432, **1995**.
- [289] Bergmeyer, H. U., Bernt, E., Glutamate-Oxaloacetate Transaminase, *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. 2, pp. 727-733, **1974**.
- [290] Chance, B., and Maehly, A., [136] Assay of Catalases and Peroxidases, *Methods in Enzymology*, vol. 2, pp. 764-775, **1955**.
- [291] Mundree, S. G., Whittaker, A., Thomson, J. A., and Farrant, J. M., An Aldose Reductase Homolog from the Resurrection Plant *Xerophyta viscosa* Baker, *Planta*, vol. 211, no. 5, pp. 693-700, **2000**.
- [292] Hurkman, W. J., and Tanaka, C. K., Solubilization of Plant Membrane Proteins for Analysis by Two-Dimensional Gel Electrophoresis, *Plant Physiology*, vol. 81, no. 3, pp. 802-806, **1986**.
- [293] Ahsan, N., and Komatsu, S., Comparative Analyses of the Proteomes of Leaves and Flowers at Various Stages of Development Reveal Organ-Specific Functional Differentiation of Proteins in Soybean, *Proteomics*, vol. 9, no. 21, pp. 4889-4907, **2009**.
- [294] Jorrín-Novo, J. V., Pascual, J., Sánchez-Lucas, R., Romero-Rodríguez, M. C., Rodríguez-Ortega, M. J., Lenz, C., and Villedor, L., Fourteen Years of Plant Proteomics Reflected in Proteomics: Moving from Model Species and 2d-Based Approaches to Orphan Species and Gel-Free Platforms, *Proteomics*, vol. 15, no. 5-6, pp. 1089-1112, **2015**.
- [295] Laemmli, U. K., Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4, *Nature*, vol. 227, pp. 680-685, **1970**.
- [296] Salinger, M., Sivakumar, M. V., and Motha, R., Reducing Vulnerability of Agriculture and Forestry to Climate Variability and Change: Workshop Summary and Recommendations, *Climatic Change*, vol. 70, no. 1, pp. 341-362, **2005**.
- [297] Cook, E. R., Seager, R., Cane, M. A., and Stahle, D. W., North American Drought: Reconstructions, Causes, and Consequences, *Earth-Science Reviews*, vol. 81, no. 1, pp. 93-134, **2007**.
- [298] Kalaji, H. M., Schansker, G., Brestic, M., Bussotti, F., Calatayud, A., Ferroni, L., Goltsev, V., Guidi, L., Jajoo, A., and Li, P., Frequently Asked Questions About Chlorophyll Fluorescence, the Sequel, *Photosynthesis Research*, vol. 132, no. 1, pp. 13-66, **2017**.
- [299] Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Łukasik, I., Goltsev, V., and Ladle, R. J., Chlorophyll a Fluorescence as a Tool to Monitor Physiological Status of Plants under Abiotic Stress Conditions, *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 38, no. 4, pp. 102, **2016**.

- [300] Guha, A., Sengupta, D., and Reddy, A. R., Polyphasic Chlorophyll a Fluorescence Kinetics and Leaf Protein Analyses to Track Dynamics of Photosynthetic Performance in Mulberry During Progressive Drought, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 119, pp. 71-83, **2013**.
- [301] Zivcak, M., Brestic, M., and Olsovska, K. Application of Photosynthetic Parameters in the Screening of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes for Improved Drought and High Temperature Tolerance, Ilen J.F., Gantt E., Golbeck J.H., Osmond B. (eds), *Photosynthesis. Energy from the Sun*. Springer, Dordrecht, pp 1247-1250, **2008**.
- [302] Boureima, S., Oukarroum, A., Diouf, M., Cisse, N., and Van Damme, P., Screening for Drought Tolerance in Mutant Germplasm of Sesame (*Sesamum indicum*) Probing by Chlorophyll a Fluorescence, *Environmental and experimental botany*, vol. 81, pp. 37-43, **2012**.
- [303] Çiçek, N., Arslan, Ö., Çulha-Erdal, Ş., Eyidoğan, F., and Ekmekçi, Y., Are the Photosynthetic Performance Indexes and the Drought Factor Index Satisfactory Selection Criterion for Stress, *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 24, no. 11c, pp. 4190-4198, **2015**.
- [304] Kalaji, H. M., Carpentier, R., Allakhverdiev, S. I., and Bosa, K., Fluorescence Parameters as Early Indicators of Light Stress in Barley, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 112, pp. 1-6, **2012**.
- [305] Strasser, R. J., Srivastava, A., and Tsimilli-Michael, M., The Fluorescence Transient as a Tool to Characterize and Screen Photosynthetic Samples, *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*, pp. 445-483, **2000**.
- [306] Kovačević, J., Mazur, M., Lalić, A., Josipović, M., Josipović, A., Marković, M., Antunović, J., and Cesar, V., Photosynthetic Performance Index in Early Stage of Growth, Water Use Efficiency, and Grain Yield of Winter Barley Cultivars, *Chilean Journal of Agricultural Research*, vol. 75, no. 3, pp. 275-283, **2015**.
- [307] Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., and Srivastava, A., Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient, *Chlorophyll a Fluorescence*, pp. 321-362, **2004**.
- [308] Oukarroum, A., El Madidi, S., and Strasser, R. J., Differential Heat Sensitivity Index in Barley Cultivars (*Hordeum vulgare* L.) Monitored by Chlorophyll a Fluorescence OKLJIP, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 105, pp. 102-108, **2016**.
- [309] Albert, K. R., Mikkelsen, T. N., Ro-Poulsen, H., Arndal, M. F., and Michelsen, A., Ambient Uv-B Radiation Reduces Psii Performance and Net Photosynthesis in High Arctic Salix Arctica, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 72, no. 3, pp. 439-447, **2011**.
- [310] Viljevac, M., Dugalić, K., Mihaljević, I., Šimić, D., Sudar, R., Jurković, Z., and Lepeduš, H., Chlorophyll Content, Photosynthetic Efficiency and Genetic Markers in Two Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Genotypes under Drought Stress, *Acta Botanica Croatica*, vol. 72, no. 2, pp. 221-235, **2013**.
- [311] Goltsev, V., Kalaji, H., Paunov, M., Bąba, W., Horaczek, T., Mojski, J., Kociel, H., and Allakhverdiev, S., Variable Chlorophyll Fluorescence and Its Use for

