

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***IN VITRO* ORTAMDA KURAKLIK STRESİNE MARUZ BIRAKILAN  
*Morus nigra* L. (KARADUT)'DA MELATONİNİN ETKİSİNİN  
BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK CEVAPLARLA DEĞERLENDİRİLMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Duygu ÖZELÇİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emel YİĞİT**

**EKİM 2020**

## TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Doktora öğrenimim öncesinde ve doktoram süresince bilgi ve desteğini esirgemeyerek beni yönlendiren ve geleceğe yönelik bilimsel bakış açısı kazanmamın yanı sıra engin fikirleriyle yetiştirme ve gelişmeme de katkıda bulunan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Emel YİĞİT'e,

Tez izleme sürecinde değerli bilgilerini benimle paylaşan tez izleme komitesi hocalarım Sayın Prof. Dr. Füsün YÜREKLİ'ye ve Sayın Doç. Dr. Şebnem ERENLER'e,

Her zaman her konuda danıştığım ve yardımlarını aldığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Gülçin BEKER AKBULUT'a, mesleki bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ekrem AKBULUT'a, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocam Sayın Doç. Dr. Armağan KAYA'ya,

Tezimin istatistiksel analizlerinde yardımlarını esirgemeyen ve büyük bir sabır gösteren kuzenim Dr. Feyza İNCEOĞLU'na,

Herkese nasip olmaz böyle dostlar ve iyi ki varlar dediğim, arazi ve laboratuvar çalışmalarında yanımda olan Zir. Yük. Müh. Selçuk AVCI'ya, Yük. Kimyager Rukiye YAMAN'a, Zir. Müh. Emel YILMAZ'a ve Zir. Yük. Müh. Ali Rıza Şahinoğlu'na, laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Uzm. Bio. Mehmet TEMEL'e,

Yardımlarından ötürü Kayısı Araştırma Enstitüsü Müdürü Zir. Yük. Müh. Abdullah ERDOĞAN'a ve çalışmamın yürütülmesinde desteğini esirgemeyen tüm mesai arkadaşlarıma,

Çalıştığım konuya dair en ufak fikirleri olmasa da anlattıklarımı her defasında ilgiyle dinleyen, onların desteği olmazsa bu kadar yol alamayacağım sevgili annem Ayten İNCEOĞLU'na, babam Nazım İNCEOĞLU'na ve ablam Kifaye AKBULUT'a,

Lisansüstü eğitimim süresince maddi ve manevi her türlü desteği için ve zorlu ama bir o kadarda keyifli olan bu yolda her zaman yanımda olduğu için sevgili eşim Mehmet ÖZELÇİ'ye, kendisine ayırmam gereken vakitlerden çalmama rağmen şikâyet etmeyen ve minicik elleriyle hep yanımda olan canım oğlum Burak'a,

Tezin uygulama aşamasında vermiş oldukları maddi destekten dolayı İnönü Üniversitesi BAP birimine (Proje no FDK-2017-682)

teşekkür ederim.

## ONUR SÖZÜ

Doktora veya yüksek lisans tezi olarak sunduğum “*In vitro* ortamda Kuraklık Stresine Maruz Bırakılan *Morus nigra* L. (Karadut)’da Melatoninin Etkisinin Biyokimyasal ve Fizyolojik Cevaplarla Deđerlendirilmesi” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı dūřecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Duygu ÖZELÇİ



## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ.....	i
ONUR SÖZÜ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Stres.....	2
1.1.1 Kuraklık stresi.....	3
1.1.1.1 Bitkilerde kuraklık stresinin fizyolojisi.....	4
1.1.1.2 Kuraklık stresine karşı geliştirilen adaptasyonlar.....	8
1.2 Oksidatif Stres ve Serbest oksijen Radikalleri.....	9
1.3 Antioksidan Savunma.....	13
1.3.1 Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	14
1.3.1.1 Askorbik asit.....	14
1.3.1.2 Glutasyon.....	15
1.3.1.3 Prolin.....	16
1.3.1.4 Karotenoidler.....	17
1.3.2 Enzimatik antioksidanlar.....	18
1.3.2.1 Süperoksit dismutaz.....	18
1.3.2.2 Katalaz.....	19
1.3.2.3 Glutasyon peroksidaz.....	20
1.3.2.4 Askorbat peroksidaz.....	20
1.3.2.5 Glutasyon-S-Transferaz.....	21
1.3.2.6 Glutasyon Redüktaz.....	22
1.4 Lipid peroksidasyonu.....	22
1.5 Fenolik Bileşikler.....	24
1.6 Melatonin.....	24
1.6.1 Melatonin biyosentezi.....	26
1.6.2 Melatoninin fizyolojik görevleri.....	28
1.6.3 Melatonin ve Stres.....	29
1.7 Bitki Doku Kültürü.....	31
1.8 <i>Morus nigra</i> L. (Karadut).....	32
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ.....</b>	<b>35</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>49</b>
3.1. Bitkilerin <i>In vitro</i> Koşullarda Çoğaltılması.....	49
3.1.1 Alet ve ekipmanların sterilizasyonu.....	49
3.1.2 Eksplantların alınması.....	49
3.1.3 Yüzey sterilizasyonu.....	49
3.1.4 Başlangıç kültürü aşaması.....	50
3.1.5 Sürgün çoğaltım aşaması.....	51
3.1.6 Köklendirme aşaması.....	51
3.1.7 Kuraklık uygulamalarının yapılması.....	52
3.1.8 Analiz için örneklerin alınması.....	53
3.2 Çalışmada Yapılan Gözlem ve Ölçümler.....	53
3.2.1 Melatonin ekstraksiyonu ve tayini.....	53
3.2.2 Oransal su içeriği.....	54

3.2.3 Pigmentlerin ekstraksiyonu ve saflaştırılması .....	54
3.2.4 Enzim analizi için ekstraksiyon .....	55
3.2.5 Katalaz aktivitesi tayini .....	55
3.2.6 Süperoksit dismutaz aktivitesi .....	55
3.2.7 Glutasyon-S-Transferaz tayini .....	56
3.2.8 Glutasyon redüktaz aktivitesi .....	56
3.2.9 Toplam glutasyon içeriği .....	56
3.2.10 Lipid peroksidasyonu (MDA) analizi .....	57
3.2.11 Total fenolik tayini .....	57
3.2.12 Peroksidaz aktivitesi tayini .....	57
3.2.13 Askorbat peroksidaz aktivitesi tayini .....	58
3.2.14 Prolin miktarı tayini .....	58
3.2.15 Toplam protein tayini .....	58
3.3 İstatistiksel Analizler .....	59
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>60</b>
4.1 <i>M. nigra</i> 'nın <i>In vitro</i> Çoğaltım Çalışmaları .....	60
4.2 Fotosentetik Pigment Miktarı Değişimleri .....	64
4.3 Oransal Su İçeriği Değişimi .....	67
4.4 Peroksidaz Aktivitesi Değişimi .....	68
4.5 Askorbat Peroksidaz Aktivitesi Değişimi .....	69
4.6 Katalaz Aktivitesi Değişimi.....	70
4.7 Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Değişimi .....	70
4.8 Glutasyon-S-Transferaz Aktivitesi Değişimi.....	71
4.9 Glutasyon Redüktaz Aktivitesi Değişimi .....	72
4.10 Toplam Glutasyon İçeriği Değişimi .....	73
4.11 Lipid Peroksidasyonu İçeriği Değişimi .....	74
4.12 Toplam Fenolik Madde İçeriği Değişimi .....	75
4.13 Prolin Miktarı Değişimi.....	76
4.14 İçsel Melatonin Miktarı Değişimi .....	77
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>79</b>
5.1 <i>M. nigra</i> 'nın <i>In vitro</i> Çoğaltımı .....	79
5.2 <i>M. nigra</i> 'da Büyüme Kriterleri Üzerine Kuraklık Stresinin Etkileri .....	82
5.3 <i>M. nigra</i> 'da Oksidatif Sistem Üzerine Kuraklık Stresinin Etkileri .....	87
5.4 <i>M. nigra</i> 'da Melatonin ve Kuraklık Stresi İlişkisi .....	97
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>101</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>135</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>143</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 :	Bitkilerde biyotik ve abiyotik çevresel stres etmenleri.....	2
Çizelge 1.2 :	Bitki ve hayvan hücrelerinde ROT'un özellikleri ile reaktivitesi	13
Çizelge 1.3 :	Bitkilerde antioksidanları rolleri ve lokalizasyonları.....	14
Çizelge 3.1 :	Duchefa M0222 MS besi ortamının içeriği.....	51
Çizelge 4.1 :	Kültür başlatma sonuçlarının BAP değerlerine göre değişimi	61
Çizelge 4.2 :	Sürgün çoğaltımının BAP değerlerine göre değişimi .....	62
Çizelge 4.3 :	Köklendirme sonuçlarının IBA konsantrasyonlarına göre değişimi .....	63
Çizelge 4.4 :	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı Kl a miktarlarının değişimi .....	64
Çizelge 4.5 :	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı Kl b miktarlarının değişimi .....	65
Çizelge 4.6 :	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı toplam klorofil miktarlarının değişimi.....	66
Çizelge 4.7 :	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı karotenoid miktarlarının değişimi .....	67
Çizelge 4.8 :	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı oransal su içeriği değişimi .....	68
Çizelge 4.9 :	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı POD aktivitesi değişimi .....	69
Çizelge 4.10:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı APX aktivitesi değişimi .....	69
Çizelge 4.11:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı CAT aktivitesi değişimi .....	70
Çizelge 4.12:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı SOD aktivitesi değişimi .....	71
Çizelge 4.13:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GST aktivitesi değişimi .....	72
Çizelge 4.14:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GR aktivitesi değişimi .....	73
Çizelge 4.15:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GSH içeriği değişimi .....	74
Çizelge 4.16:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı MDA içeriği değişimi .....	75
Çizelge 4.17:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı toplam fenolik miktarındaki değişim.....	76
Çizelge 4.18:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı Prolin miktarındaki değişim.....	77
Çizelge 4.19:	<i>M. nigra</i> yapraklarında gruplara ve günlere bağlı içsel MEL miktarındaki değişim.....	78

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 :	Su stresinde toprağın içeriğine bağlı olarak bitki yaprağının ve kökünün su potansiyelindeki .....	6
Şekil 1.2 :	Atmosferik oksijenin ortaya çıkması .....	10
Şekil 1.3 :	Farklı ROT'ların oluşumu .....	12
Şekil 1.4 :	MEL'in kimyasal yapısı .....	25
Şekil 1.5 :	MEL'in biyosentez aşamaları.....	26
Şekil 1.6 :	Bitkide MEL'in sentez yolağı .....	27
Şekil 3.1 :	Sürgünlerin alınması ve sterilizasyona hazırlanması .....	50
Şekil 3.2 :	Deneysel grupların şematik gösterimi .....	53
Şekil 3.3 :	MEL'in alıkonma zamanı .....	54
Şekil 4.1 :	İklim odası genel görünüş .....	61
Şekil 4.2 :	<i>M. nigra</i> 'da sürgün çoğaltımı .....	62
Şekil 4.3 :	<i>M. nigra</i> 'da köklendirme .....	63
Şekil 4.4 :	Deneysel gruplar .....	63

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR

$\Psi_w$	: Su potansiyeli
$\Psi_p$	: Basınç potansiyeli
$\Psi_s$	: Osmotik potansiyel
<b>MPa</b>	: Megapaskal
<b>ABA</b>	: Absisik asit
<b>GA<sub>3</sub></b>	: Giberellin
<b>ROT</b>	: Reaktif oksijen türleri
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b>	: Singlet oksijen
<b>OH<sup>·</sup></b>	: Hidroksil radikali
<b>POD</b>	: Peroksidaz
<b>AsA</b>	: Askorbik Asit
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>GPX</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GST</b>	: Glutasyon S-transferaz
<b>APX</b>	: Askorbat peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutasyon redüktaz
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>MEL</b>	: Melatonin
<b>MS</b>	: Murashige ve Skoog besi ortamı
<b>BAP</b>	: 6-Benzilaminopürin
<b>PEG</b>	: Polietilen glikol
<b>OSİ</b>	: Oransal su içeriği



# ÖZET

Doktora Tezi

## *IN VITRO* ORTAMDA KURAKLIK STRESİNE MARUZ BIRAKILAN *Morus nigra* L. (KARADUT)'DA MELATONİNİN ETKİSİNİN BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK CEVAPLARLA DEĞERLENDİRİLMESİ

Duygu ÖZELÇİ

İnönü Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

143+ix sayfa

2020

Danışman: Prof. Dr. Emel YİĞİT

Bu araştırmada, *in vitro* ortamda çoğaltılan *Morus nigra* L. Ekşi kara çeşidinde kuraklık stresine karşı MEL'in cevabı araştırıldı. PEG, bulunduğu ortamın ozmotik potansiyelini etkilemek sureti ile bitkilerde su alınımı üzerinde önemli etkiye sahip olan bir kimyasaldır. Bu nedenle araştırmamızda PEG ile -1.5 MPa'lık kuraklık stresi oluşturuldu. Kuraklık stresinin uygulandığı gruba karşı MEL ve kuraklık stresi uygulanan gruplarda karşılaştırmalı olarak strese cevapta oluşturulan bazı biyokimyasal ve fizyolojik yanıtlar araştırıldı.

Bitkilerin *in vitro* çoğaltımında MS besi ortamı ve eksplant olarak nodal tomurcuklar kullanıldı. Kültür başlatma ve sürgün çoğaltımı için uygun olan 6-Benzilaminopürin (BAP) konsantrasyonu ve köklenmeyi sağlamak için en elverişli Indol-3-Bütirik Asit (IBA) konsantrasyonu çok sayıda deneme ile araştırıldı. Kültürü başlatma aşaması için 0.75 mg/L BAP, 0.01 mg/L IBA, 0.2 mg/L GA<sub>3</sub>; sürgün çoğaltımı için 1 mg/L BAP, 0.01 mg/L IBA, 0.2 mg/L GA<sub>3</sub> ve köklenme için 1.5 mg/L IBA eklenmesinin en uygun konsantrasyonlar olduğu saptandı. *In vitro*'da bitkicikler 3-4 haftada köklendi ve köklenme oranı %95 olarak saptandı. Haziran ayında başlatılan kültürler %91 sürme ve %8.67 kontaminasyon oranı ile daha başarılı bulundu.

Kuraklık stresi koşullarında *M. nigra* bitkisine eksojen MEL uygulamasının antioksidan kapasite ve pigment sistemi üzerinde etkili olduğu ve antioksidan enzimleri düzenleyerek bitki savunmasına önemli katkı sağladığı saptandı. Bununla birlikte; MEL ve stresin uygulandığı gruplarda GSH içeriği, toplam fenol ve prolin birikiminin artmasına neden oldu. İçsel MEL miktarının gruplar arasındaki değişimi kuraklık stresine cevapta MEL'in uygulandığı grupta 10. ve 15. günde daha yüksek gözlemlendi.

Kuraklık stresi uygulanmış MEL'li ve MEL'siz ortamlar arasında belirlenen parametreler karşılaştırıldı ve MEL'in stres toleransındaki etkisi ortaya konuldu. Bu çalışmamızın, *M. nigra* ve kuraklık stresi konusunda yapılacak diğer çalışmalara referans sağlamanın yanı sıra, karadut yetiştiriciliğinin gelişmesine de katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Morus nigra*, Kuraklık stresi, Bitki doku kültürü, Enzim aktivitesi, Pigment sistemi, Antioksidan, Prolin, Melatonin

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### EVALUATION BY BIOCHEMICAL AND PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF MELATONIN EFFECT IN *Morus nigra* L. (BLACK MULBERRY) EXPOSED TO DROUGHT STRESS AT *IN VITRO* MEDIUM

Duygu ÖZELÇİ

Inonu University  
Graduate School of Nature and Applied Sciences  
Department of Biology

143+ix pages

2020

Supervisor: Prof. Dr. Emel YİĞİT

In this research, MEL's response to drought stress was investigated in *Morus nigra* L. Ekşi kara cultivar grown *in vitro*. PEG is a chemical that has an important effect on water uptake in plants by affecting the osmotic potential of the environment. For this reason, drought stress of -1.5 MPa was treated with PEG in our research. Some biochemical and physiological responses generated in the response to stress were investigated comparatively in the drought-stressed group versus combined MEL and drought-stressed groups.

*In vitro* propagation of plants, MS medium and axillary buds as explants were used. The best concentration of 6-Benzylaminopurine (BAP) for culture initiation and shoot propagation and the best Indole-3-Butyric Acid (IBA) concentration to achieve rooting was investigated by numerous trials. It was determined that 0.75 mg/L BAP, 0.01 mg/L IBA, 0.2 mg/L GA<sub>3</sub> for the culture initiation step; 1 mg/L BAP, 0.01 mg/L IBA, 0.2 mg/L GA<sub>3</sub> for shoot propagation and 1.5 mg/L IBA are optimal concentrations. Plantlets rooted in 3-4 weeks *in vitro* and rooting rate was found to be 95%. Cultures initiated in June were found to be more successful with 91% sprout rate and 8.67% contamination rate.