Assessing Physiological Condition of Plant Photosynthetic Apparatus, *Russian Journal of Plant Physiology*, vol. 63, no. 6, pp. 869-893, **2016**.

- [312] Falqueto, A. R., Silva, F. S., Cassol, D., Magalhães Júnior, A. M., Oliveira, A. C., and Bacarin, M. A., Chlorophyll Fluorescence in Rice: Probing of Senescence Driven Changes of Psii Activity on Rice Varieties Differing in Grain Yield Capacity, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, vol. 22, no. 1, pp. 35-41, **2010**.
- [313] Kalaji, H. M., Oukarroum, A., Alexandrov, V., Kouzmanova, M., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Allakhverdiev, S. I., and Goltsev, V., Identification of Nutrient Deficiency in Maize and Tomato Plants by in Vivo Chlorophyll a Fluorescence Measurements, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 81, pp. 16-25, **2014**.
- [314] Silva, E. N., Silveira, J. A., Ribeiro, R. V., and Vieira, S. A., Photoprotective Function of Energy Dissipation by Thermal Processes and Photorespiratory Mechanisms in *Jatropha Curcas* Plants During Different Intensities of Drought and after Recovery, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 110, pp. 36-45, **2015**.
- [315] Lee, T., Woo, S., Kwak, M., Inkyin, K., Lee, K., Jang, J., and Kim, I., Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence Responses of *Populus sibirica* to Water Deficit in a Desertification Area in Mongolia, *Photosynthetica*, vol. 54, no. 2, pp. 317-320, **2016**.
- [316] Pinior, A., Grunewaldt-Stöcker, G., von Alten, H., and Strasser, R. J., Mycorrhizal Impact on Drought Stress Tolerance of Rose Plants Probed by Chlorophyll a Fluorescence, Proline Content and Visual Scoring, *Mycorrhiza*, vol. 15, no. 8, pp. 596, **2005**.
- [317] Falqueto, A. R., dos Santos, P. N., Fontes, R. V., and Silva, D. M., Analysis of Chlorophyll a Fluorescence of Two Mangrove Species of Vitória Bay (Es, Brazil) to Natural Variation of Tide, *Revista Biociências*, vol. 18, no. 2, **2013**.
- [318] Li, G., Wu, H., Sun, Y., and Zhang, S., Response of Chlorophyll Fluorescence Parameters to Drought Stress in Sugar Beet Seedlings, *Russian Journal of Plant Physiology*, vol. 60, no. 3, pp. 337-342, **2013**.
- [319] Brestic, M., and Zivcak, M., "Psii Fluorescence Techniques for Measurement of Drought and High Temperature Stress Signal in Crop Plants: Protocols and Applications," *Molecular Stress Physiology of Plants*, pp. 87-131: Springer, **2013**.
- [320] Oukarroum, A., Bussotti, F., Goltsev, V., and Kalaji, H. M., Correlation between Reactive Oxygen Species Production and Photochemistry of Photosystems I and II in *Lemna gibba* L. Plants under Salt Stress, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 109, pp. 80-88, **2015**.
- [321] Wang, Z., Chen, L., Ai, J., Qin, H., Liu, Y., Xu, P., Jiao, Z., Zhao, Y., and Zhang, Q., Photosynthesis and Activity of Photosystem II in Response to Drought Stress in Amur Grape (*Vitis amurensis* Rupr.), *Photosynthetica*, vol. 50, no. 2, pp. 189-196, **2012**.

- [322] Khoyerdi, F. F., Shamshiri, M. H., and Estaji, A., Changes in Some Physiological and Osmotic Parameters of Several Pistachio Genotypes under Drought Stress, *Scientia Horticulturae*, vol. 198, pp. 44-51, **2016**.
- [323] Zegaoui, Z., Planchais, S., Cabassa, C., Djebbar, R., Belbachir, O. A., and Carol, P., Variation in Relative Water Content, Proline Accumulation and Stress Gene Expression in Two Cowpea Landraces under Drought, *Journal of Plant Physiology*, vol. 218, pp. 26-34, **2017**.
- [324] Bandurska, H., Niedziela, J., Pietrowska-Borek, M., Nuc, K., Chadzinikolau, T., and Radzikowska, D., Regulation of Proline Biosynthesis and Resistance to Drought Stress in Two Barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes of Different Origin, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 118, pp. 427-437, **2017**.
- [325] Talebi, R., Ensafi, M. H., Baghebani, N., Karami, E., and Mohammadi, K., Physiological Responses of Chickpea (*Cicer arietinum*) Genotypes to Drought Stress, *Environmental and Experimental Biology*, vol. 11, pp. 9-15, **2013**.
- [326] Rostami, A. A., and Rahemi, M., Responses of Caprifig Genotypes to Water Stress and Recovery, *Journal of Biological and Environmental Sciences*, vol. 7, no. 21, **2013**.
- [327] Dichio, B., Margiotta, G., Xiloyannis, C., Bufo, S. A., Sofo, A., and Cataldi, T. R., Changes in Water Status and Osmolyte Contents in Leaves and Roots of Olive Plants (*Olea europaea* L.) Subjected to Water Deficit, *Trees*, vol. 23, no. 2, pp. 247-256, **2009**.
- [328] Król, A., Amarowicz, R., and Weidner, S., Changes in the Composition of Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Grapevine Roots and Leaves (*Vitis vinifera* L.) under Continuous of Long-Term Drought Stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 36, no. 6, pp. 1491-1499, **2014**.
- [329] Ashraf, M., and Harris, P., Photosynthesis under Stressful Environments: An Overview, *Photosynthetica*, vol. 51, no. 2, pp. 163-190, **2013**.
- [330] Harpaz-Saad, S., Azoulay, T., Arazi, T., Ben-Yaakov, E., Mett, A., Shibolet, Y. M., Hörtensteiner, S., Gidoni, D., Gal-On, A., and Goldschmidt, E. E., Chlorophyllase Is a Rate-Limiting Enzyme in Chlorophyll Catabolism and Is Posttranslationally Regulated, *The Plant Cell*, vol. 19, no. 3, pp. 1007-1022, **2007**.
- [331] KAEWSUKSAENG, S., Chlorophyll Degradation in Horticultural Crops, *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, vol. 8, no. 1, pp. 9-19, **2011**.
- [332] Dankov, K., Busheva, M., Stefanov, D., and Apostolova, E. L., Relationship between the Degree of Carotenoid Depletion and Function of the Photosynthetic Apparatus, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol. 96, no. 1, pp. 49-56, **2009**.
- [333] Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., and Yang, R., Effect of Drought on Pigments, Osmotic Adjustment and Antioxidant Enzymes in Six Woody Plant Species in Karst Habitats of Southwestern China, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 71, no. 2, pp. 174-183, **2011**.
- [334] Jäger, K., Fábrián, A., Eitel, G., Szabó, L., Deák, C., Barnabás, B., and Papp, I., A Morpho-Physiological Approach Differentiates Bread Wheat Cultivars of

- Contrasting Tolerance under Cyclic Water Stress, *Journal of Plant Physiology*, vol. 171, no. 14, pp. 1256-1266, **2014**.
- [335] Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinici, A., and Tonkaz, T., The Effect of Water Stress on Some Morphological, Physiological, and Biochemical Characteristics and Bud Success on Apple and Quince Rootstocks, *The Scientific World Journal*, vol. 2014, **2014**.
- [336] Srivastava, S., and Srivastava, M., Morphological Changes and Antioxidant Activity of *Stevia Rebaudiana* under Water Stress, *American Journal of Plant Sciences*, vol. 5, no. 22, pp. 3417, **2014**.
- [337] Naghashzadeh, M., Response of Relative Water Content and Cell Membrane Stability to Mycorrhizal Biofertilizer in Maize, *Electronic Journal of Biology*, vol. 10, no. 3, pp. 68-72, **2014**.
- [338] Assaha, D. V. M., Liu, L., Ueda, A., Nagaoka, T., and Saneoka, H., Effects of Drought Stress on Growth, Solute Accumulation and Membrane Stability of Leafy Vegetable, Huckleberry (*Solanum scabrum* Mill.), *Journal of Environmental Biology*, vol. 37, no. 1, pp. 107, **2016**.
- [339] Robert, G. A., Rajasekar, M., and Manivannan, P., Triazole-Induced Drought Stress Amelioration on Growth, Yield, and Pigments Composition of *Helianthus annuus* L.(Sunflower), *International Multidisciplinary Research Journal*, vol. 5, pp. 6-15, **2016**.
- [340] Vassilevska-Ivanova, R., Shtereva, L., Kraptchev, B., and Karceva, T., Response of Sunflower (*Helianthus annuus* L) Genotypes to Peg-Mediated Water Stress, *Central European Journal of Biology*, vol. 9, no. 12, pp. 1206-1214, **2014**.
- [341] Canarini, A., Merchant, A., and Dijkstra, F. A., Drought Effects on *Helianthus Annuus* and *Glycine max* Metabolites: From Phloem to Root Exudates, *Rhizosphere*, vol. 2, pp. 85-97, **2016**.
- [342] Hussain, M. M., Rauf, S., Riaz, M. A., Al-Khayri, J. M., and Monneveux, P., Determination of Drought Tolerance Related Traits in *Helianthus Argophyllus*, *Helianthus annuus*, and Their Hybrids, *Breeding Science*, vol. 67, no. 3, pp. 257-267, **2017**.
- [343] Nxele, X., Klein, A., and Ndimba, B., Drought and Salinity Stress Alters Ros Accumulation, Water Retention, and Osmolyte Content in Sorghum Plants, *South African Journal of Botany*, vol. 108, pp. 261-266, **2017**.
- [344] Bowne, J. B., Erwin, T. A., Juttner, J., Schnurbusch, T., Langridge, P., Bacic, A., and Roessner, U., Drought Responses of Leaf Tissues from Wheat Cultivars of Differing Drought Tolerance at the Metabolite Level, *Molecular Plant*, vol. 5, no. 2, pp. 418-429, **2012**.
- [345] Sun, J., Gu, J., Zeng, J., Han, S., Song, A., Chen, F., Fang, W., Jiang, J., and Chen, S., Changes in Leaf Morphology, Antioxidant Activity and Photosynthesis Capacity in Two Different Drought-Tolerant Cultivars of *Chrysanthemum* During and after Water Stress, *Scientia Horticulturae*, vol. 161, pp. 249-258, **2013**.
- [346] Kaiser, W. M., Effects of Water Deficit on Photosynthetic Capacity, *Physiologia Plantarum*, vol. 71, no. 1, pp. 142-149, **1987**.