It was determined that exogenous MEL application to *M. nigra* plant under drought stress conditions was effective on antioxidant capacity and pigment system, and contributed significantly to plant defense by regulating antioxidant enzymes. However; it was found that GSH content, total phenol and proline accumulation increased in the groups in which combined MEL and stress was applied. The change of the endogenous MEL amount among the groups was higher in the group to which combined MEL and stress was applied on the 10th and 15th days, in response to drought stress.

The parameters determined between combined MEL with drought stressed and MEL free drought stressed environments were compared and the effect of MEL on stress tolerance was revealed. We believe that this study will contribute to the development of black mulberry cultivation as well as providing reference to other studies on *M. nigra* and drought stress.

**Keywords:** *Morus nigra*, Drought stress, Plant tissue culture, Enzyme activity, Pigment system, Antioxidant, Proline, Melatonin

## 1. GİRİŞ

Günümüzün en büyük küresel sorunlarından biri, büyümekte olan bir nüfusun ihtiyaçlarını çevresel ve sosyal olarak sürdürülebilir bir şekilde karşılamaktır (Godfray vd., 2010). Küresel sıcaklığın 21. yüzyılın sonuna kadar maksimum 5°C artacağı tahmin edilmektedir (Sherwood vd., 2013). Bu, dünyanın birçok yerinde daha sık ve aşırı kuraklık olaylarına yol açacaktır (Okunlola vd., 2017). İnsanların besin, hayvan yemi ve yakıt için bitkilere olan bağımlılığı, iklim değişikliği, ekilebilir alanların azalması, çölleşme, çevresel bozulma, su kalitesi ve miktarındaki değişiklikleri de içine alan tarımsal üretim sistemleri için büyük zorluklar doğurmaktadır (Strange, 2005; Ronald, 2011; Rhodes vd. 2014). Bu nedenle, tarımsal adaptasyona ihtiyaç olduğu açıktır. Bitki araştırmalarındaki ilerlemeler bu sorunlarla yüzleşmek için yeni teknoloji ve bilgiler sağlamalıdır (Ronald, 2011; Halford, 2015).

Türkiye, ekonomisi ağırlıklı olarak tarıma ve tarıma dayalı sanayiye bağlı, gelişmekte olan bir ülkedir. Türkiye'nin tarımsal biyoteknoloji ve onun en fazla uygulama alanına sahip olan bir alt dalı bitki biyoteknolojisi konusunda büyük bir potansiyeli vardır. Bazı araştırmacılar tarımsal biyoteknolojiyi, endüstri ve bilgi devrimlerinin yaptığı gibi dünyayı çarpıcı bir biçimde değiştireceği düşünülen üçüncü bir teknolojik devrim olarak yorumlamaktadır (Eden, 2005).

Su, en önemli doğal kaynaklarından biridir. Son asırda dünya nüfusunun üç kat, su tüketiminin ise yedi kat arttığı bildirilmiştir (USİAD, 2010; Şahin, 2016). Var olan su kaynaklarımız, patlayan nüfus artışı ve sanayinin isteklerini karşılayamamaktadır. Ayrıca tarımsal üretimde uygulanan sulama yöntemleri ile bilinçsizce aşırı miktarda su kullanılmaktadır. Tüm bunlara küresel iklim değişikliği de ilave edilirse, kuraklığın şiddetinin her geçen gün daha fazla hissedileceği açıkça bellidir (Kadioğlu, 2008). Küresel iklim değişimi nedeni ile dünyada özellikle kurak ve yarı-kurak iklim kuşaklarında bulunan ülkelerin su kaynaklarına ulaşmasında büyük sorunlar yaşanacak olup su kıtlığının sosyal, ekonomik ve politik yaşama olan olumsuz etkileri kaçınılmaz olacaktır (Aydın vd., 2017, Mengü vd., 2011). Gerekli önlemler alınmazsa, gelecekte dünyanın birçok yerinde su kıtlığı

görülmektedir. Bu nedenle kuraklık ile ilgili olarak; iklim değişikliği, gelecekteki sulama gereksinimleri, iklim adaptasyon stratejileri hakkında su temini yönetimi, biyomoleküller ve genetik araştırmalar üzerine stratejilerin geliştirilmesine yönelik çok sayıda araştırma yürütülmektedir (Mancosu vd., 2015).

## 1.1 Stres

Bitkiler de diğer canlılar gibi strese girmekte ve zarar görmektedir. Bitkiler, sesil doğaları gereği abiyotik ve biyotik stres faktörlerine en fazla maruz kalan canlılar olup strese direk maruz kalırlar. Abiyotik etmenler fiziksel ve kimyasal çevre etmenleri şeklinde gruplandırılabilir (Çizelge 1.1) (Kaçar vd., 2013). Stres, biyotik ve abiyotik stres etmenlerinin etkisi altında bitkilerde ortaya çıkan değişimlerdir. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açabilir. Bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkileyebilir. Bitkisel ürünlerde nitelik ve niceliğin azalmasına neden olabilir.

**Çizelge 1.1** : Bitkilerde biyotik ve abiyotik çevresel stres etmenleri (Kaçar vd., 2013)

<b>Abiyotik Etmenler</b>		<b>Biyotik Etmenler</b>
<b>Fiziksel Etmenler</b>	<b>Kimyasal Etmenler</b>	
Kuraklık	Hava kirliliği	Yabani bitkiler
Sıcaklık	Bitki besin elementleri	Böcekler
Radyasyon	Pestisitler	Mikroorganizmalar (virüs, bakteri ve mantarlar)
Su baskını	Toksinler	Hayvanlar
Mekanik etkiler (rüzgar, kar ve buz örtüsü)	Tuz	Hastalıklar
	Toprak çözeltisinin pH'sı	

Çevre şartlarının bitkide zarar meydana getirmediği, büyüme ve gelişmenin yanı sıra ürünün nitelik ve niceliğinde olumsuz bir etki oluşturmadığı durumlarda bitki strese değildir. Strese neden olmayan koşullara “optimum çevre koşulları” denilmektedir ve bu durumda bitkinin çevreye adaptasyonu tam olmaktadır. Stres etmenleri bitkilerde sıfırdan başlayarak orta ile en yüksek düzeyde dahil, büyüme ve gelişmede azalmaya neden olur. Ürünün nitelik ve niceliğinde değişime yol açar. Stres faktörlerinin meydana getirdiği hasar, bitkinin çevreye genetik adaptasyonunun derecesine bağlı olarak değişmektedir (Dubey, 1994). Adaptasyon farklı bitkilerin farklı bölgelerde en elverişli düzeyde yetişmelerini belirleyen ana faktördür.

Çevre şartları uygun olmamasına rağmen yaşamını sürdüren bitkinin canlı kalabilme kabiliyeti “stres dayanıklılığı” ya da “stres direnci” olarak tanımlanmaktadır (Levitt, 1980). Bitkiler çevresel şartlarda oluşabilecek olan bu değişikliklerden minimum hasar görecektir.

şekilde büyüme ve gelişmeye devam edebilirler. Üstelik uzun zaman zarfında aynı iklim şartlarında yetiştiklerinde çevresel faktörlerden en az etkilenecek şekilde uyum gösterebilirler. Dünyanın değişik iklimsel özellik gösteren bölgelerindeki aynı türün farklı bitkilerinin dağılımı, bitkilerin çok değişik çevresel şartlara uyum sağladıklarının en iyi göstergesidir (Dolferus, 2014). Bitkiler kurak koşullara maruz kaldıklarında, meydana gelen su stresine karşı çıkmak için, birkaç saniye içinde gerçekleşebilen (proteinin fosforilasyon değişimleri) ya da nispeten daha uzun zamanlarda oluşabilen (gen ifadesi sırasında oluşan değişimler) biyokimyasal ya da genetiksel değişimler ile metabolizmalarını yeniden yapılandırabilirler (Bhargava ve Sawant, 2013). Bitkinin kuraklık stresi karşısında gösterdikleri tepkileri açıklamak, ekonomik ve besinsel değerleri yüksek olan bitkilerin stres toleransını yükseltmek amacıyla yapılan çalışmalarda gelişmiş yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Bitkinin kuraklık stresine tepkisinde genomik ve transkriptomik incelemeler ile ilgili genlerin etkilerinin araştırılması, ayrıca buna paralel olarak daha fazla toleransa sahip bitki genotiplerindeki genlerin işleyişlerinin anlaşılması önemlidir (Yüksel ve Aksoy, 2017). Bunun yanı sıra strese karşı bitkiyi korumada önemli olduğu düşünülen kimyasallarında rollerinin araştırılması gerekmektedir. Bu amaçla yapılan çok sayıda çalışma mevcuttur. Örneğin salisilik asit, melatonin, jasmonik asit vb. kimyasallar ile muamelede strese cevapta önemli tespitler yapılmıştır (Shan ve Liang, 2010; Raman ve Savi, 2011; Kaya ve Yiğit, 2014; Qiu vd., 2014; Zonouri vd., 2014; Kostopoulou vd., 2015; Nawaz vd., 2018; Farouk ve Al-Amri, 2019; Zahedi vd., 2020; Jahan vd., 2020; Türk ve Genisel, 2020).

### **1.1.1 Kuraklık stresi**

Stres faktörleri arasında kuraklık yıllık tarımsal üretimin bozulmasından sorumlu en önemli faktördür (Pandey vd., 2017). Kuraklık, etkilediği bölgedeki hava, su ve toprak üzerinde oldukça olumsuz etkileri olan, aşama aşama gelişen önemli bir doğal afettir. Yağışların kaydedilen normal düzeyin önemli ölçüde altına düşmesi sonucu toprak ve su kaynaklarının olumsuz yönde etkilenmesine “kuraklık” denir.

Bugünkü tarımsal biyoteknolojinin temel amaçlarından biri, dünya nüfusunun artan gıda talebini karşılamak için birim alandan yüksek verim almaktır. Abiyotik stres ekilebilir alanlarda kayıplara neden olmaktadır. Ayrıca ürün kalitesi ve birim alandan elde edilen verimde önemli ölçüde etkilenmektedir (Gollmack vd., 2011). Kuraklık stresi bitkilerde normal büyüme dengesini değiştirir. Bir dizi morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve

moleküler değişiklikle sonuçlanır. Bu da bitkilerin büyümelerini ve üretkenliklerini etkiler (Pandey vd., 2017).

### 1.1.1.1 Bitkilerde kuraklık stresinin fizyolojisi

Abiyotik stres, dünya çapında bitkisel verim kaybının ilk nedenidir. En fazla ürün alınan kültür bitkilerinde ortalama ürün verimini %50'den fazla azaltır (Wang vd., 2004). Dünyada 2.4 milyar civarında insan yüksek oranda su stresi olan bölgelerde yaşamaktadır (Oki ve Kanae, 2006; Osakabe vd., 2014). Su, ağaçların yaş ağırlığının %50'sini, diğer bitkilerin ise %89-90'ını oluşturmaktadır (Anjum vd., 2011). Kuraklık stresi fotosentez, solunum, terleme, hormon metabolizması, enzim aktivitesi dahil olmak üzere bitkinin fizyolojik ve biyokimyasal aktivitelerinde çarpıcı değişikliklere neden olan en kritik abiyotik streslerden biridir (Okunlola vd., 2017). Bu bilgiler kuraklıkla mücadelede kuraklığa dayanıklı bitki çeşitlerinin elde edilmesi üzerinde yapılan çalışmaların önemini açığa çıkarmaktadır.

Kuraklık stresi genel anlamda toprağın sahip olduğu suyun yetersiz kalması ve buna bağlı olarak bitkilerin normal gelişimlerini sağlayamaması koşuludur. Bitkiler tarafından geri dönüşümlü (reversible=elastik) veya geri dönüşümsüz (irreversible=plastik) yanıtlar meydana getiren stres faktörleri, fiziksel kuraklık (suyun ortamda az bulunması) ya da fizyolojik kuraklıktan (donma, mineral eksikliği ve fazlalığından dolayı ortamdaki bitki tarafından yeteri kadar suyun alınmamasından) kaynaklanabilir (Greenway ve Munns, 1980). Kuraklık tipi ne olursa olsun bitkilerin sitoplazmalarında negatif su potansiyeli görülür.

Yüksek bitkilerin kökleri aracılığıyla topraktan alınan su osmotik kurallara göre bitkinin tepe organlarına taşınır. Transpirasyon ile kaybedilen su miktarı kökler vasıtası ile alınan su miktarından fazla ise iletim boruları içerisinde negatif basınç meydana gelir ve bitki organları suyu alabilmek için rekabet eder. Dolayısı ile bitkinin değişik organlarının su potansiyelleri ( $\Psi_w$ ) arasındaki denge bozulur. Bitkilerde su potansiyeli ( $\Psi_w$ ) formülde gösterildiği gibi basınç potansiyeli ( $\Psi_p$ ) ve osmotik potansiyelin ( $\Psi_s$ ) toplamıdır.  $\Psi_s$ , molekül ya da iyonlar şeklinde suda çözünmüş madde miktarına bağlı olarak değişir.  $\Psi_p$  ise hücrede bağımsız şekilde bulunan su moleküllerinin membran yüzeylerine ve hücre duvarlarına itilmesi ile ortaya çıkar. Hücrede turgor basıncı daima pozitif olmalıdır. Turgor basıncı

düştüğü zaman bitkide solma meydana gelir. Bu nedenle  $\Psi_p$  su stresi veya kuraklık stresi oluşan bitkilerde  $\Psi_w$  ana unsurudur (Kaçar vd., 2013).

$$\Psi_w = \Psi_p + \Psi_s$$

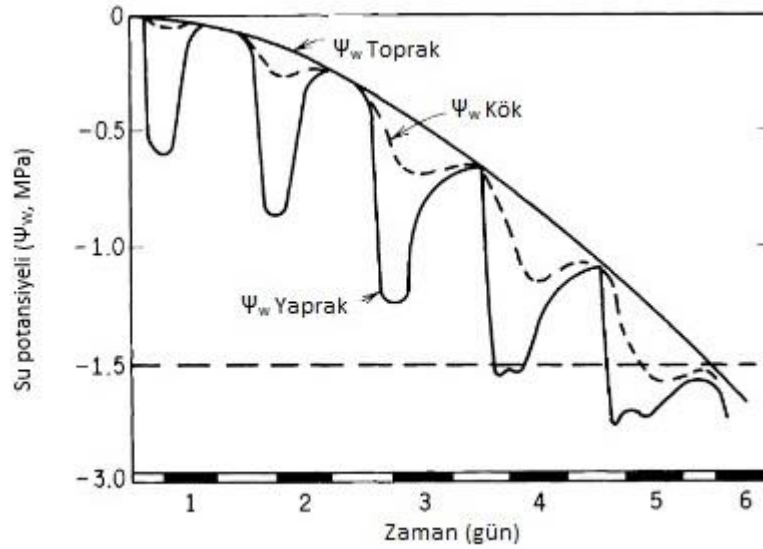
Hava ve su ile dolu olan toprak porları, toprak parçacıkları ile agregatlar arasındaki boşluklardan oluşur. Toprakta su, drenaj ve evaporasyon ile su kaybedilir. Ayrıca bitki kökleri tarafından su alınması da toprakta bulunan su miktarı azaltır. Toprakta su dolu porlar boşaldıkça, daha küçük porlarda kalan su çok daha büyük kuvvetle tutulur. Toprakta su potansiyelinin azalmasına ve toprak parçacıkları tarafından suyun giderek daha büyük bir güçle tutulmasına bağlı olarak bitki köklerinin suyu alma güçleri de azalır. Bunun bir sonucu olarak bitki gereksinim duyduğu suyu kökleriyle topraktan alamaz ve bitki solmaya başlar. Su almama durumunun sürmesi bitkide solmanın sürekli olmasına yol açar. İyi sulanmış bir bitkinin yaprakları -0.2 ile -0.6 MPa arasında değişen su potansiyeli değerine sahiptir. Kuraklık koşullarında yaprakların su potansiyeli değerleri -2 ile -5 MPa arasında değişebilir. Sürekli solma noktasında bitkilerin su miktarı -1.5 MPa'dır (Karahana vd., 2014; Kadioğlu, 2011).

Toprak suyunun içinde çözülmüş olan çeşitli tuzlar toprağın osmotik konsantrasyonunu dolayısıyla osmotik basıncını artırır. Özellikle tuzlu topraklarda çözülmüş tuz konsantrasyonu çok yüksek olduğundan bazı hallerde toprak suyunun osmotik basıncı 100 atmosferi bulur. Seraları ve tarımsal toprakları gereğinden fazla gübreyle gübrelemek ya da bu toprakları yüksek konsantrasyonda tuzlu su ile sulamak toprak suyunun osmotik basıncının artmasına ve böyle topraklarda bitkilerin gereği kadar sudan faydalanamamasına yol açar. Toprakta bol su olsa bile çeşitli fizyolojik nedenlerle mevcut suyun bitkiler tarafından alınıp kullanılmamasına fizyolojik kuraklık denir (Bozcuk, 1997).