- [347] Colom, M., and Vazzana, C., Photosynthesis and Psii Functionality of Drought-Resistant and Drought-Sensitive Weeping Lovegrass Plants, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 49, no. 2, pp. 135-144, **2003**.
- [348] Semerci, A., Cicek, N., Karahan, F. A., Özyürek, E., Arıcı, Y. K., and Ekmekci, Y., Some Growth and Chlorophyll Fluorescence Parameters of Black and Hybrid Poplar Clones under Water Stress, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, vol. 41, no. 5, pp. 348-356, **2017**.
- [349] Kocheva, K., Lambrev, P., Georgiev, G., Goltsev, V., and Karabaliev, M., Evaluation of Chlorophyll Fluorescence and Membrane Injury in the Leaves of Barley Cultivars under Osmotic Stress, *Bioelectrochemistry*, vol. 63, no. 1, pp. 121-124, **2004**.
- [350] Li, J., Cang, Z., Jiao, F., Bai, X., Zhang, D., and Zhai, R., Influence of Drought Stress on Photosynthetic Characteristics and Protective Enzymes of Potato at Seedling Stage, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, **2015**.
- [351] Kalaji, H. M., Bosa, K., Kościelniak, J., and Żuk-Gołaszewska, K., Effects of Salt Stress on Photosystem II Efficiency and CO₂ Assimilation of Two Syrian Barley Landraces, *Environmental and Experimental Botany*, vol. 73, pp. 64-72, **2011**.
- [352] Huseynova, I. M., Photosynthetic Characteristics and Enzymatic Antioxidant Capacity of Leaves from Wheat Cultivars Exposed to Drought, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, vol. 1817, no. 8, pp. 1516-1523, **2012**.
- [353] Zribi, L., Fatma, G., Fatma, R., Salwa, R., Hassan, N., and Néjib, R. M., Application of Chlorophyll Fluorescence for the Diagnosis of Salt Stress in Tomato "*Solanum lycopersicum* (Variety Rio Grande)", *Scientia Horticulturae*, vol. 120, no. 3, pp. 367-372, **2009**.
- [354] Mathobo, R., Marais, D., and Steyn, J. M., The Effect of Drought Stress on Yield, Leaf Gaseous Exchange and Chlorophyll Fluorescence of Dry Beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *Agricultural Water Management*, vol. 180, pp. 118-125, **2017**.
- [355] Rivas, R., Frosi, G., Ramos, D. G., Pereira, S., Benko-Iseppon, A. M., and Santos, M. G., Photosynthetic Limitation and Mechanisms of Photoprotection under Drought and Recovery of Calotropis Procera, an Evergreen C3 from Arid Regions, *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 118, pp. 589-599, **2017**.
- [356] Hu, L., Wang, Z., and Huang, B., Diffusion Limitations and Metabolic Factors Associated with Inhibition and Recovery of Photosynthesis from Drought Stress in a C3 Perennial Grass Species, *Physiologia Plantarum*, vol. 139, no. 1, pp. 93-106, **2010**.
- [357] Arivalagan, M., and Somasundaram, R. G., Effect of Propiconazole and Salicylic Acid on the Growth and Photosynthetic Pigments in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Under Drought Condition, *Journal of Ecobiotechnology*, vol. 7, **2016**.
- [358] Swapna, S., and Shylaraj, K. S., Screening for Osmotic Stress Responses in Rice Varieties under Drought Condition, vol. 24, no. 5, pp. 253-263, **2017**.
- [359] Filek, M., Walas, S., Mrowiec, H., Rudolphy-Skórska, E., Sieprawska, A., and Biesaga-Kościelniak, J., Membrane Permeability and Micro-and Macroelement Accumulation in Spring Wheat Cultivars During the Short-Term Effect of

- Salinity-and Peg-Induced Water Stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 34, no. 3, pp. 985-995, **2012**.
- [360] Jaleel, C. A., Gopi, R., Sankar, B., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Sridharan, R., and Panneerselvam, R., Studies on Germination, Seedling Vigour, Lipid Peroxidation and Proline Metabolism in *Catharanthus roseus* Seedlings under Salt Stress, *South African Journal of Botany*, vol. 73, no. 2, pp. 190-195, **2007**.
- [361] Elkahoui, S., Hernández, J. A., Abdelly, C., Ghrir, R., and Limam, F., Effects of Salt on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities of *Catharanthus roseus* Suspension Cells, *Plant Science*, vol. 168, no. 3, pp. 607-613, **2005**.
- [362] Khan, F., Upreti, P., Singh, R., Shukla, P. K., and Shirke, P. A., Physiological Performance of Two Contrasting Rice Varieties under Water Stress, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, vol. 23, no. 1, pp. 85-97, **2017**.
- [363] Türkan, İ., Bor, M., Özdemir, F., and Koca, H., Differential Responses of Lipid Peroxidation and Antioxidants in the Leaves of Drought-Tolerant *P. acutifolius* Gray and Drought-Sensitive *P. vulgaris* L. Subjected to Polyethylene Glycol Mediated Water Stress, *Plant Science*, vol. 168, no. 1, pp. 223-231, **2005**.
- [364] Juszczak, I., and Bartels, D., Lea Gene Expression, Rna Stability and Pigment Accumulation in Three Closely Related Linderniaceae Species Differing in Desiccation Tolerance, *Plant Science*, vol. 255, pp. 59-71, **2017**.
- [365] Olsen, K. M., Hehn, A., Jugdé, H., Slimestad, R., Larbat, R., Bourgaud, F., and Lillo, C., Identification and Characterisation of Cyp75a31, a New Flavonoid 3'5'-Hydroxylase, Isolated from *Solanum lycopersicum*, *BMC Plant Biology*, vol. 10, no. 1, pp. 21, **2010**.
- [366] Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C., and Yamasaki, H., Plant Phenolic Antioxidant and Prooxidant Activities: Phenolics-Induced Oxidative Damage Mediated by Metals in Plants, *Toxicology*, vol. 177, no. 1, pp. 67-80, **2002**.
- [367] Nakabayashi, R., Yonekura-Sakakibara, K., Urano, K., Suzuki, M., Yamada, Y., Nishizawa, T., Matsuda, F., Kojima, M., Sakakibara, H., and Shinozaki, K., Enhancement of Oxidative and Drought Tolerance in *Arabidopsis* by Overaccumulation of Antioxidant Flavonoids, *The Plant Journal*, vol. 77, no. 3, pp. 367-379, **2014**.
- [368] Ahanger, M. A., Tyagi, S. R., Wani, M. R., and Ahmad, P., "Drought Tolerance: Role of Organic Osmolytes, Growth Regulators, and Mineral Nutrients," *Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants under Changing Environment*, pp. 25-55: Springer, **2014**.
- [369] Sakamoto, A., and Murata, N., The Role of Glycine Betaine in the Protection of Plants from Stress: Clues from Transgenic Plants, *Plant, Cell & Environment*, vol. 25, no. 2, pp. 163-171, **2002**.
- [370] Chen, T. H., and Murata, N., Glycinebetaine: An Effective Protectant against Abiotic Stress in Plants, *Trends in Plant Science*, vol. 13, no. 9, pp. 499-505, **2008**.
- [371] Hare, P. D., Cress, W. A., and Van Staden, J., Dissecting the Roles of Osmolyte Accumulation During Stress, *Plant, Cell & Environment*, vol. 21, no. 6, pp. 535-553, **1998**.

- [372] Amini, H., Arzani, A., and Bahrami, F., Seed Yield and Some Physiological Traits of Safflower as Affected by Water Deficit Stress, *International Journal of Plant Production*, vol. 7, no. 3, **2013**.
- [373] Asada, K., and Kiso, K., The Photo-Oxidation of Epinephrine by Spinach Chloroplasts and Its Inhibition by Superoxide Dismutase: Evidence for the Formation of Superoxide Radicals in Chloroplasts, *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 37, no. 2, pp. 453-454, **1973**.
- [374] Melchiorre, M., Robert, G., Trippi, V., Racca, R., and Lascano, H. R., Superoxide Dismutase and Glutathione Reductase Overexpression in Wheat Protoplast: Photooxidative Stress Tolerance and Changes in Cellular Redox State, *Plant Growth Regulation*, vol. 57, no. 1, pp. 57, **2009**.
- [375] Sheikh-Mohamadi, M. H., Etemadi, N., Nikbakht, A., Arab, M., Majidi, M. M., and Pessarakli, M., Antioxidant Defence System and Physiological Responses of Iranian Crested Wheatgrass (*Agropyron cristatum* L.) to Drought and Salinity Stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 39, no. 11, pp. 245, **2017**.
- [376] Tanyolac, D., Ekmekçi, Y., and Ünal, Ş., Changes in Photochemical and Antioxidant Enzyme Activities in Maize (*Zea mays* L.) Leaves Exposed to Excess Copper, *Chemosphere*, vol. 67, no. 1, pp. 89-98, **2007**.
- [377] Wu, G., Zhang, L., and Wang, Y., Response of Growth and Antioxidant Enzymes to Osmotic Stress in Two Different Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars Seedlings, *Plant Soil Environment*, vol. 58, no. 12, pp. 534-539, **2012**.
- [378] Bartels, D., and Nelson, D., Approaches to Improve Stress Tolerance Using Molecular Genetics, *Plant, Cell & Environment*, vol. 17, no. 5, pp. 659-667, **1994**.
- [379] Jin, Y., and Penning, T. M., Aldo-Keto Reductases and Bioactivation/Detoxication, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, vol. 47, pp. 263-292, **2007**.
- [380] Turóczy, Z., Kis, P., Török, K., Cserhádi, M., Lendvai, Á., Dudits, D., and Horváth, G. V., Overproduction of a Rice Aldo-Keto Reductase Increases Oxidative and Heat Stress Tolerance by Malondialdehyde and Methylglyoxal Detoxification, *Plant Molecular Biology*, vol. 75, no. 4-5, pp. 399-412, **2011**.
- [381] Kolb, N. S., Hunsaker, L. A., and Vander Jagt, D. L., Aldose Reductase-Catalyzed Reduction of Acrolein: Implications in Cyclophosphamide Toxicity, *Molecular Pharmacology*, vol. 45, no. 4, pp. 797-801, **1994**.
- [382] Hideg, É., Nagy, T., Oberschall, A., Dudits, D., and Vass, I., Detoxification Function of Aldose/Aldehyde Reductase During Drought and Ultraviolet-B (280-320 nm) Stresses, *Plant, Cell & Environment*, vol. 26, no. 4, pp. 513-522, **2003**.
- [383] Kumar, D., Singh, P., Yusuf, M. A., Upadhyaya, C. P., Roy, S. D., Hohn, T., and Sarin, N. B., The *Xerophyta viscosa* Aldose Reductase (Aldrxx4) Confers Enhanced Drought and Salinity Tolerance to Transgenic Tobacco Plants by Scavenging Methylglyoxal and Reducing the Membrane Damage, *Molecular Biotechnology*, vol. 54, no. 2, pp. 292-303, **2013**.
- [384] Ramalingam, A., Kudapa, H., Pazhamala, L. T., Weckwerth, W., and Varshney, R. K., Proteomics and Metabolomics: Two Emerging Areas for Legume Improvement, *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.