Su stresi, toprakta bitkiye faydalı su miktarının azalması, atmosferik koşulların etkisi ile transpirasyon ve evaporasyon sonucu su kaybının devam etmesi durumunda oluşur. Stres günlük ya da uzun süreli olabilir. Su stresinin uzun zaman devam etmesi ve yeterince su alınmaması bitkilerde ölüme neden olabilir (Kaçar vd., 2013). Morfolojik ve fizyolojik değişimlerle su kapsamları farklı koşullara adapte olarak yaşamlarını sürdüren bitkiler değişik isimler altında sınıflandırılmıştır. Örneğin hidrofitler suyun daima bulunduğu yörelerde yetişen, suyu seven bitkilerdir. Halofitler az, orta ve çok yoğun tuz

konsantrasyonuna sahip habitatlarda yetişen bitkilerdir. Kserofitler çöller ve stepler gibi su miktarının sürekli ya da dönemsel olarak çok düşük olduğu ortamlarda yetişen bitkilerdir. Mezofitler ise, kserofitlere göre daha nemli toprakları tercih eden bitkilerdir (Korkmaz ve Durmaz, 2017).

Su stresinde toprağın su içeriğine bağlı olarak bitki yaprağının ve kökünün su potansiyelindeki ( $\Psi_w$ ) değişim Slatyer (1967) tarafından araştırılmıştır. Slatyer (1967) sulama yapıldıktan sonra birinci günden başlayarak bitki yapraklarının su potansiyeli ( $\Psi_w$ ) hızla azaldığını ve bitki köklerinde suyun azalmasının bitki yapraklarına göre daha az olduğunu belirtmiştir. Sulamadan sonraki 4. günde bitki yapraklarında su potansiyeli ( $\Psi_w$ ) sürekli solma noktası (-1.5 MPa) düzeyine indiğini, izleyen 5. günde ise bitki yaprağında ve kökünde su potansiyeli ( $\Psi_w$ ) sürekli solma noktasının altına indiğini saptamıştır (Şekil 1.1). Bitki köküne su girişi durmuş ve stomalar kapanmıştır. Bu durumun sürmesi bitkide ölüme neden olmaktadır (Slatyer, 1967; Kaçar vd., 2013).



**Şekil 1.1** : Su stresinde toprağın içeriğine bağlı olarak bitki yaprağının ve kökünün su potansiyelindeki ( $\Psi_w$ ) değişim (Slatyer, 1967)

Kuraklık stresi sırasında meydana gelen fizyolojik ve metabolik mekanizmalar kompleks olup birbiriyle ilişkilidir. Bu yeniden yapılandırma işlevleri şu şekildedir:

**Morfolojik Etki;** Kurak koşullarda transpirasyon ile kaybedilen suya bağlı olarak yapraklarda su miktarı azalırken kökler de topraktaki suyu daha hızlı absorbe eder (Çırak ve Esenal, 2006; Kutlu, 2010). Bitkiler su kaybını en aza indirmek için yapraklarını döker, toplam yaprak alanlarını küçültür ve transpirasyonu azaltır. Böylelikle bitkinin su kaybı minimum olur. Kserofit ortama adaptasyon gösteren bitkilerde epidermis üzerinde oluşan



kutikula tabakasının kalınlığı artar, üzerine mum tabakası birikir. Ayrıca epidermisten oluşan koruyucu tüylerin sayısında da önemli artış olmaktadır. Bütün bu meydana gelen değişimler hem güneş ışınlarının bitki üzerindeki etkisini azaltmak için hem de transpirasyonla suyun kaybını azaltmak için meydana gelen önemli adaptasyon mekanizmalarıdır. Stomalar bu tür ortamlara adaptasyon gösteren bitkilerde genellikle alt epidermiste bulunup, kserofit özellik göstermektedir. Yaprak alanındaki küçülmenin yanı sıra birim alandaki CO<sub>2</sub> fiksasyonu da azalmaktadır. Bu durumda bitki daha az fotosentez yaparak harcadıklarını yerine koyamaz, büyüme ve gelişme geriler (Costa-França vd., 2000; Türkan vd., 2005). Kuraklık stresi altında kökler, kurak ve sıcak toprağın etkisinden alttaki canlı hücreleri korumak için suberine benzer kalın bir doku tabakası ile örtülür. Fotosentez ürünlerinin büyük bir kısmı köklere taşınır. Böylelikle kök hızlı gelişir ve kökün gövdeye oranı artar (Öztürk ve Seçmen, 1992).

**Mekanik Etki;** Bitki hücrelerinden belirgin su kaybı olduğu zaman bitkide turgor azalmasıyla kendini belli eden önemli stres kaynağı kuraklıktır (Levitt, 1980). Plazma membranının yapısı hücredeki sulu ortamın bir sonucudur ve bu yapı membrandaki hidrofobik fosfolipid kısımların su ile çepere basınç yapması sonucu meydana gelir (Sıvı-katı faz). Hücrede su kaybı ile birlikte, membran yapısı da değişir. Fosfolipidlerin hidrofilik baş kısımları birbirine yaklaşır ve membranlar yoğun bir şekilde görülür (Jel fazı). Bu yeni yapıda membran lipidleri sıvı-katı fazında olduğu için daha az kinetik enerjiyle lateral ve rotasyonel hareket eder. Su kaybı hücrede hacmin azalmasına ve plazma membranının hücre duvarından ayrılmasına neden olur (plazmoliz), sadece plazmodezmler vasıtasıyla ilişkisini devam ettirir. Gerilim altındaki plazma membranı ile tonoplastta çökme ve yırtılmalar oluşabilir (McKersie ve Leshem, 1994). Bu durum, zarlar üzerinde yerleşen hidrolitik enzimlerin serbest kalmasına ve dolayısıyla sitoplazmanın otoliziyle neticelenebilir (Salisbury ve Ross, 1992). Bu zarar normal hücresel metabolizmaya çoğunlukla kalıcı zarar verir.

**Metabolik Etki;** Hücrede aşırı su kaybı olduğunda hücresel metabolizmanın bozulması ile kendini gösteren sekonder strestir. Su, hücre içeriğinin büyük bir bölümünü oluşturma, taşıyıcı olma, hücre tepkimeler ve işlevler için çözücü rol oynama gibi işlevsel özelliklere sahiptir. Hücrede su kaybı olunca normal regülasyonunu sürdüremez ve metabolizması bozulur. Su kaybı sonucu meydana gelen iyon-birikimi, proteinlerin yapısının ve membran bütünlüğünün bozulmasına neden olarak hücreye zarar verebilir. Su kaybına bağlı; proteinlerin yapısındaki hidrofobik ve hidrofilik amino asitlerin su ile

etkileşimleri zarar görür (Campbell, 1991). Bu durum da protein denatürasyonlarına ve enzim inhibisyonlarına yol açar (Bray, 1997). Proteinlerin denatürasyonu ile dokularda aminoasitler birikir, absisik asit (ABA) artar ve en önemlisi amonyak (NH<sub>3</sub>) gibi toksik bir bileşik meydana gelir. NH<sub>3</sub> bitkide metabolik dengeyi bozar (Çırak ve Esendal, 2006). Ayrıca kuraklık stresi nükleik asitlerin degradasyonuna neden olur.

**Fizyolojik etki;** Kuraklık esnasında fotosentez genel olarak iki nedene bağlı olarak gerilemektedir. Birincisi, orta düzeydeki su eksikliği koşullarında stomaların kapanması ile meydana gelen stomatal sınırlamalardır. İkincisi ise daha uzun süreli ve daha şiddetli stres sonucu meydana gelen stomatal olmayan sınırlamalardır (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Kuraklık stresi sırasında fotosentezdeki ilk azalma, stomaların kapanması ve CO<sub>2</sub> emiliminin azalmasıyla kendini belli eder. Bitki, su kaybını azaltmak için stomaları kapattığında fotosentez için ihtiyaç duyulan CO<sub>2</sub> alınımı da engellenir. Kuraklık stresi ile bitkideki yaprak alanı küçülmektedir. Bu da fotosentezin azalmasına neden olmaktadır (Çırak ve Esendal, 2006).

Bitkilerin fizyolojik metabolizmaları hormonal dengeye büyük ölçüde bağımlıdır (Zhang vd., 2009). Bitkideki ABA kuraklık direncinde çok önemli bir rol oynar (Hassan ve Elnemr, 2013). Etkili bir şekilde stoma kapanmasını düzenleyebilir, terlemeyi azaltabilir, antioksidan sistemin aktivitesini artırabilir ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) süpürme işleminde etkinliği artırabilir (Ban vd., 2017). Bitkiler, kurak ortama adaptasyon için giberellin (GA<sub>3</sub>) konsantrasyonunu azaltır ve ABA konsantrasyonunu artırır (Kowitcharoen vd., 2015; Zhang vd., 2018).

### **1.1.1.2 Kuraklık stresine karşı geliştirilen adaptasyonlar**

Bitkiler kuraklık stresi altındayken hayatta kalmasını sağlayan iki ana savunma mekanizması vardır. Bunlar "kuraklıktan kaçınma" ve "kuraklık toleransı" mekanizmalarıdır (Mueller vd., 2013; Zheng vd., 2017).

“Kuraklıktan kaçınma”, bitkinin su sıkıntısında hayatını devam ettirebilmesi için çok önemli bir adaptasyondur. Protoplazmadaki su potansiyeli azalmasının bitkiye zarar verecek kadar uzun sürmesini engelleyecek stratejilerdir. Stres etmenlerinin bitki dokusuna girişinin önlenmesini veya azaltılmasını ifade eder. Kuraklığa karşı bitkide, kutikula ve vakstan oluşan tabaka ile birlikte oluşan yoğun koruyucu tüy gelişimi ve kserofit tip stomanın gelişimi ile morfolojik ve anatomik adaptasyonlar görülmektedir. Bunlar; fiziksel ve

kimyasal destek elemanlarının gelişmesi, kuraklığa vejetatif dokuların adaptasyonu, kuraklığa vasküler dokuların adaptasyonu, kurak ortamda üreme stratejilerinin gelişmesi, üretken hücrelerin korunması, su ileten ksilemin trakeidlerinin ligninleşmesi gibi değişiklikler ile bitkinin yaşamının ve üretkenliğinin sürdürülmesidir (Jenks ve Hasegawa, 2005).

“Kuraklık toleransı”, bitkileri şiddetli kuraklık stresi altındaki ROT kaynaklanan zararlı etkileri hafifletmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemi kullanan bir koruma mekanizması ile açıklanabilir. ROT hasarlarına karşı membranı koruyarak, bitkilerin normal fizyolojik fonksiyonlarını sürdürmek için çevreden daha fazla su emmeyi teşvik etmek amacıyla prolin, çözünür protein ve çözünür şeker gibi osmo-düzenleyici maddeleri biriktirebilirler (Reddy vd., 2004). Bitkiler ROT’u kaldırmak için SOD, CAT, POD gibi antioksidanları içeren enzimatik antioksidan sistemleri ile askorbik asit, glutatyon, flavonoidler ve toplam fenoller gibi bazı ikincil metabolitleri içeren enzimatik olmayan antioksidan sistemi kullanan etkili bir savunma sistemine sahiptir (Cheng vd., 2018).

## **1.2 Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikalleri**

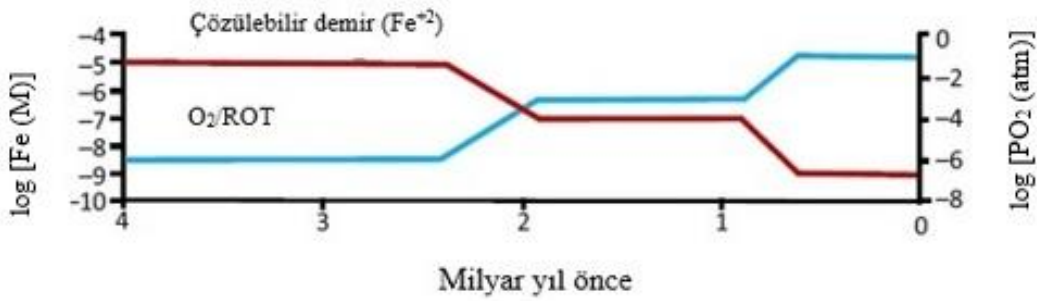
Canlının yaşamını sürdürdüğü ortamda maruz kaldığı çevresel etmenler ve fizyolojisinde normal şartlarda gerçekleşen pek çok hücrel aktivite oksidan oluşumuna neden olduğu için devamlı bir radikal yapımı söz konusudur. Radikaller, bir ve daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip atom veya atom gruplarıdır. Radikaller pozitif, negatif veya nötr olabilirler. Kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonlar atomların dış yörünge orbitallerindeki elektronlar seviyesinde gerçekleşir. Dış yörünge orbitallerinde eşleşmemiş elektron bulunan radikaller, reaktifliği çok yüksek olan kimyasallardır. Farklı ortamlarda çeşitli biyokimyasal reaksiyonlar ile oluşan radikaller kontrol altında tutulmazlarsa reaktivlikleri nedeniyle lipid, protein, DNA ve nükleotid gibi biyolojik materyale de zarar verebilmektedir (Kopáni vd., 2006).

ROT kısmen indirgenmiş veya uyarılmış atmosferik oksijen formlarıdır (Halliwell ve Gutteridge, 2015). Hücrelerde sinyal molekülleri olarak işlev görürler, fakat aynı zamanda aerobik metabolizmanın kaçınılmaz toksik yan ürünleri olarak düşünülürler (Konig vd., 2012; Foyer ve Noctor, 2013; Vaahtera vd., 2014; Mignolet-Spruyt vd., 2016).

Bitkiler stres altındayken, hücre hasarına veya ölüme neden olan ROT ve serbest radikallerin oluşması membran lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Hidrojen peroksit

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) bitki büyümesinde ikili rol oynar. Düşük konsantrasyonlarda, çeşitli biyotik ve abiyotik streslere toleransı tetikleyen, sinyali indükleyen, bir sinyal molekülü olarak görev görür. Yüksek konsantrasyonlarda ise oksidatif stres gelişmesine yol açar ve tiyol gruplarını oksitleyerek enzimleri etkisiz hale getirebilir (Tewari vd., 2006).

Atmosferik oksijenin (O<sub>2</sub>) ortaya çıkışı ile primordial okyanuslarda demir oksidasyonu ve çökeltme aynı zamana denk gelmektedir (Şekil 1.2) ROT'un ortaya çıkışının atmosferik oksijen ile aynı anda gerçekleştiği ileri sürülmektedir. ROT'lar, aerobik organizmaların evrimiyle yaklaşık olarak 2.7 milyon yıl önce var olmuştur (Mittler vd., 2004; Anbar, 2008; Miller, 2012; Boyd vd., 2014; Mittler, 2017).

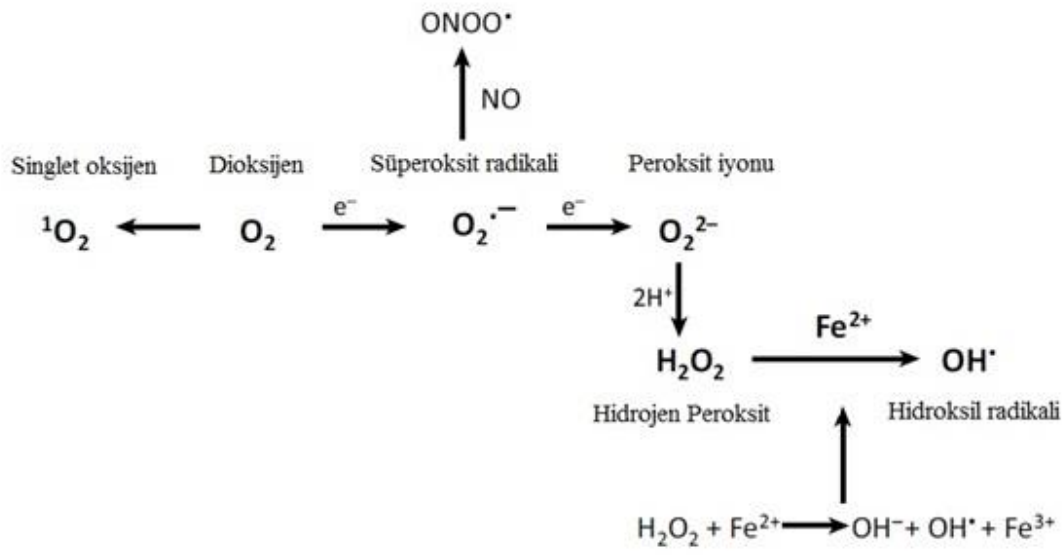


Şekil 1.2 : Atmosferik oksijenin ortaya çıkması (Mittler, 2017)

Ortam koşullarının değişmesiyle birlikte iç denge bozulur. Bozulan iç dengeyi eski haline döndürmek için hücrenin farklı bölümlerinde yer alan metabolik yollar devreye girer. Bunun yanı sıra, bu denge abiyotik ve biyotik stres koşulları altında bozulabilir. Su, bitki büyümesinin ana unsurlarından biri olduğundan, yetersizliğinin ana stres kaynağı olduğu düşünülmektedir (Tas ve Tas, 2007; Yang vd., 2016). Stomalar fotosentezde kullanılacak CO<sub>2</sub>'nin atmosferden alınması için açıldığında yapraklardan su kaybına bağlı olarak bitkilerde su eksikliği kısmen görülür. Bitkilerin stres sırasındaki ilk tepkisi, transpirasyonla su kaybını önlemek için stomaları kapatmaktır (Dai, 2013; Obata vd., 2015; Mittler ve Blumwald, 2015). Bu kapanma yapraklarda CO<sub>2</sub>'nin azalmasına neden olur ve sonuç olarak fotosentez hızı düşer. Düşük hücre içi CO<sub>2</sub> seviyesi Calvin döngüsü reaksiyonlarını azaltır. Bu da NADPH ve ATP tüketimini azaltır. Pigment sistemi I'deki ferrodoksin, ortamda indirgeyecek NADP<sup>+</sup> bulamayınca elektronunu Ferrodoksin NADP redüktaz yerine O<sub>2</sub>'e aktarır. O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e dönüştürülür. Buna "Mehler Reaksiyonu" adı verilir (Asada, 1999; Apel ve Hirt, 2004). Bu yanıt, elektron alıcılarının (NADP<sup>+</sup>, NAD<sup>+</sup>, FAD)

rejenerasyon eksikliği ile sonuçlanır, elektronların elektron taşıma zincirinden oksijene transferini kolaylaştırır ve daha fazla ROT üretimine yol açar (Robinson ve Bunce, 2000).

Atmosferik oksijen (dioksijen;  $O_2$ ), paralel spin durumunda iki eşlenmemiş elektrona sahiptir ve ROT oluşumunda önemli rolü vardır. Atmosferik oksijen geçiş metallerini (Fe, Cu gibi) içeren enzimler vasıtasıyla oksitlenme tepkimeleri oluşturur. ROT hem serbest radikalleri hem de hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süperoksit ( $O_2^{\cdot-}$ ), singlet oksijen ( $^1O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^{\cdot}$ ) gibi serbest radikal olmayan oksijenli molekülleri içerir. Serbest radikal olmayan oksijenli moleküllerin reaktivitesi çok yüksektir ve toksik etkilere neden olurlar.  $H_2O_2$ ,  $O_2^{\cdot-}$ 'in etrafındaki moleküllerden bir elektron veya moleküler oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektron alarak peroksitin iki proton ( $H^+$ ) ile kombine olmasıyla ortaya çıkar (Kohen ve Nyska, 2002).  $H_2O_2$  üretimi  $O_2^{\cdot-}$  dismutasyonu ile meydana gelir. Bu tepkimeye iki tane  $O_2^{\cdot-}$  iki proton alarak  $H_2O_2$  ve moleküler oksijeni meydana getirir. SOD enzimi bu tepkimeyi hızlandırır ya da kendiliğinden gerçekleşir (Miao ve Clair, 2009).  $H_2O_2$  serbest radikal olmadığı halde ROT içinde değerlendirilir ve serbest radikallerin meydana gelmesinde önemli role sahiptir. Çünkü  $H_2O_2$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Cu^+$  gibi geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ile,  $O_2^{\cdot-}$  radikallerinin varlığında Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda  $OH^{\cdot}$  oluşturur.  $OH^{\cdot}$  radikali, DNA, proteinler, lipitler, aminoasitler, glikoz ve metallerle etkileşime girebilen en reaktif serbest oksijen radikalidir (Young ve Woodside, 2001; Al-Omar vd., 2004).  $O_2^{\cdot-}$ , oksijen ( $O_2$ ) molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi ile ya da indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu ile oluşabilir (Şekil 1.3) (Mittler, 2017).  $O_2^{\cdot-}$  radikalının reaktivitesi yüksek değildir ve direkt zarar oluşturmaz.  $O_2^{\cdot-}$  radikali  $H_2O_2$  kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olması nedeniyle önemlidir (Aslankoç vd., 2019).  $^1O_2$ , oksijen elektronlarından birinin dışarıdan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi sonucu ya da süperoksit radikalının nitrik oksit ile tepkimeye girmesi ve  $H_2O_2$ 'nin hipoklorit ile tepkimesi neticesinde meydana gelebilir (Çaylak, 2011).



**Şekil 1.3** : Farklı ROT'ların oluşumu (Mittler, 2017)

Oksidatif stres sırasında ROT'un ana hedeflerinin DNA, RNA, proteinler ve lipidler olduğu düşünülmektedir. Farklı ROT'lar, bu hücrel bileşenlere karşı farklı reaktivite derecelerine sahiptir ve  $\text{Fe}^{+2}$  formundaki serbest demirin mevcudiyeti, hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olan Fenton reaksiyonunda demirin rolü nedeniyle ROT toksisitesi için olağanüstü olarak kabul edilir. ROT'lar, farklı reaktivite seviyeleri, üretim yerleri ve biyolojik membranları geçme potansiyeli gibi çeşitli özelliklerinden dolayı çok yönlüdür (Çizelge 1.2).  $\text{OH}^{\cdot}$  en kararsız ROT'tur, hızlı şekilde çeşitli hücrel bileşenlerle (lipidler, DNA, karbohidratlar ve proteinler) tepkime yapar ve yarılanma ömrü ( $t_{1/2}$ ) sadece 1 nanosaniye (ns)'dir.  $\text{OH}^{\cdot}$  çok çeşitli hedef ile tepkime yaparken,  $\text{O}_2^{\cdot-}$  genel olarak Fe-S kümeleriyle,  ${}^1\text{O}_2$  doymamış yağ asitleri, guanin ve bazı aminoasitler ile tepkime yapar.  $\text{H}_2\text{O}_2$  ise diğer ROT'lara nazaran daha karardır, yarılanma ömrü 1 milisaniyedir (ms) ve yüksek konsantrasyonda ( $\mu\text{M} - \text{mM}$ ) birikir. Yüksek bitkilerde, ROT'un gelişmeyi, farklılaşmayı, redoks seviyelerini, stres sinyallerini, diğer organizmalarla etkileşimi, sistemik tepkileri ve hücre ölümünü düzenlediği bulunmuştur. Aerobik metabolizmanın toksik yan ürünleri olan ROT öncelikle kloroplastlarda, mitokondride ve peroksizomlarda oluşur. Bunlar daha sonra bir dizi antioksidan enzim ve antioksidanlar tarafından uzaklaştırılır veya detoksifiye edilir (Çizelge 1.2). Hücrel antioksidatif mekanizmalar tarafından ROT uzaklaştırılmasıyla ilgili ROT üretiminin bu prosesi, ROT'un DNA, RNA, protein ve membran oksidasyonu ile hasarını içerebilecek potansiyel toksik etkilerini önlemek için hücrelerde sürekli olarak meydana gelir (Çizelge 2). Hücrenin birçok antioksidan sistemi bu nedenle ROT'u toksik olmayan bir seviyede tutar ve bu dengeden sapma oksidatif stres koşullarının oluşmasına

neden olur (Mittler vd., 2004; Cheeseman, 2006; Mittler vd., 2011; Konig vd., 2012; Foyer ve Noctor, 2013; Vaahtera vd., 2014; Halliwell ve Gutteridge, 2015; Mignolet-Spruyt vd., 2016; Mittler, 2017).

**Çizelge 1.2 :** Bitki ve hayvan hücrelerinde ROT'un özellikleri ile reaktivitesi (Mittler, 2017)

ROT	t <sub>1/2</sub>	Etki şekli	Üretim yeri	Süpürme sistemi
Süperoksit (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	1-4 µs	Fe-S proteinleriyle reaksiyona girer H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'ye değişir	Apoplast, Kloroplast, Mitokondri, Peroksizom, Elektron transfer zinciri	SOD, Flavonoidler, Askorbat...
Hidroksil radikali (OH)	1 ns	DNA, RNA, lipitler ve proteinler dahil tüm biyomoleküller ile son derece reaktif	Fe ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (Fenton reaksiyonu)	Flavonoidler, Prolin, Şeker, Askorbat...
Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	>1 ms	Sistein ve metiyonin kalıntılarına saldırarak proteinlerle reaksiyona girer. DNA ile reaksiyona girer.	Peroksizom, Kloroplast, Mitokondri, Apoplast, Sitozol	APX, CAT, GPX, POD, GS...
Singlet oksijen ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> )	1-4 µs	Okside lipitler, proteinler (Trp, His, Tyr, Met, ve Cys kalıntıları) DNA G kalıntıları	Membranlar, Kloroplast, Nukleus	Karatenoidler ve α-Tokoferol

### 1.3 Antioksidan Savunma

Organizmalar serbest radikallerle mücadele edecek süpürme mekanizmalarına sahiptir. Antioksidanlar özellikle protein, lipit, karbohidrat ve DNA gibi moleküllerin oksidasyonunu yavaşlatan veya durduran maddelerdir. Abiyotik strese dayanıklı bitkiler, düşük ROT seviyelerini korumalarına ve stresin zararlı etkilerini önlemelerine yardımcı olan güçlü temizleme sistemlerine sahiptir (Çizelge 1.3) (Büyük vd., 2012). Bitkilerin antioksidan sistemi ROT üretimini elimine etmek için, enzimatik antioksidan sistemi ve enzimatik olmayan antioksidan sisteminden oluşur (Wang vd., 2019).

**Çizelge 1.3 :** Bitkilerde antioksidanların rolleri ve lokasyonları (Büyük vd., 2012)

<b>Antioksidanlar</b>	<b>Rolü</b>	<b>Hüresel Lokasyonu</b>
Askorbik asit	Direk olarak $O_2^-$ , $OH^-$ ve $H_2O_2$ 'yu temizler	Kloroplast, apoplast, vakuol, sitozol
Tokoferoller	Lipit peroksidasyonunu kırar. Lipit $O_2^-$ ve $OH^-$ 'i temizler	Bitkilerin tüm kısımlarında bulunur. Kloroplast membranlarında tokoferol yoğun olarak bulunur
Karotenoidler	Peroksi radikalleri ile $O_2^-$ ve $OH^-$ 'i temizler	Sitozol, vakuol
Glutasyon	Redoks döngüsünün bir substratı olarak, $OH^-$ ile $^1O_2$ 'nin direk temizlenmesinde yararlıdır.	Sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri
Fenolik bileşikler	Antioksidan özelliklerini iyi birer hidrojen veya elektron vericisi olmaları, zincir kırıcı özellikleri ve geçiş metalleri ile şelat oluşturmaları ile gösterirler.	Sitozol, vakuol
Süperoksit dismutaz	$O_2^-$ 'i $H_2O_2$ 'ye dönüştürür.	Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksizom
Askorbat peroksidaz	$H_2O_2$ 'yi $H_2O$ 'ya çevirir.	Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksizom
Katalaz	$H_2O_2$ 'yi $H_2O$ 'ya çevirir.	Peroksizom
Glutasyon peroksidaz	$H_2O_2$ 'yi ve lipit peroksidlerini etkisizleştirir.	Kloroplast, sitozol, mitokondri, endoplazmik retikulum

### 1.3.1 Enzimatik olmayan antioksidanlar

Antioksidanlar, enzimatik olmayan koruyucu mekanizmalarda ROT temizlemesinde doğrudan katılırlar. Bu maddeler ROT ile doğrudan reaksiyona girebilir, onların daha zararsız şekillerini oluşturabilir ve ROT temizleme işleminde önemli bir rol oynayan enzimlerin substratı olarak kullanılabilir. Bunlar askorbik asit, glutasyon, karotenoidler, fenoller ve flavanoiddir (Okunlola vd., 2017).

#### 1.3.1.1 Askorbik asit

Askorbik asit (C vitamini, AsA), hücrelerde fazla oranda vardır, suda çözünebilmektedir ve en geniş boyutlu çalışılan antioksidanlardan bir tanesidir. Stres fizyolojisi, büyüme-gelişme, hücre farklılaşması gibi çeşitli fizyolojik süreçlere etki etmektedir (Foyer, 1993; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). ROT miktarındaki artışa bağlı



olarak oluşan hasarların minimum seviyeye düşürülmesinde önemli rol oynamaktadır (Gill ve Tuteja, 2010). Bitkilerin mitokondrilerinde sentezlenmektedir, proton hareketi veya difüzyon ile kloroplast, sitozol, vakuol, apoplast ve peroksizom gibi bitki kısımlarına transfer edilmektedir (Horemans vd., 2000; Gill ve Tuteja, 2010). Antioksidan olarak görevi doğrudan  $O_2^-$ ,  $OH^-$  ve  $H_2O_2$ 'yi temizleyerek membranları korumaktır (Noctor ve Foyer, 1998). AsA, pH aracılığı ile PSII aktivitesini düzenlemektedir. Bu düzenleme fotooksidasyon tepkimelerini engellemede görev aldığını göstermektedir (Karuppanapandian vd., 2011). AsA okside  $\alpha$ - tokoferol radikalini indirgeyerek  $\alpha$ - tokoferolün yeniden serbest radikalleri yakalayıcı antioksidan olarak görev almasını sağlamaktadır (El-Beltagi ve Mohamed, 2013).

### 1.3.1.2 Glutasyon

ROT'dan kaynaklanan oksidatif strese karşı korumada görev alabilmesi için glutasyon indirgenmiş şekilde bulunmalıdır (Meyer, 2008). GSH, glutasyon-S-transferaz tarafından katalizlenerek detoksifikasyon sisteminde ve glutasyon peroksidaz tarafından katalizlenerek antioksidan sistemde rol oynamaktadır. Her iki enzimde hücresel GSH havuzunu kullanır. Ancak antioksidan reaksiyonların bir sonucu olarak oksitlenmiş glutasyona (GSSG) dönüştürülür. Glutasyon redüktaz, GSH'nin GSSG'den NADPH'ye bağlı bir şekilde geri kazanılmasını katalize eden tek enzimdir (Jozefczak vd., 2012; Bankapalli vd., 2015; Özaslan vd., 2018; Ceylan vd., 2019; Demir, 2019; Turkan vd., 2019).

Glutasyonun indirgenmiş formu, en fazla kloroplastta olmak üzere bitki kısımlarının çoğunda bulunmaktadır (Dat vd., 2000). ATP'ye bağlı tepkimeler neticesinde üretilen düşük molekül ağırlıklı bir tripeptid glutasyon ( $\gamma$  glu-cys-gly; GSH) bileşiğidir (Arora vd., 2002). GSH yapımı ATP'ye bağlı 2 aşamada olmaktadır. Birinci aşamada glutamat-sistein ligaz (GCL), Cys ve Glu'dan  $\gamma$ -glutamilsistein meydana gelmesini katalizler. İkinci aşamada GSH meydana getirebilmek için glutasyon sentaz (GS)  $\gamma$ -glutamilsisteine Gly ilave eder. GSH, GSSG'nin meydana geldiği birçok hücresel tepkimede substrat olarak fonksiyon yapar. GSH ve GSSG arasındaki denge hücresel redoks halinin korunması için gereklidir (Foyer, 1976). GSH; normal koşullarda sülfat taşınımının düzenlenmesi, sinyal iletimi, hücre farklılaşması, hücre ölümü, patojen direnci ve strese cevap veren genlerin ifadesi gibi birçok fizyolojik olayda görev almaktadır (Xiang vd., 2001; Noctor vd., 2002; Mateo vd., 2006).

GSH, hücrenin yükseltgenme indirgenme dengesini muhafaza eden önemli bir indirgen ve antioksidandır. Serbest radikaller ve peroksitlerle tepkime yaparak hücreleri oksidatif hasara karşı savunmaktadır. GSH;  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve en toksik ROT olan  $\text{OH}^\cdot$  radikalının potansiyel süpürücüsüdür (Briviba vd., 1997). Stres varlığında proteinlerdeki sülfidril (-SH) gruplarını redükte durumda tutarak onların okside olmasını önler. Böylece, işlevsel proteinlerin ve enzimlerin inaktive edilmesini önlemektedir (Mytilineou vd., 2002). GSH, hücrenel ağır metal yoğunluğunun denetlenmesinde önemli fonksiyona sahip protein karbonillerin öncüsüdür. Ağır metal stresine karşı ağır metal iyonlarını şelatlamaya yardım eden fitoşelatin sentaz yolu ile fitoşelatinlerin meydana gelmesine yardımcı olmaktadır (Mytilineou vd., 2002). GSH, ROT'un artan miktarına bağlı oluşabilecek lipit peroksidasyon tepkimeleri ile meydana gelen peroksitleri zararsız bileşenlere dönüştürerek membran yapısını kararlı bir duruma getirmektedir (Price vd., 1990). GSH ayrı olarak, askorbat-glutasyon döngüsünde indirgenmiş askorbik asidin meydana gelmesini sağlamakta,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi detoksifiye etmekte, antioksidan savunma sisteminde önemli bir rol almaktadır. Kuvvetli stres ile karşı karşıya olan bitkilerde genellikle indirgenmiş glutasyon miktarının azalması, redoks halinin bozulmasına bitki dokularında okside biçimdeki glutasyon miktarının artmasına ve oksidatif hasarın oluşmasına neden olmaktadır (Tausz vd., 2004).