- [385] Xu, Y.-H., Liu, R., Yan, L., Liu, Z.-Q., Jiang, S.-C., Shen, Y.-Y., Wang, X.-F., and Zhang, D.-P., Light-Harvesting Chlorophyll a/b-Binding Proteins Are Required for Stomatal Response to Abscissic Acid in Arabidopsis, *Journal of Experimental Botany*, vol. 63, no. 3, pp. 1095-1106, **2011**.
- [386] Kwon, S.-W., Kim, M., Kim, H., and Lee, J., Shotgun Quantitative Proteomic Analysis of Proteins Responding to Drought Stress in *Brassica rapa* L.(Inbred Line "Chiifu"), *International Journal of Genomics*, vol. 2016, **2016**.
- [387] Velez-Ramirez, A. I., Van Ieperen, W., Vreugdenhil, D., Van Poppel, P. M., Heuvelink, E., and Millenaar, F. F., A Single Locus Confers Tolerance to Continuous Light and Allows Substantial Yield Increase in Tomato, *Nature Communications*, vol. 5, pp. 4549, **2014**.
- [388] Roveda-Hoyos, G., and Fonseca-Moreno, L. P., Proteomics: A Tool for the Study of Plant Response to Abiotic Stress, *Agronomía Colombiana*, vol. 29, no. 2, pp. 412-422, **2011**.
- [389] Blödner, C., Majcherczyk, A., Kües, U., and Polle, A., Early Drought-Induced Changes to the Needle Proteome of Norway Spruce, *Tree Physiology*, vol. 27, no. 10, pp. 1423-1431, **2007**.
- [390] Jiang, S.-S., Liang, X.-N., Li, X., Wang, S.-L., Lv, D.-W., Ma, C.-Y., Li, X.-H., Ma, W.-J., and Yan, Y.-M., Wheat Drought-Responsive Grain Proteome Analysis by Linear and Nonlinear 2-DE and MALDI-TOF Mass Spectrometry, *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 13, no. 12, pp. 16065-16083, **2012**.
- [391] Kausar, R., Arshad, M., Shahzad, A., and Komatsu, S., Proteomics Analysis of Sensitive and Tolerant Barley Genotypes under Drought Stress, *Amino Acids*, vol. 44, no. 2, pp. 345-359, **2013**.
- [392] Vítámvás, P., Urban, M. O., Škodáček, Z., Kosová, K., Pitelková, I., Vítámvás, J., Renaut, J., and Prášil, I. T., Quantitative Analysis of Proteome Extracted from Barley Crowns Grown under Different Drought Conditions, *Frontiers in Plant Science*, vol. 6, **2015**.
- [393] Kamal, A. H. M., Cho, K., Komatsu, S., Uozumi, N., Choi, J.-S., and Woo, S. H., Towards an Understanding of Wheat Chloroplasts: A Methodical Investigation of Thylakoid Proteome, *Molecular Biology Reports*, vol. 39, no. 5, pp. 5069-5083, **2012**.
- [394] Dash, P. K., Cao, Y., Jailani, A. K., Gupta, P., Venglat, P., Xiang, D., Rai, R., Sharma, R., Thirunavukkarasu, N., and Abdin, M. Z., Genome-Wide Analysis of Drought Induced Gene Expression Changes in Flax (*Linum usitatissimum*), *GM Crops & Food*, vol. 5, no. 2, pp. 106-119, **2014**.
- [395] Kamal, A., Cho, K., Choi, J.-S., Jin, Y., Park, C.-S., Lee, J., and Woo, S., Patterns of Protein Expression in Water-Stressed Wheat Chloroplasts, *Biologia Plantarum*, vol. 57, no. 2, pp. 305-312, **2013**.
- [396] Zadražnik, T., Egge-Jacobsen, W., Meglič, V., and Šuštar-Vozlič, J., Proteomic Analysis of Common Bean Stem under Drought Stress Using in-Gel Stable Isotope Labeling, *Journal of Plant Physiology*, vol. 209, pp. 42-50, **2017**.
- [397] Weiss, W., and Görg, A., Two-Dimensional Electrophoresis for Plant Proteomics, *Plant Proteomics: Methods and Protocols*, pp. 121-143, **2007**.