### 1.3.1.3 Prolin

Prolin, osmolit olmasının yanı sıra stres koşulları altında redoks potansiyelini tamponlayan, hücrenel homoestazisi dengeleyen, serbest radikalleri temizleyen, hücre membranı ve proteinleri içeren hücre altı yapıları stabilize etme kapasitesi ile tanınan bir aminoasittir (Szabados ve Saviouré, 2009). Prolin, en önemli hücre çözünenlerinden biridir. Yüksek prolin konsantrasyonu su stresine tolerans göstergesi olarak kabul edilir (Liu vd., 2014a). Kuraklık stresi sonucu dokuda prolin birikimi, düşük su potansiyeline verilen ancak spesifik olmayan bir yanıt olarak değerlendirilebilmektedir. Prolin ozmotik olarak etkin bir maddedir. Bitki hücrelerinde yararlanılabilir azot birikiminin düzenlenmesinde görevlidir. Potansiyel bir antioksidan ve programlanmış hücre ölümü inhibitörü olarak düşünülür (Ashraf, 1994). Yüksek konsantrasyonlardaki prolin, hücrenel ozmotik ayarlamasına, ROT detoksifikasyonuna, membran bütünlüğünün korunmasına ve enzimlerin/proteinlerin aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi göstermeyerek bitkileri çevresel streslerden koruyabilir (Ashraf, 2009). Bazı araştırmacılar da prolinin uyum prosesinin bir unsuru olduğunu ve çoklu yanıtların etkinleştirilmesi için gerekli düzenleyici mekanizmalarda görev aldığını

ileri sürmüştür (Lutts vd., 1996). OH<sup>-</sup> süpürme gücü açısından sorbitol, mannitol, myo-inositol ve prolin kıyaslandığında prolinin daha etkin bir süpürme gücü olduğu ortaya çıkmıştır (Smirnoff ve Cumbes, 1989). Bu nedenle prolin yalnızca önemli bir redoks sinyal molekülü olmakla kalmayıp bununla birlikte bitkilerde tuz, metal ve kuraklık stresi koşullarında meydana gelen ROT'un etkili bir süpürücüsüdür (Alia ve Saradhi, 1991).

#### 1.3.1.4 Karotenoidler

Karotenoidler, bitki dokularının plastidlerine lokalize olmuş yağda çözünebilen moleküllerdir. 400-550 nm dalga boyundaki ışık enerjini absorblayarak fotosentezde kullanılmak üzere klorofillere transfer ederler. Bu nedenle karotenoidler aksesuar (yardımcı) pigment olarak adlandırılırlar (Sieferman-Harms, 1987; El-Beltagi ve Mohamed, 2013; Taiz vd., 2019).

Karotenoidler önemli doğal pigmentlerdir. Sarı, turuncu, pembe ve kırmızı renk gösterirler. Neredeyse yüksek bitkilerin tümünde, alglerin çoğunda ve birçok mikroorganizmada bulunan karotenoidler hidrokarbonlar (likopen, karoten,  $\alpha$ -karoten ve  $\beta$ -karoten) ya da bunların oksijenli türevleri (lutein, ksantofiller, zeaksantin,  $\alpha$ -kriptoksanin ve  $\beta$ -kriptoksan, astaksantin, kantaksantin) olarak bulunur (Erzi, 2019).

Karotenoidler ışığın ve oksijenin zararlı etkilerine karşı foto-koruyucu bir ajandır. Karotenoidler çok fazla ışığı çevreye ısı biçiminde vererek ya da ROT'ları detoksifiye edip lipid peroksidasyonunu azaltarak tüm fotosentetik organizmaları ışığın neden olacağı hasarlara karşı korumaktadır. Ayrıca karotenoidler; üçlü uyarılmış klorofil molekülünün ( $\text{Chl}^3$ ),  $^1\text{O}_2$ 'den ve fotosentez esnasında oluşacak diğer ROT'ların zararlı etkilerine karşı fotosentetik aygıtı korumaktadır (Collins, 2001). Oksijenin  $^1\text{O}_2$  durumuna getirilmesi, enerjiyle meydana gelir. Bu enerji klorofil yardımıyla ışıktan sağlanır. Bitkilerde  $\text{O}_2^-$  radikalini parçalayan enzimler bulunmasına rağmen karotenoidler ya  $\text{Chl}^3$ 'den ya da  $^1\text{O}_2$ 'den uyarılmış elektronları alarak doğrudan veya dolaylı  $\text{O}_2^-$  radikallerinin oluşumunu engeller (Kadıoğlu, 2011).  $^1\text{O}_2$ , DNA hasarı, proteinlerin inaktivasyonu veya lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilere yol açabilir.  $\text{Chl}^3$  azaldıktan sonra oluşan karotenoid üçlüsü kolayca enerjisini kaybeder ve orijinal haline geri döner. Karotenoidlerin polien zincir uzunluğu,  $^1\text{O}_2$  süpürülmesinden kimyasal olarak sorumludur (Erzi, 2019).

Karotenoidlerin antioksidan aktivitesi üzerine konjuge çift bağ sayısı, açık zincir ve oksijen eksikliği etki etmektedir. Konjuge çift bağların sayısı karotenoid molekülünde

arttıkça antioksidan etkisinin de arttığı bildirilmektedir (Kobayashi ve Sakamoto, 1999). Likopen onbir konjuge ve iki konjuge olmayan çift bağa sahiptir ve doğal karotenoidlerin en etkili  $^1O_2$  söndürücüsüdür (Krinsky, 1998).

$\beta$ -karoten, zincir kırıcı özelliği sayesinde lipit peroksidasyonu tepkimelerini sonlandırmakta, stres sırasında oksidatif hasara karşı membran stabilitesini korumaya yardımcı olmaktadır.  $\beta$ -karoten ve lutein, hücreleri lipid peroksidasyonundan ve membran hasarından korumak için laktat dehidrogenazın hücreden salınımını azaltarak kontrol etmektedir (Howitt ve Pogson, 2006; Namitha ve Negi, 2010).

Ksantofiller şiddetli ışık altında fotosistem antenlerindeki uyarılma enerjilerinin büyük bir kısmını fitokimyasal yatıştırma denilen bir olayla ısı enerjisine dönüştürerek, fotodinamik hasardan bitkileri korur. Fotokimyasal olmayan yatıştırmada üç farklı ksantofil bileşiği görev alır. Yüksek ışık koşullarında violaksantin, sırasıyla anteraksantin ve zeaksantine dönüştürülür. Meydana gelen zeaksantin protonlarla birlikte ışık yakalayıcı anten proteinlerine bağlanması yatıştırmaya neden olur ve enerjisinin ısı şeklinde ortama yayılması sağlanır. Böylece aşırı ışık altında yapraklarda ROT oluşması engellenir ve fotosentetik aygıt bu yolla korunmuş olur (Kadioğlu, 2011).

### **1.3.2 Enzimatik antioksidanlar**

Bu sistemde bulunan enzimatik antioksidanlar genel olarak hücrelerde biriken ROT'ların daha az zararsız şekillere dönüşmesini sağlamaktadır ve Askorbat-Glutatyon (AsA-GSH) döngüsü olarak adlandırılan mekanizmaya ait bileşenlerin kontrolünü yaparak bitkileri stresin olumsuz etkilerine karşı savunmaktadır (Arslan, 2019). Enzimatik sistem SOD, CAT, POD, APX, GST, GR gibi enzimleri içerir.

#### **1.3.2.1 Süperoksit dismutaz**

SOD (EC 1.15.1.1.) antioksidan savunma sisteminin kilit enzimidir. Bu enzim bir metalloenzim grubu antioksidandır. İlk kez 1969'de McCord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır (Murray vd., 1993; Gill ve Tuteja, 2010). Genel olarak bitkilerin kloroplast, peroksisom, sitozol ve mitokondri organellerinde bulunmaktadır. SOD merkezinde bulunan aktif bölgesinde bulunan metal kofaktörlere göre, Cu-Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD olarak üç ayrı grupta incelenmektedir (Mittler, 2002; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). SOD'un tüm tipleri  $O_2^{\cdot -}$  radikalinin bir dismutasyon reaksiyonu ile  $H_2O_2$  ve moleküler  $O_2$  dönüştüren

tepkimeyi katalizlemektedir (Karuppanapandian vd. 2011). Bu tepkime doğal dismutasyondan 10.000 kat daha hızlıdır (Blokhina vd., 2002). Böylelikle  $O_2^-$  radikalinin detoksifikasyonu ile Haber-Weiss reaksiyonu sonucu  $OH^-$  radikalinin meydana gelme ihtimali azalmaktadır.

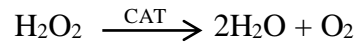


Bitki hücrelerinin sitoplazma ve kloroplastlarında, Cu-Zn-SOD çok boldur. Mn-SOD mitokondri ve peroksizomlarında, Fe-SOD kloroplastlarında bulunmaktadır (Yost ve Fridovich, 1973; Ferreira vd., 2002).

Stres koşullarında meydana gelen oksidatif hasarlara bağlı olarak SOD enziminin hem hücrel zararları hem de koruyucu yanıtları indüklediği ve stres esnasında SOD aktivitesinde değişimler olduğu bildirilmektedir (Karuppanapandian vd., 2011).

### 1.3.2.2 Katalaz

CAT (EC 1.11.1.6), yapısında tetramerik demir bulunduran, stres koşullarında ROT detoksifikasyonu için zorunlu olan hemoprotein grubu bir enzimdir. Katalaz enzimi, bitkilerde peroksizom ilk sırada olmak üzere sitozol, sitoplazma ve mitokondrilerde üretilmektedir (Gill ve Tuteja, 2010; Rocha vd., 2015). CAT peroksizomlarda oluşan,  $H_2O_2$ 'in doğrudan  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ye dönüşümünü katalizleyerek hücreleri stresin neden olduğu hasara karşı savunmaktadır (El-Beltagi ve Mohamed, 2013).

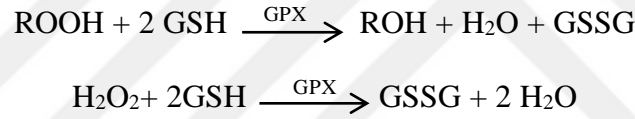


CAT enzimi, yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu, glioksilat döngüsü ve pürin katabolizması gibi metabolik tepkimeler neticesinde peroksizomlarda oluşan  $H_2O_2$ 'in detoksifikasyonunda rol oynamaktadır (Karuppanapandian vd., 2011). CAT çok yüksek devir hızı oranına sahip enzimlerden biridir. Her bir dakikada bir molekül CAT neredeyse altı milyon  $H_2O_2$  molekülünü  $H_2O$  ve  $O_2$ 'e ayırmaktadır (Gill ve Tuteja, 2010; Noriega vd., 2007). Farklı tür bitkilerde CAT'ın üç değişik izoformu mevcuttur (Vandenabeele vd., 2004). CAT 1, polen ve tohumlarda (peroksizomlar ve sitozol), CAT 2 fotosentetik dokularda, köklerde ve tohumlarda (peroksizomlarda ve sitoplazmada), CAT 3 ise yapraklarda ve vasküler dokularda mitokondride ifade edilmektedir (Das ve Roychoudhury, 2014; Yang vd., 2020).

Peroksizom ve glioksizomlarda sırasıyla fotorespirasyon ve yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu esnasında meydana gelen  $H_2O_2$ 'yi uzaklaştırmaktadır (Sandalio ve Romero-Puertas, 2015). CAT'ın,  $H_2O_2$ 'ye çok düşük bir affinitesi vardır (Sandermann, 2004).

### 1.3.2.3 Glutatyon peroksidaz

GPX (EC 1.11.1.12) enzimi 1957'de Mills tarafından hayvan eritrositlerinden izole edilmiş hemoprotein grubu bir enzimdir (Arteel ve Sies, 2001; Bela vd., 2015). GPX katalitik tepkimesi için substrat,  $H_2O_2$  veya organik bir peroksit olan ROOH'ı kullanmaktadır. GPX, aynı anda GSH'yi oksitlerken peroksitleri suya veya alkole parçalamaktadır. GPX, substrat olarak  $H_2O_2$  için katalaz ile rekabet etmekte ve düşük seviyelerde oksidatif strese karşı korumaktadır (Kalinina vd., 2014). Oksidatif stresler esnasında ortaya çıkan  $H_2O_2$  ve lipid hidroperoksitlerinin detoksifikasyonu için GSH'ı indirgeyerek bitki hücrelerinin oksidatif stres ile savaşına yardım etmektedir (Deaton ve Marlin, 2003; Gill ve Tuteja, 2010; Lukitaningsih vd., 2019).

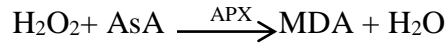


GPX'in bitkilerde sitoplazma, kloroplast, mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi organellerde oldukları belirlenmiştir (Millar vd., 2003). GPX'ler moleküler yapılarına göre üç tipte incelenir. Bunlar; aktif bölgesinde selenyum bulunduran selenyum bağımlı GPX'ler (Se-GSH-PX), nonselenyum bağımlı fosfolipid bulunduran hidroperoksit GPX'ler (PL-GSH-PX) ve GPX aktivitesini gösteren glutatyon transferazlar (GST)'dir. Se-GSH-PX'ler GSH oksidasyonu vasıtasıyla  $H_2O_2$  gibi ROT'ları ve farklı hidroperoksitlerin yıkımını katalizlemektedir. PL-GSH-PX'ler fosfolipid hidroperoksitlerin alkollere indirgeyerek tokoferollerin yokluğunda membranları peroksidasyonlara karşı savunmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Cnubben vd., 2001; Antony vd., 2016).

### 1.3.2.4 Askorbat peroksidaz

APX (EC 1.11.1.11) enzimi AsA-GSH döngüsünün kilit komponenti olarak bilinen ilk enzimdir. APX, oksidatif stres esnasında ortaya çıkan ROT'ların miktarlarının zararsız düzeye indirilmesinde rol oynamaktadır (El-Beltagi ve Mohamed, 2013). APX yüksek bitkilerde, alglerde, öglenalarda ve diğer organizmalarda bulunmaktadır (Mhamdi ve Van

Breusegem, 2018). APX, CAT ile aynı göreve sahiptir ve CAT'a göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye karşı afinitesi daha yüksektir. Bu sayede stresler sırasında daha etkin koruma sağlamaktadır. CAT yalnızca peroksizomlarda meydana gelen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin temizlemesini yaparken, APX kloroplast ve sitozolde meydana gelen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'leri temizlemektedir (Wang vd., 1999; Karuppanapandian vd., 2011; Ozyigit vd., 2016). Bu görevi askorbatı indirgeyici ajan olarak kullanarak, organellerde bulunan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi H<sub>2</sub>O ve MDA'ya indirgeyerek yapmaktadır (Noctor ve Foyer, 2016).



APX enzim ailesinin, yüksek bitkilerin farklı hücrelerinde aminoasit dizilişlerine bağlı olarak farklı özelliklere sahip beş izoformu bulunmuştur. Bunlar; stromal APX (sAPX), tilakoid membranlara bağlı APX (tAPX), sitozolik APX (cAPX), mitokondriyal APX (mAPX) ve glikosizomlara bağlı APX (gmAPX)'tir (Garg ve Manchanda, 2009). Organellerde bulunan APX, organellerden yayılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi temizlerken, sitosolik APX ise sitosol ve apoplastlardan yayılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi temizlemektedir (Mittler ve Zilinskas, 1992; Mittler, 2002).

### 1.3.2.5 Glutasyon-S-Transferaz

GST (EC 2.5.1.18) enzimi, detoksifikasyon metabolik yolunda, suda çözünen nihai ürün olan merkapturik asit oluşma sürecinde ilk basamağı katalizleyerek, homeostazisi sağlayan çok fonksiyonlu bir enzimdir (Zariç, 2018). GST'ler kataliz tepkimelerinde, elektrofilik substratlara glutasyon tripeptidin nükleofilik atağını kataliz etmektedir. Buna ek olarak, oksidasyon ile meydana gelen ürünlerin ya da dışarıdan alınan yabancı toksik maddelerin, diğer makromoleküller ile birleşmesini engelleyerek hücre bileşenlerine zarar vermeden atılmasını sağlamaktadır. Bundan dolayı GST'ler, çok önemli koruyuculuk görevi gören enzim gruplarından birini oluşturmaktadır (Armstrong, 1997; Higgins ve Hayes, 2011).

Bitki GST'leri birçok metabolik olayda rol oynamaktadır. Bunlar; herbisit detoksifikasyonu, hormon düzenlenmesi, antosiyaninlerin vakuolar ayrılması, tirozin metabolizması, hidroperoksit detoksifikasyonu, apoptozisin düzenlenmesi ile biyotik ve abiyotik streslere karşı bitkinin verdiği cevaplardır (Dixon vd., 2010). GST'ler GSH'ın desteği ile peroksitleri indirgeyebilmekte, sitotoksik ve genotoksik etki yapan bileşiklerin

radikal süpürücülerini meydana getirebilmektedir. GST'ler genellikle sitoplazmik proteinlerdir. Ancak mikrozomal, plastidik, nüklear ve apoplastik izoformları da bulunmaktadır (Gill ve Tuteja, 2010; Papalia vd., 2018.).

### 1.3.2.6 Glutasyon redüktaz

GR (EC 1.6.4.2) oksidatif streslere karşı savunmada mühim bir yeri olan AsA-GSH döngüsünün bitiminde bulunan flavoprotein oksidoredüktaz grubundan bir enzimdir (Gill ve Tuteja, 2010; Sharma vd., 2012). Bitkilerin, kloroplastlarında yaygın olarak bulunurken mitokondri, sitozol ve peroksizomlarında da rastlanmaktadır (Garg ve Manchanda 2009). AsA-GSH döngüsünde oluşan tepkimeler sonucu ROT'ların temizlenmesinde aktif olarak görev alan GSH molekülü oksitlenmektedir. GR, bu oksitlenmiş glutatyondan (GSSG), NADPH'yi bir indirgeyici ajan olarak kullanarak indirgenmiş glutasyonun (GSH) geri kazanımını katalizleyerek GSH/GSSG oranını korumak için gerekli olan önemli bir antioksidan enzimdir (Karuppanapandian vd. 2011; Güller vd., 2020).



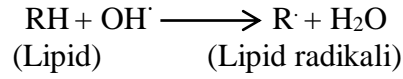
Bu oran korunmadığı zaman, tiyol gruplarının oksitlenmesini engellemede indirgeyici görevi olan GSH molekülü yetersiz kalmaktadır. Bu durumda ROT miktarlarında artışa neden olarak bitkilerin yaşamları tehlikeye sokmaktadır (Asada, 2000). Bitkilerde, GR aktivitesinin artması GSH birikimini artırmaktadır. Böylece oksidatif streslere karşı bitkilerde dayanıklılık ve toleranslar oluşabilir (Apel ve Hirt, 2004; Shereefa ve Kumaraswamy, 2016).

### 1.4 Lipid peroksidasyonu

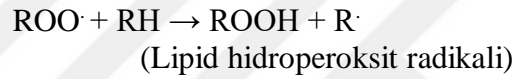
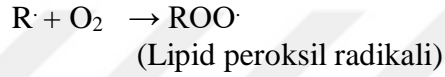
Lipidler, hücre fonksiyonlarını kontrol eden ve hücrelerin bütünlüğünü devam ettiren hücre membranının büyük bir bölümünü oluşturan temel bileşenleridir. Hücre membranlarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin ROT ile reaksiyona girmesi sonucu peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan, pentan, malondialdehit (MDA) gibi çeşitli ürünlere yıkılmasına lipid peroksidasyonu denir (Büyüksulu ve Yiğitbaşı, 2015). Lipid peroksit miktarının artması sonucu hücre zarının akışkanlığını azalmaktadır ve buna bağlı olarak hücresel fonksiyonlarda bozukluklar meydana gelmektedir.



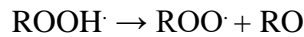
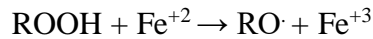
Peroksidasyon, süperoksit veya hidroksil gibi radikallerin çoklu doymamış yağ asitlerinin yapısındaki metilen grubundan bir hidrojen atomunu çıkarmaktadır ve bunun sonucu olarak lipid radikali oluşmaktadır (Smirnof, 2000; Karabulut ve Gülay, 2016).



Sonraki aşamalarda, oluşan lipid radikaline atmosferik oksijenin ilave edilmesi ile lipid hidroperoksi radikali meydana gelmektedir. Meydana gelen bu radikal çoklu doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerinden bir hidrojen atomunu çıkararak peroksidasyon zincir reaksiyonunu daha da ilerletip lipid hidroperoksitlerinin oluşturarak reaksiyon sürmektedir (Garg ve Manchanda, 2009).



Sonlandırma aşamasında, ortamda antioksidanlar bulunmuyorsa oluşan lipid hidroperoksitler  $\text{Fe}^{+2}$  gibi indirgenmiş metallerle reaksiyona girerek bölünebilirler veya ayrışarak lipid alkoksil radikalleri ve aldehitler, alkanlar, lipid epoksitler gibi bitkiler için daha zarar verici ürünleri oluşturabilirler (Gill ve Tuteja, 2010; Das ve Roychoudhury, 2014).



Meydana gelen peroksidasyon ürünleri, antioksidan sistemler tarafından temizlenmezse veya buldukları yerlerden yayılmaları önlenmezse membran bütünlüğü bozulur. Bu radikaller biyolojik membranlarda membran akışkanlığının bozulmasına, sızıntı artışına, membran potansiyelinde azalmaya, membranların  $\text{H}^+$  ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğinin artmasına yol açarak membranların parçalanmasına, bunların sonucu olarak da hücre hasarlarına veya hücre ölümlerine neden olur (Garg ve Manchanda, 2009). Üç veya daha fazla çift bağ bulduran yağ asitlerinin peroksidasyonu ile MDA meydana gelir. Stres sırasında oksidatif hasarın ve lipidlerin zararlanma derecesini tespit etmenin en iyi yolu MDA gibi lipid peroksidasyonunun nihai ürünlerini ölçmektir (Ercan, 2008; Rasool vd., 2013).

## 1.5 Fenolik bileşikler

Flavonoidler, tanenler, hidroksisinnamat esterler ve lignin gibi fenolik bileşikler, bitki dokularında bol miktarda bulunan sekonder metabolitlerdir. Bitkilerde pentoz fosfat, şikimat ve fenilpropanoid yollarından türevlenmektedir. Fenolik bileşikler farklı bitkisel süreçlerde aktif rol almakta, bitkide biyotik ve abiyotik strese karşı savunma mekanizmalarına katılmaktadırlar (Awika vd., 2003; Atak ve Uslu, 2018).

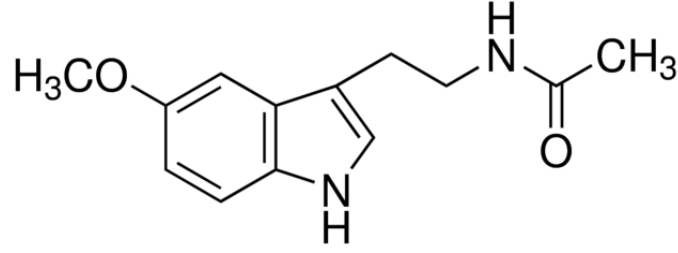
Fenolik bileşikler yapısal olarak aromatik bir halka ile bir veya daha fazla işlevsel OH gruplarından oluşmaktadır ve bu bileşiklerin tüm grupları genellikle polifenol olarak adlandırılmaktadır (Aberoumand ve Deokule, 2008). Polifenollerin kimyasal yapısı ROT temizleme aktivitesi için idealdir. Polifenoller, tokoferol ile askorbattan daha etkili antioksidanlardır ve en yaygın meydana gelen, her yerde bulunan bitki metabolitlerinden biridir (Schroeter vd., 2002). Bu bileşiklerin antioksidatif özellikleri hidrojen ya da elektron vericileri olarak yüksek reaktivitelerinden, polifenol türevli radikalın stabilize olmasından, eşlenmemiş elektronu ve geçiş metali iyonlarını şelatlama yeteneklerinden kaynaklanır (Rice-Evans vd., 1997; Foti ve Amorati, 2016). Fenolikler lipid metabolizmasını değiştirme ve zarların akışkanlığını azaltma yoluyla flavonoidlerin peroksidasyon kinetiğini değiştirebilirler. Bu değişiklikler, serbest radikallerin difüzyonunu engelleyebilir ve peroksidatif reaksiyonları kısıtlayabilir. Antioksidan olarak fonksiyon gösteren fenolikler, serbest radikal zincirlerini sonlandırıcı ve lipid peroksidasyonu katalizleyebilen redoks-aktif metal iyonlarının bağlayıcıları olarak da görev alırlar (Schroeter vd., 2002).

Fenoller, antioksidan aktiviteye sahip olan ve serbest radikalleri temizlemek için ikincil bir savunma görevi gören sekonder metabolitlerdir. Fenolik bileşikler  $O_2^-$  kaynaklı Fenton reaksiyonunu azaltabilir (Jahan vd., 2020). Ayrıca, hidroksil radikalını hapsederek fazla nikeli deaktive eden metallerin şelatlama potansiyeline sahiptirler (Kidd vd., 2001; Michalak, 2006; Verdan vd., 2011).

## 1.6 Melatonin

Melatonin (N-asetil-5-metotriptamin, MEL) ilk olarak 1958'de sığırın epifiz bezinden izolasyon yöntemiyle elde edilen indol amin triptofan türevidir. Yarım yüzyılı aşkın bir süredir varlığı tespit edilmiş olan melatonin omurgalılarda iyi karakterize olmuş bir nörohormon olarak bilinir (Lerner vd., 1958). MEL'in molekül formülü  $C_{13}H_{16}N_2O_2$ ,

molekül ağırlığı 232,28 g mol<sup>-1</sup>'dir ve kimyasal yapısı Şekil 1.4'de gösterilmektedir (Claustrat vd., 2005).



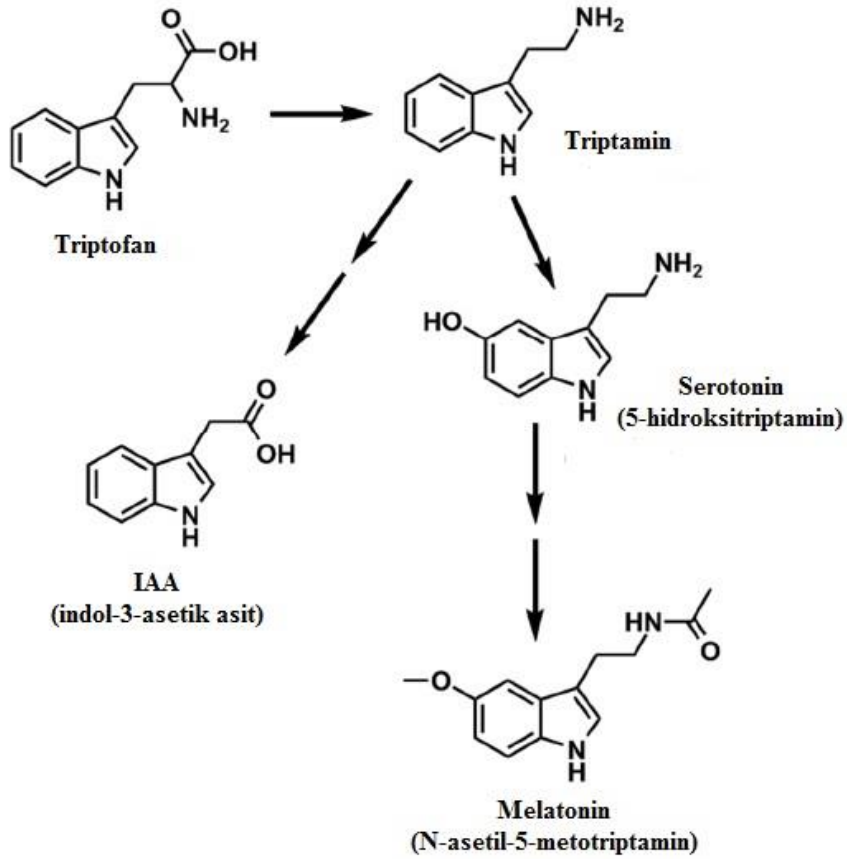
**Şekil 1.4 :** Melatoninin kimyasal yapısı (Claustrat vd., 2005)

MEL uzun zaman yalnızca hayvanlara ait bir düzenleyici veya hormon olarak kabul edilmiştir (Reiter, 1991). Bu fikir, melatoninin ilk olarak alglerde keşfedilmesiyle (Poeggeler ve Hardeland, 1994) değişmiştir ve değişik bitkilerin dokularında da bulunabileceği düşünülmüştür. 1995 yılında iki grup araştırmacı birbirlerinden habersiz MEL'in bitkilerde de bulunduğunu keşfetmişlerdir (Dubbels vd., 1995; Hattori vd., 1995). Sonuçları 1995'e kadar yayınlanmasada, MEL 1993'te *Pharbitis nil* (Japon gündüzsefasında)'de bulunmuştur (Arnao, 2014). Yürütülen araştırmalar sonucunda birçok bitki türünün tohumları, meyveleri, yaprakları ve köklerinde MEL miktarının epey yüksek olduğu tespit edilmiştir (Reiter, 1999; Tettamanti vd., 2000; Reiter vd., 2007). Sonrasında bu molekül hakkında araştırmalar yapılmaya başlanmıştır. Endojen bir hormon olan MEL'in bakteri, mantar, hayvan ve bitkide yaygın olarak bulunduğu kanıtlanmıştır (Lin vd., 2019; Qiao vd., 2019). MEL'in bitkilerde, bir bitki hormonu yerine potansiyel bir büyüme uyarıcısı olduğu kabul edilmektedir (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2019; Arnao ve Hernández-Ruiz, 2020).

Bitkilerdeki MEL miktarı türden türe, aynı türün içerisindeki genotipler veya çeşitler arasında, hatta aynı genotipin bireylerinin farklı büyüme evreleri içinde de değişiklik gösterdiği ifade edilmiştir (Dubbels vd., 1995; Hattori vd., 1995; Posmyk ve Janas, 2009). Mesela, yeşil domates meyvelerinde MEL miktarı düşük düzeyde iken olgun ve kırmızı renkli meyvelerde ise daha yüksek miktarda olduğu tespit edilmiştir (Van Tassel vd., 2001). Bitki organları arasında en yüksek MEL miktarı genellikle generatif organlarda, meyvelerde ve tohumlarda vardır. Tomurcuklarda ve kurumuş tohumlarda MEL'in yüksek olmasının nedeninin antioksidan savunma sisteminde görevi olmasından kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Paredes vd., 2009; Posmyk ve Janas, 2009).

### 1.6.1 Melatonin biyosentezi

MEL biyosentezi bitkiler, hayvanlar, algler ve bakteriler ile birlikte tüm canlılarda aromatik bir aminoasit olan triptofandan (Trp) başlamaktadır. Triptofan yalnızca MEL'in değil, aynı zamanda tüm bitki ve hayvanlarda mevcut olan serotoninin (Ser) ile bitkisel bir hormon olan indol-3-asetik asitin (IAA) de yapımının başladığı öncü moleküldür. Triptofandan türetilen indol bileşikleri bitkilerde yaygındır. IAA ve MEL, oldukça benzer bir moleküler yapıya sahiptir. Benzer bir yapıya sahip moleküllerin genellikle benzer fonksiyonlara sahip olması nedeniyle, MEL'in bitkilerde oksin benzeri aktiviteye sahip olduğu düşünülmektedir (Şekil 1.5) (Reiter vd., 2015; Back vd., 2016).

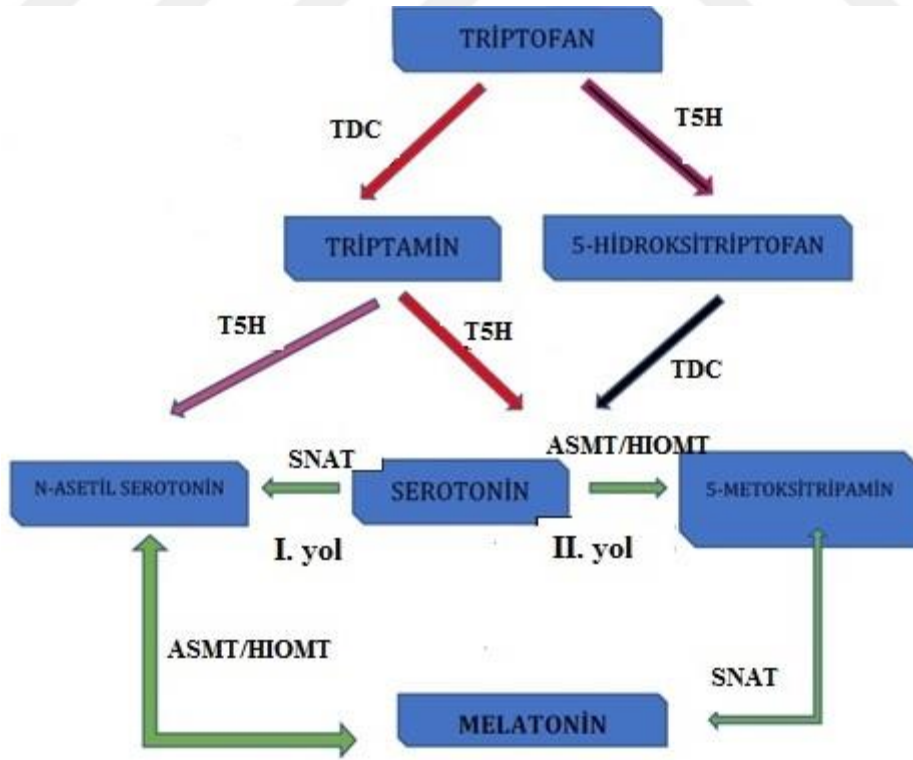


Şekil 1.5 : MEL'in biyosentez aşamaları (Reiter vd., 2015; Back vd., 2016)

Bitkilerdeki MEL biyosentezi, iki farklı yol izlemektedir. Birinci yol normal koşullar altında yetişen ya da genç bitkilerde görülmektedir. Bu yolun triptofan/triptamin/serotonin/N-asetilserotonin/melatonin sırasıyla gerçekleştiği ortaya konulmuştur (Şekil 1.6, I nolu yol). İkinci yol özellikle yaşlanmadan dolayı yüksek miktarlarda serotonin üretildiği durumda görülmektedir. Bu yolda MEL biyosentezi

triptofan/triptamin/serotonin/5-metoksitriptamin/melatonin sırasıyla gerçekleşir (Şekil 1.6, II nolu yol) (Back vd., 2016).