- [398] Komatsu, S., Kamal, A. H., and Hossain, Z., Wheat Proteomics: Proteome Modulation and Abiotic Stress Acclimation, *Frontiers in Plant Science*, vol. 5, **2014**.
- [399] Sang, Q., Shan, X., An, Y., Shu, S., Sun, J., and Guo, S., Proteomic Analysis Reveals the Positive Effect of Exogenous Spermidine in Tomato Seedlings' Response to High-Temperature Stress, *Frontiers in Plant Science*, vol. 8, **2017**.
- [400] Huo, C., Zhao, B., Ge, R., Shen, Y., and Huang, Z., Proteomic Analysis of the Salt Tolerance Mutant of Wheat under Salt Stress, *Yi chuan xue bao= Acta Genetica Sinica*, vol. 31, no. 12, pp. 1408-1414, **2004**.
- [401] Crafts-Brandner, S. J., and Salvucci, M. E., Rubisco Activase Constrains the Photosynthetic Potential of Leaves at High Temperature and CO₂, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 97, no. 24, pp. 13430-13435, **2000**.
- [402] Ge, P., Ma, C., Wang, S., Gao, L., Li, X., Guo, G., Ma, W., and Yan, Y., Comparative Proteomic Analysis of Grain Development in Two Spring Wheat Varieties under Drought Stress, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 402, no. 3, pp. 1297-1313, **2012**.
- [403] Mininno, M., Brugière, S., Pautre, V., Gilgen, A., Ma, S., Ferro, M., Tardif, M., Alban, C., and Ravel, S., Characterization of Chloroplastic Fructose 1, 6-Bisphosphate Aldolases as Lysine-Methylated Proteins in Plants, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 287, no. 25, pp. 21034-21044, **2012**.
- [404] Kappachery, S., Baniekal-Hiremath, G., Yu, J. W., and Park, S. W., Effect of over-and under-Expression of Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase on Tolerance of Plants to Water-Deficit Stress, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, vol. 121, no. 1, pp. 97-107, **2015**.
- [405] Kim, S. G., Bae, H. H., Jung, H. J., Lee, J.-S., Kim, J.-T., Go, T. H., Son, B.-Y., Baek, S.-B., Kwon, Y.-U., and Woo, M.-O., Physiological and Protein Profiling Response to Drought Stress in Ks141, a Korean Maize Inbred Line, *Journal of Crop Science and Biotechnology*, vol. 17, no. 4, pp. 273-280, **2014**.
- [406] Pan, L., Yang, Z., Wang, J., Wang, P., Ma, X., Zhou, M., Li, J., Gang, N., Feng, G., and Zhao, J., Comparative Proteomic Analyses Reveal the Proteome Response to Short-Term Drought in Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum*), *PloS one*, vol. 12, no. 9, pp. e0184289, **2017**.
- [407] Paudel, B., Das, A., Tran, M., Boe, A., Palmer, N. A., Sarath, G., Gonzalez-Hernandez, J. L., Rushton, P. J., and Rohila, J. S., Proteomic Responses of Switchgrass and Prairie Cordgrass to Senescence, *Frontiers in Plant Science*, vol. 7, **2016**.
- [408] Wang, X., Liu, Z., Niu, L., and Fu, B., Long-Term Effects of Simulated Acid Rain Stress on a Staple Forest Plant, *Pinus Massoniana* Lamb: A Proteomic Analysis, *Trees*, vol. 27, no. 1, pp. 297-309, **2013**.
- [409] Shi, H., Ye, T., Chen, F., Cheng, Z., Wang, Y., Yang, P., Zhang, Y., and Chan, Z., Manipulation of Arginase Expression Modulates Abiotic Stress Tolerance in Arabidopsis: Effect on Arginine Metabolism and Ros Accumulation, *Journal of Experimental Botany*, vol. 64, no. 5, pp. 1367-1379, **2013**.