I nolu yolun ilk aşamasında triptofan dekarboksilaz (TDC) enziminin katalizlemesi ile triptofan triptamine dönüşmektedir. TDC, MEL sentezinde kısıtlayıcı olan enzimlerden birini oluşturmaktadır. Çünkü bitkilerde bu enzimin ifade düzeyinin çok düşük değerlerde seyrettiği ifade edilmiştir (Zhao vd., 2012). Triptaminden serotonine dönüşümü yapan ve sentez yolunun ikinci basamağını katalize eden enzim triptofan hidroksilaz (T5H) enzimidir (Kang vd., 2013). Serotonin, bitkilerde MEL sentezinin meydana gelmesinde mutlaka gerekli olan bir ara maddedir (Back vd., 2016). MEL'in sentez yolu üzerinde görev alan son enzimler serotoninin N-asetilserotonine dönüşümünü düzenleyen N-asetiltransferaz (SNAT), N-asetilserotoninin MEL'e dönüşümünü kontrol eden N-asetilserotonin metiltransferaz (ASMT) ve Hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) enzimleridir. HIOMT ve ASMT enzimlerinin ortamda bulunuş oranlarının MEL seviyesini belirlemekte olduğu saptanmıştır (Byeon vd., 2014). MEL sentez yolağındaki enzim reaksiyonları dizisi ara maddenin hücre içindeki yerini ve MEL oluşumunu değiştirmektedir. MEL sentezinde rolü olan son enzim SNAT olursa kloroplastlarda (II nolu yol), ASMT/HIOMT olursa sitoplazmada (I nolu yol) gerçekleştiği bildirilmiştir (Şekil 1.6) (Back vd., 2016).



Şekil 1.6 : Bitkide melatonin sentez yolağı (Back vd., 2016)

### 1.6.2 Melatoninin fizyolojik görevleri

MEL bitki büyümesi ve gelişimi, köklenme, tohum çimlenmesi, rizogenez, fotosentez, ozmoprotektanlar, yaprak senesinde gecikme, meyve olgunlaşması, diferansiyel gen ekspresyonu ile fizyolojik süreçlerin kontrol edilmesi gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda rol oynamaktadır (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2019; Ahammed vd., 2020a).

Bitkilerde MEL'in 24 saatlik ritim düzenleyici olarak görev aldığı ve MEL miktarının genel olarak karanlıkta arttığı bildirilmektedir (Wolf vd., 2001). 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışık rejimi altında yetiştirilen 15 günlük *Chenopodium rubrum* L. (Kaz ayağı) bitkilerinde MEL içeriğinin aydınlıkta çok düşük düzeyde olduğu, karanlık periyodun sonlarına doğru ise en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenmiştir (Kolár vd., 1997). Bazı araştırmacılar ise MEL'in gün batımından hemen önce miktarının en yüksek seviyeye ulaştığını bildirmiştir (Tan vd., 2007a). Üzüm danelerinin kabuklarında 24 saatlik zaman diliminde MEL içeriğindeki değişim belirlenmiştir. En yüksek MEL içeriği güneş doğarken tespit edilmiş ve ileriki saatlerde ise düşüş göstermiştir. Bunun nedeni olarak MEL içeriğinin sirkadiyen ritim tarafından kontrol edilmesi ve aydınlık dönemde MEL'deki azalmanın solar radyasyon stresine karşı antioksidan sistemin devreye girmesinden kaynaklanan aşırı MEL tüketiminin olabileceği bildirilmiştir (Boccalandro vd., 2011).

Bitkilerde MEL seviyesinin genç ve üretken organlarda daha yüksek olduğu yaşlanma ile miktarının azaldığı bildirilmektedir (Posmyk ve Janas, 2009). İki günlük bir sarmaşık türü olan *Pharbitis nil* fidelerinde MEL miktarının yaşlı bitkilere kıyasla altı kat daha yüksek olduğu ifade edilmektedir (Van Tassel vd., 2001). Etiyolleşmiş *Hypericum perforatum* L. (Sarı kantaron) dokularında MEL miktarının ışıktaki yetiştirilenler ile karşılaştırıldığında 15- 20 kat daha fazla olduğunu bildirilmektedir (Murch ve Saxena, 2002). Tüm bunlardan, karanlıkta yetiştirilen genç veya üretken bitkilerde gözlenen yüksek MEL içeriğinin bu iki faktörün ortak sonucu olduğu belirtilmektedir (Karaca, 2013).

MEL'in oksin gibi davranarak bitki büyümesi ve gelişmesi üzerinde teşvik edici görev alması birçok bitki türünde ispat edilmiştir. Murch ve Simmons (1997), MEL'in bitki gelişmesi ve büyümesindeki rolünü anlamak üzere oksin, serotonin, MEL engelleyicileri kullanmışlardır. Yüksek içsel MEL miktarının *Hypericum perforatum* L. bitkisinde kök gelişimini buna karşılık MEL'in öncü maddesi olan serotonin miktarındaki artışların ise gövde gelişimini teşvik ettiğini belirtmektedirler. MEL'in etiyole olmuş acı bakla fidelerinde lateral kök çıkışını etkilediği ve bu etkinin IAA'nin gösterdiği etkiye çok benzer olduğu da

bildirilmektedir (Arnao ve Hernández-Ruiz., 2007). Bitkilerdeki MEL konsantrasyonunun fazla olması olumsuz koşullardaki tohumların çimlenme oranını yükselttiği (Posmyk vd., 2009), yaşam süresini arttırdığı (Zhao vd., 2011) ve bitkisel üretim kalitesini iyileştirdiği bildirilmektedir (Tan vd. 2012).

MEL hormonu, hayvanlarda olduğu gibi bitkilerde de bir antioksidan gibi koruyucu etki gösteren ve ışık/karanlık sinyalizasyonunda görev yapan önemli bir kimyasaldır (Reiter vd., 2001).

### **1.6.3 Melatonin ve stres**

MEL tuzluluk, kuraklık, aşırı sıcaklıklar (düşük ve yüksek sıcaklıklar), yüksek ışık yoğunluğu, herbisitler, ultraviyole radyasyonu gibi biyotik ve abiyotik streslere karşı toleransı artırarak ana regülatör görevi görür (Zhang vd., 2012; Wang vd., 2017; Jahan vd., 2019; Ahammed vd., 2020a; Ahammed vd., 2020b; Moustafa-Farag vd., 2020).

Stres etmenlerinin bitkileri MEL sentezini teşvik ettiği düşüncesi, bitkilerde MEL'in var olduğunun anlaşılmasıyla ortaya atılmıştır. Stres etmenleri ile karşı karşıya kalan bitkilerde görülen MEL miktarındaki kısa süreli artışlar, özellikle oksidatif stresten kaynaklanan zararlı etkilere karşı bitkileri korumaya yönelik olduğu ifade edilmektedir. Tuz, çinko, düşük sıcaklık, kuraklık gibi farklı stres koşullarında arpa ve acı bakla bitkilerinde içsel MEL miktarının stres etmeninin şiddetine ve uygulama zamanına göre önemli artış gösterdiği bildirilmektedir (Arnao ve Hernandez-Ruiz, 2009a; Arnao ve Hernandez-Ruiz, 2013).

Bitkilerde MEL'in güçlü antioksidan özellikleri olduğu ve yüksek antioksidan koruma sağlayabildiği (Manchester vd., 2000; Terrón vd., 2001; Reiter ve Tan, 2002; Reiter vd., 2005; Maldonado vd., 2007) ile ilgili birçok veri vardır. MEL bundan başka POD, GR, SOD, CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini düzenlemekte ve teşvik etmektedir (Cardinali ve Pévet 1998; Teixeira vd., 2003; Allegra vd., 2003; Rodriguez vd., 2004; Reiter vd., 2007). MEL hem suda hem de lipidlerde çözünebilmekte (Posmyk ve Janas, 2009) ve tüm intrasellüler komponentlere rahatlıkla ulaşmaktadır. Bu sayede hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyabilmektedir. C, E ve K vitaminlerinden daha kuvvetli antioksidan özelliklere sahip olmaktadır (Poeggeler vd., 2002). Birçok çalışma melatoninin nükleik asitler, proteinler ve lipidler gibi kritik

moleküllerin oksidatif zararlanma tehlikesini azalttığını göstermektedir (Śliwinski vd., 2007).

Son zamanlarda MEL'in fizyolojik rolü, ağır metal stres koşulları altında kapsamlı bir şekilde incelenmiştir: kadmiyum (Hasan vd., 2015, Hasan vd., 2019; Kaya vd., 2019; Nabaei ve Amooaghaie, 2019a), bakır (Cao vd., 2018), demir (Ahammed vd., 2020c), nikel (Jahan vd., 2020), arsenik (Farouk ve Al-Amri, 2019) ve bor (Sarafi vd., 2017). Ağır metal stresi altında daha çok antioksidan aktivitenin modülasyonu, ilişkili gen ekspresyonu ve fazla ROT'un atılması ile MEL aracılı stres tolerans mekanizmaları ile ilgilidir (Zhang vd., 2013; Bajwa vd., 2014; Shi vd., 2015; Nawaz vd., 2018; Jahan vd., 2019; Nabaei ve Amooaghaie, 2019b). MEL uygulamasından sonra bitkiler ayrıca aşırı ağır metalleri şelatlamak için daha yüksek seviyede glutatyon ve fitoşelatinler biriktirir. Böylece metallere karşı hücrede bir savunma hattı oluşturur (Hasan vd., 2015; Cao vd., 2018).

MEL'in antioksidan aktiviteye sahip olduğu farklı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Bunlar;

- 1) Serbest radikalleri doğrudan tutması,
- 2) Antioksidan enzimleri uyarması,
- 3) İlk olarak glutatyon olmak üzere diğer antioksidanların etkinliğini arttırması,
- 4) Oksidatif risklerden antioksidan enzimleri koruması,

5) Mitokondride elektron taşıma zincirinin aktivitesini arttırarak bu sayede elektron sızıntısını düşürmesidir (Kladna vd., 2003; Rodriguez vd., 2004; Leon vd., 2005; Tan vd., 2012).

Tohumda yüksek konsantrasyonda MEL olmasının olumsuz çevre şartlarında (aşırı sıcaklık, kuraklık, UV ve çevresel toksinler) meydana gelen oksidatif stres hasarlarından tohumu ve üreme organını korumak için mutlaka gerekli olacağı düşünülmektedir (Manchester vd., 2000; Burkhardt vd., 2001). Cevizde (*Juglans regia* L.) MEL'in yüksek miktarda bulunması tohumdaki yağ asitlerini oksidasyona karşı koruyarak tohum canlılığının yüksek olmasına ve bu sayede tohumun sonraki yıllarda başarılı bir şekilde çimlenmesine neden olduğu belirtilmiştir (Reiter vd., 2005).

Tan vd. (2012) tarafından yapılan araştırma sonuçlarına göre MEL'in;

- 1) Tohumlarda çimlenme oranını arttırdığı,



2) Bitkilerin değişik çevresel stres etmenlerine toleransı, özellikle aşırı sıcak ve soğuk gibi koşulların olumsuzluklarına karşı direnci arttırdığı,

3) Klorofil içeriğini koruyarak fotosentez hızını arttırdığı ve dolayısıyla daha fazla karbohidrat sentezlenmesi nedeniyle biyokütle artışına neden olduğu,

4) Kök sisteminin gelişmesini artırması sayesinde topraktan su ve besin elementlerinin alınım kapasitesini arttırdığı bildirilmiştir.

## 1.7 Bitki Doku Kültürü

Bitki organ, doku ve hücrelerinin *in vitro* koşullarda manipüle edilerek kültüre alınması ve çoğaltılması bitki doku kültürü olarak adlandırılır. Steril koşullarda ve geliştirilmiş besiyerleri üzerinde kültüre alınmak suretiyle bitkinin çeşitli kısımlarından (meristem, yaprak vb.), hücrelerinden veya tek bir hücreden tam bir bitkiyi *in vitro* koşullarda elde etmek mümkündür. Bu sayede elit bitki çeşitleri klon olarak çoğaltılabilir, tehlike altındaki bitkiler korunabilir, meristem kültürü ile virüssüz bitkiler elde edilebilir, bitkisel gen kaynakları saklanabilir veya bitki hücrelerinden sekonder metabolitler elde edilebilir. Bütün bu uygulama alanlarının yanında, doku kültürü ayrıca transgenik bitki üretimi için de vazgeçilmez bir araçtır. Doku kültürünün bu özelliği, bitki hücrelerinin totipotensi hücrelerine sahip olmaları ve büyüme ortamı ile hormonların etkisiyle manipüle edilebilir olmasından kaynaklanmaktadır (Stewart, 2016). Doku kültürünün bitkilerde uygulanmasındaki amaç bitkisel üretimde bilinen klasik yöntemlerle çözülemeyen veya çözümlü güç olan problemlere çözüm getirerek, daha ekonomik, kalite ve kantite yönünden daha yüksek bitkisel üretimin gerçekleştirilmesine yardımcı olmaktır (Hatipoğlu, 2018).

Doku kültüründe bitkilerin çoğaltımı birçok basamaktan oluşur. Bunlar;

- a) Laboratuvar organizasyonu,
- b) Bitki eksplantının ve besi ortamının seçilmesi, hazırlanması, sterilizasyonu,
- c) Bitki rejenerasyonunun uyarılması,
- d) Oluşan sürgünlerin proliferasyonu ve boylandırılması,
- e) Sürgünlerin köklendirilmesi,
- f) Köklenen bitkilerin aklimatizasyonudur (Babaoğlu vd. 2002).

Bitki doku kültüründe kullanılan eksplanta bağlı olarak altı farklı kültür tipi ortaya çıkmıştır (Stewart, 2016; Hatipoğlu, 2018):

**1. Kallus Kültürü:** Kallus, hücreler yaralandığı zaman gelişen düzensiz hücre yığıdır. Eksplantlar, farklılaşmamış hücre çoğalmasını sağlayan besiyerleri üzerinde kültüre alındığı zaman gelişir ve genellikle organ oluşumunun olmadığı durumlarda teşvik edilir.

**2. Hücre Süspansiyon Kültürü:** Doku, kallus veya süspansiyon kültürlerinden mekanik veya enzimlerin kullanılması ile elde edilen hücrelerin kültür edilmesidir.

**3. Anter/Mikrospor Kültürü:** Haploid bitki üretimi için anterlerin veya izole edilmiş mikrosporların kültürü olarak bilinir. Bu teknik geleneksel ıslah teknikleri ile karşılaştırıldığında homozigot bitkilerin daha kısa sürede elde edilmesini sağlar.

**4. Protoplast Kültürü:** Hücre duvarı hariç bitki hücrelerinin bütün unsurlarını içeren protoplastların kültürüdür.

**5. Embriyo Kültürü:** Olgunlaşmamış ovül veya tohumlardan izole edilen embriyoların *in vitro* koşullarda kültüre alınmasıdır. Bu teknik tohumların dormant, inatçı veya gelişmesinin erken aşamasında yok olduğu türlerde direk rejenerasyon için çok kullanışlı bir yöntem olarak uygulanmaktadır.

**6. Meristem Kültürü:** Bitkilerin çoğaltımı için bir yöntem olarak kullanılmasının yanında, patojensiz bitkilerin çoğaltımı ve hızlı üretimi için önemli bir araçtır.

Odunsu bitkilerin rejenerasyonu otsu bitkiler ile karşılaştırıldığında daha uzun ve zahmetlidir. Odunsu bitkilerin *in vitro* çoğaltımında, sürgün ucu (tepe tomurcukları) veya aksiller (koltukaltı) tomurcuklar gibi meristem dokularının hücrelerinde DNA sentezi ve mitoz bölünme düzeni tam kontrol altında olduğu için tercih edilir. Bunun sebebi somatik poliploidleşmeye neden olan ekstra DNA duplikasyonlarının meydana gelmemesi ve diğer genetik bozuklukları önleyen sürekli hücre bölünmesinin olması özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Şirin, 2014; Emiroğlu ve Gürel 2005).

## **1.8 *Morus nigra* L. (Karadut)**

*Morus nigra* L. (karadut), Urticales takımı Moraceae familyası *Morus* cinsinin içinde bulunmaktadır. Özellikle Doğu, Batı ve Güneydoğu Asya, Güney Avrupa, Kuzey Amerika'nın güneyi, Güney Amerika'nın kuzeybatısı ve Afrika'nın bazı bölümlerinde

*Morus*'a yaygın olarak rastlanıldığı belirtilmektedir (Datta, 2002). *Morus alba* L. (Beyaz dut) ve *Morus nigra* L. Orta ve Doğu Asya orjinli olup 16. yy başından itibaren Avrupa boyunca yayılmaya başlamıştır. Dut farklı iklim ve toprak şartlarına uyum yeteneği yüksek olduğu için ılıman ve subtropik iklim bölgelerinde yetişebilir. Dut ağaçlarının bir çoğu doğal yetiştirme ortamlarından farklı noktalara taşınarak taşındıkları yere uyum sağlamış ve bu bölgelerin doğal bitkisi haline gelmiştir, dolayısıyla bunların sınıflandırılması oldukça zordur (Machii vd., 2001). Dut yaprakları özellikle ipek böceği (*Bombyx mori* L.) yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır. Özellikle karadut, lezzetli meyveleri, farmakolojik ve kozmetik kullanımı için yetiştirilmektedir (Benedetta vd., 2007; Vijayan vd., 2011; Vijayan vd., 2012). Meyvesi bakımından değerli olan *M. nigra*'nın *M. alba* L. gibi fazla çeşidi yoktur. *M. nigra* türünün İran ve Kafkaslar orijinlendiği bildirilmektedir (Gökmen, 1973). *M. nigra* türünün bitkileri genel olarak *Morus* cinsinin diğer türlerine göre daha bodur olarak gelişmektedir ve 6-9 m'ye kadar uzamakla birlikte 30 m'ye kadar uzayabilenlerle de karşılaşmıştır. *M. nigra*'nın adaptasyon kabiliyeti iyidir, ancak nemli topraklarda yavaş büyürler. Ağaçlar uzun ömürlüdür, yüzlerce yıl meyve vermektedirler. Ağaçların gövdesi koyu gri renklidir, kökleri 15 m kadar derine gidebilir, yaprakları kalın pürüzlü ve koyu yeşildir. Meyveleri koyu kırmızı ile siyaha yakın mor renkte olup meyve sapı hemen hemen yok gibidir (Pool, 1966; Rougemont, 1989; Roger, 2002; Koyuncu ve Vural, 2003).