- [410] Mushtaq, R., Katiyar, S., and Bennett, J., Proteomic Analysis of Drought Stress-Responsive Proteins in Rice Endosperm Affecting Grain Quality, *Journal of Crop Science and Biotechnology*, vol. 1, pp. 227-232, **2008**.
- [411] Xu, J., Lan, H., Fang, H., Huang, X., Zhang, H., and Huang, J., Quantitative Proteomic Analysis of the Rice (*Oryza sativa* L.) Salt Response, *PLoS One*, vol. 10, no. 3, pp. e0120978, **2015**.
- [412] Yu, B., Xu, C., and Benning, C., Arabidopsis Disrupted in Sqd2 Encoding Sulfolipid Synthase Is Impaired in Phosphate-Limited Growth, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 99, no. 8, pp. 5732-5737, **2002**.
- [413] Raab, S., Toth, Z., de Groot, C., Stamminger, T., and Hoth, S., Aba-Responsive Rna-Binding Proteins Are Involved in Chloroplast and Stromule Function in Arabidopsis Seedlings, *Planta*, vol. 224, no. 4, pp. 900-914, **2006**.
- [414] Hamon, E., Horvatovich, P., Marchioni, E., Aoudé-Werner, D., and Ennahar, S., Investigation of Potential Markers of Acid Resistance in *Lactobacillus Plantarum* by Comparative Proteomics, *Journal of Applied Microbiology*, vol. 116, no. 1, pp. 134-144, **2014**.
- [415] Denison, F. C., Paul, A.-L., Zupanska, A. K., and Ferl, R. J., "14-3-3 Proteins in Plant Physiology." pp. 720-727, **2011**.
- [416] Sun, G., Xie, F., and Zhang, B., Transcriptome-Wide Identification and Stress Properties of the 14-3-3 Gene Family in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Functional & Integrative Genomics*, vol. 11, no. 4, pp. 627-636, **2011**.
- [417] Sun, X., Luo, X., Sun, M., Chen, C., Ding, X., Wang, X., Yang, S., Yu, Q., Jia, B., and Ji, W., A *Glycine soja* 14-3-3 Protein Gsgf14o Participates in Stomatal and Root Hair Development and Drought Tolerance in *Arabidopsis thaliana*, *Plant and Cell Physiology*, vol. 55, no. 1, pp. 99-118, **2013**.
- [418] Yan, J., He, C., Wang, J., Mao, Z., Holaday, S. A., Allen, R. D., and Zhang, H., Overexpression of the Arabidopsis 14-3-3 Protein Gf14 λ in Cotton Leads to a "Stay-Green" Phenotype and Improves Stress Tolerance under Moderate Drought Conditions, *Plant and Cell Physiology*, vol. 45, no. 8, pp. 1007-1014, **2004**.
- [419] Dani, V., Simon, W. J., Duranti, M. and Croy, R. R. D., Changes in the Tobacco Leaf Apoplast Proteome in Response to Salt Stress, *Proteomics*, vol. 5, pp. 737-745, **2005**.
- [420] Lee, B. R., Jung, W. J., Lee, B. H., Avice, J. C., Ourry, A., & Kim, T. H., Kinetics of Drought-Induced Pathogenesis-Related Proteins and its Physiological Significance in White Clover Leaves, *Physiologia Plantarum*, vol. 132, no. 3, pp. 329-337, **2008**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Ayşe Suna BALKAN NALÇAIYI
Doğum Yeri : Konya
Medeni Hali : Evli
E-posta : balkanas@hacettepe.edu.tr
Adresi : Hacettepe Üniversitesi Fen Fak. Biyoloji Bölümü Botanik A.B.D.

Eğitim

Lise : Konya Lisesi (Y.D.A) , Konya
Lisans : Selçuk Üniversitesi, Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans: Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,
Moleküler Biyoloji ve Genetik A.B.D.

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce, İyi

İş Deneyimi

2010-Devam: Araştırma Görevlisi

Deneyim Alanları

Bitki Stres Fizyolojisi
Fotosentez ve Polifazik Klorofil a Fluoresansı
Bitki Moleküler Biyolojisi
Bitki Proteomik

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Ayçiçeğinin Yerel (*Helianthus annuus* L.) ve Atasal (*Helianthus agrophyllus* Alchemy) Genotiplerinde Kuraklık Toleransı ile İlişkili Proteom Değişimlerinin Ortaya Konulması, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Proje No: FHD-2017-13845, (devam ediyor), Personel, Ulusal Destek Projesi, Proje bütçesi, 29,961.38 TL

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

- 1)** Balkan Nalçaiyi, A.S., Ekmekçi, Y., Changes in Photosynthetic Mechanism, Water Content and Pigment Status at Sunflower Genotypes as a Result of Drought, 13th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants: Emerging Roles of ROS-RNS Interplay in Plants, Kuşadası, Türkiye, 10-13 Eylül, **2017**.
- 2)** Balkan Nalçaiyi, A.S., Çulha-Erdal, Ş., Ekmekçi, Y., Different responses on drought tolerance and post-drought recovery in sunflower genotypes associated with H₂O₂ scavenging enzymes and aldose reductase activity, Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress, Prague, Czech Republic, 26-30 June, **2016**.
- 3)** Balkan Nalçaiyi, A.S., Çulha Erdal, Ş., Ekmekçi, Y., Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının Ayçiçeği çeşitlerinde fotokimyasal etkinlik üzerine etkisi, *18.Ulusal Biyoteknoloji Kongresi*, Tarımsal Biyoteknoloji Seksiyonu s.210 18-19 Aralık **2015**, Konya, (Poster).



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 08/01/2018

Tez Başlığı / Konusu: Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Genotiplerinde Kuraklığa Dayanıklılığın Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Düzeyde İncelenmesi

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 217 sayfalık kısmına ilişkin, 06/01/2018 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %1'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

08/01/2018
Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Ayşe Suna BALKAN NALÇAIYI
Öğrenci No: N11248176
Anabilim Dalı: Biyoloji
Programı: Doktora
Statüsü: ☐ Y.Lisans ☒ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ
(Unvan, Ad Soyad, İmza)