Ülkemizde dut yetiştiriciliği yapılan alanlarda dutlara kapama, karışık bahçe veya sınır ağacı olarak rastlanmaktadır. Kapama bahçelerde ağaçlar herhangi bir düzenli mesafede dikilmemiştir. Bu nedenle kültürel bakım işlemleri yeterli olarak yapılamamaktadır. Son zamanlarda dut popülasyonunun yoğun olduğu yörelerde dut üretiminin arzu edilen ekonomik getiriyi sağlamamasından dut ağaçları yakacak odun olarak kullanılarak hızla yok edilmektedir. Endüstriyel ve ekonomik gelişmelerdeki patlamalar nedeniyle ekilebilir araziler hızla kent merkezlerine dönüşmekte bu da tarım alanlarına baskı yapmaya devam etmektedir. Tarım ve tarıma dayalı endüstride verimliliğin karşılanması için gıda ve diğer tarım malları artan talebi karşılamak üzere geliştirilmelidir. Şehirleşme dut genetik çeşitliliğini çok zarara uğrattığı için kalan çeşitlerin ve onların korunması gerekmektedir (Vijayan vd., 2011). Tarım alanlarının giderek azalması ve olumsuz çevre koşullarının strese neden olması gibi sebepler verimliliği azaltmaktadır. Bitkisel üretimde verimliliği artırabilmek çok önemlidir. Bu da stres koşullarına dayanıklı bireylerin seçilmesi veya ıslahı ile olmaktadır (Arıcı ve Eraslan, 2012).

*M. nigra* ağaçlarının çoğaltımında anaç zorunluluğu yoktur. Çeliklemede başarı oranı yüksek ve *in vitro*'da çoğaltım imkânı vardır. Tıbbi ve ekonomik önemi olan *M. nigra*'nın kuraklığa dayanımının belirlenmesi önem arz etmektedir. *In vitro* çalışmalar, kuraklığa dayanıklı dut bitkilerini geliştirmek için 25-30 yıl alan klasik ıslahtan daha hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak görülmektedir.

Bu araştırma ile *M. nigra* bitkisinin *in vitro* şartlarda -1.5 MPa kuraklık seviyesinde vermiş olduğu biyokimyasal ve fizyolojik tepkilerin belirlenmesine paralel MEL uygulaması ile bu tepkilerin üzerinde ortaya çıkması olası etkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kuraklık stresinin mekanizmasının aydınlatılması kuraklık stresine dayanıklı bitkilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Ekonomik önemi olan *M. nigra*'nın kuraklığa karşı oluşan bazı fizyolojik ve biyokimyasal yanıtları, kuraklığa tolerans mekanizmasının açıklanabilmesinde önemli veri sağlayacaktır.

Bu amaç ile araştırmamızda;

1. *M. nigra*'nın Ekşi kara çeşidinin *in vitro* ortamda gelişimi sağlanmıştır.
2. *In vitro* ortamda yetiştirilen bitkilerde kuraklık stresinin etkisini saptamak amacı ile PEG kullanılmış olup, strese cevapta rolünü saptamak için MEL uygulanan gruplar ile karşılaştırmalı olarak farklı deney grupları oluşturulmuştur. Deney gruplarında biyokimyasal ve fizyolojik cevapların değerlendirilmesi için seçilen parametrelerde antioksidan sistem, pigment sistemi, toplam fenolik madde içeriği ile oransal su içeriği gibi bitki gelişiminde önemli olan kriterler değerlendirilmiştir. Ayrıca PEG uygulanan ve uygulanmayan gruplarda içsel MEL analizi yapılmıştır.
3. Başlıca hedef olarak MEL uygulamasının kuraklık stresi durumundaki koruyucu özelliklerinin belirlenmesi ve tolerans artırıcı olarak kullanılabilirliğinin değerlendirilmesi düşünülmüştür.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Mikroçoğaltım beş aşamada yürütülmektedir. Bunlar yüzey sterilizasyonu, kültür başlatma, sürgün çoğaltımı, köklendirme, aklimatizasyon aşamalarıdır (Debergh ve Read, 1993; Mansuroğlu ve Gürel, 2002).

Yıldız ve Yılmaz (1999), karadutun doku kültürü ile çoğaltılabilme imkanlarını araştırmışlardır. Araştırmada, 4 farklı hormon (BAP, 2-4 D, Kinetin, ve GA<sub>3</sub>) ve bunların 5 farklı dozunun (0.1, 0.5, 1, 5, 10 mg/L) eklendiği Murashige ve Skoog (MS) (1962) temel besi ortamı kullanılmıştır. Araştırmacılar olgun ağaçların sürgün ucundan ve nodal tomurcuklarından eksplantları almışlardır. Çalışma sonucunda, eksplant başına en fazla sürgünün (4.1 adet) 5 mg/L kinetin uygulanan sürgün ucu eksplantlarından alındığı saptanmıştır. Enfeksiyon oranının sürgün ucu eksplantlarında, nodal tomurcuğu eksplantlarına göre daha az olduğu ifade edilmiştir. Sürgün ucu eksplantları gelişme oranı ve proliferasyon açısından, nodal tomurcuklarına göre daha avantajlı belirlenmiştir.

Yadav ve arkadaşları (1990), MS temel besi ortamında kültüre alınan *M. nigra*'larda hem sürgün ucu hem de koltuk altı tomurcuklarından alınan eksplantlarda en iyi sürgün gelişiminin 1 mg/L 6-Benzilaminopürin (BAP) uygulamasından elde edildiğini ifade etmişlerdir.

Kalkışım ve arkadaşları (2013) tarafından, karadutun (*Morus nigra* L.) doku kültürü ile çoğaltım olanakları araştırılmıştır. Eksplant olarak verim çağındaki ağaçların obur dallarından alınan nodal meristemleri kullanılmıştır. MS temel besi ortamının 5 farklı BAP (1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 mg/L) konsantrasyonu; ayrıca NAA (0,25 mg/L) ve TDZ (0,1 mg/L)'yi birlikte kullanılmıştır. BAP (2,0 mg/L), TDZ (0,1 mg/L) ve NAA (0,25 mg/L) içeren MS besi ortamı sürgün proliferasyonu ve diğer tüm kriterlerde en iyi sonuçları verdiğini saptanmıştır. BAP (1,0 mg/L) ve NAA (0,5 mg/L) içeren köklendirme ortamında en yüksek köklenme yüzdesi ile eksplant başına düşen kök sayısının elde edildiği rapor edilmiştir.

Khalid (2014), urmu dutu olarak bilinen *M. nigra*'nın üç genotipini agarla jelleştirilmiş ve sıvı halde olan Nas ve Read (2004) ortamında kültüre almıştır. Kültür ortamına 0.5 g L<sup>-1</sup> aktif kömür ilavesi yapılmıştır. Araştırmacı aktif kömürün varlığının ve

ortamın fiziksel halinin (sıvı veya jel) bir eksplanttan elde edilen ortalama sürgün sayısını önemli derecede etkilediğini belirtmektedir. Aktif kömür içermeyen ortam üzerinde daha fazla sürgün elde ettiğini ve sıvı ortama kıyasla jelleştirilmiş ortam üzerinde elde edilen sürgün sayısının daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Sürgün uzunluğu bakımından ise sıvı ortamın jelleştirilmiş ortama kıyasla daha iyi olduğu saptamışlardır.

Özkul (2014), urmu dutunun (*M. nigra* L.) A5, T6 ve T8 genotiplerinin mikroçoğaltımı üzerinde etkili olan en iyi kültür ortamı, bitki büyüme düzenleyici ve konsantrasyonunu saptamayı amaçlamıştır. Sürgün gelişimi açısından Nas ve Read kültür ortamının (NRM), Murashige ve Skoog (MS) ile Driver ve Kuniyuki (DKW) kültür ortamlarından daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Sürgün uzunluğu ve sürgün sayısı yönünden BAP ile meta-Topolin, TDZ'den üstün olduğu tespit edilmiştir. En iyi köklenme oranının 1.0 mg/L IBA konsantrasyonunda meydana geldiği ve mikrosürgünlerin %84'nün köklendiği rapor edilmiştir.

Şengül (2012), *M. nigra*'nın *in vitro* çoğaltım olanaklarını araştırmıştır. *M. nigra* bitkisinin yaşlı ağaçlarından alınan kışlık nodal tomurcukları, ilkbaharda sürmenin başlaması ile oluşan yıllık sürgünlerden alınan nodal tomurcukları ve *in vitro*'da çoğaltımı yapılmış 5-6 aylık genç bitkilerden alınan nodal tomurcukları eksplant olarak kullanmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre, yaşlı ağaçlardan alınan kışlık nodal tomurcuklarından daha iyi sonuç elde etmiştir. Başlangıç kültüründe en iyi sonucu 1 mg/L BAP içeren ortamdan; sürgün çoğaltım aşamasında 3 mg/L BAP konsantrasyonunun daha iyi sonuç verdiğini; *in vitro* da çoğaltımı yapılmış bitkilerden alınan eksplantlarda ise 2 mg/L BAP konsantrasyonu daha başarılı sonuçlar verdiği belirtilmiştir. En yüksek köklenme oranı her üç eksplant tipinde de kontrol ve putrescin uygulamalarından elde edildiği ifade edilmiştir.

Đurkovič ve arkadaşları (2012), *M. nigra* L. ağaçlarından (Mn1 ve Mn2 genotipleri) aldıkları eksplantları MS ortamında farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyiciler ile kültüre almışlardır. En iyi sürgün proliferasyonunun 0.5 mg/L BAP ve 0.1 mg/L IBA kombinasyonunda olduğu; Mn1 genotipinde 5.3 adet/sürgün ve Mn2 genotipinde 6.9 adet/sürgün elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Zaki ve arkadaşları (2011), *M. nigra* L. bitkisinin mikroçoğaltımını araştırmışlardır. Çalışmada, 0,5 mg/L ve 1,5 mg/L dozlarında BAP kullandıkları ortamlardan elde ettikleri sürgün proliferasyon oranlarını sırası ile %80 ve %90 olarak belirlemişlerdir.

Aşırı ROT üretimi toksiktir, çünkü protein yapılarına zarar verir, enzimleri inhibe eder, hücre membranı lipidleri ile DNA gibi makromolekülleri oksitler ve sonunda hücre ölümüne yol açar (Mithofer vd., 2004; Noctor vd., 2014). Bir hücre membranının yağ asitlerinin zarar görmesi, MDA gibi küçük hidrokarbonlar üretebilir. Bu hidrokarbon, lipid peroksidasyonunun nihai ürünüdür ve membran hücrel hasarının bir işaretidir. Kuraklık stresi, bitkilerde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve prolin birikimini etkileyebilir (Gharibi vd., 2016).

Birçok bitki farklı su eksikliğini tolere etmelerine izin veren cevaplar geliştirmiştir. Su alımının azalması bitki için gerekli temel elementlerin (veya tuzların) alımının azalmasına, fotosentezin yavaşlamasına bunun sonucu olarak daha küçük yapraklar, kısa gövde ve düşük kök proliferasyonu gibi büyüme ve gelişmenin azalmasına neden olmaktadır (Dai, 2013; Obata vd., 2015).

Bitkilerin su eksikliğine verdiği ilk tepkilerden biri ROT'ların oluşmasıdır (Bhargava ve Sawant, 2013; Foyer ve Noctor, 2009; Kocsy vd., 2013). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bitki stres altındayken ROT'da görev alan önemli bir sinyal molekülüdür (Deeba vd., 2012; Koffler vd., 2014). Su eksikliği uzadıkça, membran yapısı tahrip olur, bu da zarın seçici geçirgenliğinin tahrip olmasına neden olur. MDA, membran lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve kuraklık ile diğer streslerin bir göstergesi olarak kabul edilir (Cheng vd., 2018).

Klasik olarak tarla koşullarında kuraklık toleransını belirlemek yerine *in vitro* koşullarda seleksiyon, stres faktörlerine toleranslı hatların geliştirilmesi için son zamanlarda alternatif ve kolay bir yöntem olarak uygulama alanı bulmaktadır (Monneveux vd. 2013). *In vitro* koşullarda su stresi etkisinin tarla koşullarına benzer şekilde su stresinde; büyümede gerileme, ağırlık kaybı, kök sayısı ve kök kuru ağırlığında azalma olduğu belirtilmiştir (Gopal ve Iwama, 2007; Monneveux vd. 2013).

Agastian ve arkadaşları (2000), dut genotiplerine (*Morus alba* L.) saksılarda tuzluluk (0-12 mS cm<sup>-1</sup>) stresine maruz bırakmışlardır. Karotenoid ve toplam klorofil içeriğinin tuzluluk ile önemli ölçüde azaldığını, glisin betainin prolinden daha fazla biriktiğini belirlemişlerdir. Çözünür proteinlerin, serbest amino asitlerin, çözünür şekerler, sukroz, nişasta ve fenollerin içeriğinin tuzluluk oranı arttıkça azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca dut bitkisinde tuz stresi şartlarında net CO<sub>2</sub> emilim hızı, stoma iletkenlik derecesi ve transpirasyon hızının düştüğünü saptamışlardır.

Harinasut ve arkadaşları (2003), dut bitkisinin yapraklarında (*Morus* sp.) tuz stresine bağlı antioksidan enzim değişikliklerini araştırmışlardır. 150 mM NaCl'ye kadar artan

tuzlulukta, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği ve guaiakol peroksidaz aktivitesi önemli ölçüde artarken SOD, APX ve GR'ın aktivitelerindeki artışın daha az olduğunu rapor etmişlerdir. Tuzluluk oranı arttıkça, CAT ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> aktivitesinin bağlantılı olmadığı bildirmektedirler. Araştırma sonucuna göre, artan tuzluluk stresi koşullarında, POD, SOD/POD ve SOD/AsA-GSH döngüsünün aktivitelerindeki artışın bu çeşitte ROT'ların atılmasında aktif bir rol oynadığını ve oksidatif strese karşı geliştirilmiş direncin bir sonucu olabileceğini belirtmektedirler.

Ahmad ve arkadaşları (2010), tuz stresi koşullarında (150 mM) iki dut (*Morus alba* L.) çeşidinin (Yerel ve Sujanpuri) yapraklarında antioksidan enzimler, lipid peroksidasyonu, prolin ve glisin betain içeriklerini incelemişlerdir. Her iki çeşitte de stres sırasında lipid peroksidasyon oranının, ayrıca SOD, CAT, APX, GR, guaiacol peroksidaz ve monodehidroaskorbat redüktaz aktivitelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Tuz stresinin, dut yapraklarında önemli ölçüde serbest prolin birikimine neden olduğunu ve cv. Sujanpuri'nin cv. Lokal'den 9 kat fazla glisin betain biriktirdiğini saptamışlardır. Sonuçlara göre oksidatif stresin tuz stresine maruz kalan dut bitkilerinde önemli bir rol oynayabileceği ve Local çeşidinin oksidatif strese karşı daha iyi koruma sağlayabilen daha verimli antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir.

Ramanjulu ve Sudhakar (2000), kuraklık toleransı bakımından kontrast iki dut (*Morus alba* L.) genotipinde dehidrasyon sırasında prolin metabolizmasını araştırmışlardır. Kuraklığa duyarlı (cv 554) ve kuraklığa toleranslı (cv 513) dut çeşitlerinde su stresi esnasında serbest prolin ile kuaterner amonyum bileşiklerinin seviyesi, Pirolin-5-karboksilat redüktaz, prolin oksidaz, prolin dehidrojenaz aktivitesi ve klorofil stabilitesini çalışmışlardır. Şiddetli su stresinden 15 gün sonra serbest prolin içeriği cv. 513'de 8 ve cv. 554'de 3.5 kat arttığını saptamışlardır. Su stresi koşulları altında her iki çeşitte de prolin oksidaz ve prolin dehidrojenazın aktiviteleri önemli ölçüde azalırken Pirolin-5-karboksilat redüktazın arttığı rapor edilmiştir. Kuraklık toleransı bakımdan yapılan karşılaştırmada cv. 513 cv. 554'den daha yüksek prolin seviyesi, daha az prolin oksidasyonu, daha büyük kuaterner amonyum bileşikleri birikimi ve nispeten düşük miktarlarda klorofil yıkımı ile ön plana çıktığını bildirmektedirler.

Reddy ve arkadaşları (2000), su stresi altındaki K-2, MR-2 ve BC2-59 dut (*Morus alba* L.) SOD, CAT, APX ve POD aktivitelerinde stres kaynaklı yanıtları belirlemişlerdir. Üç genotipin hepsinde SOD, CAT, APX ve POD aktivitelerinde artışlar gözlenmişlerdir. Yaprak su potansiyellerinin -0.75 MPa'dan -2.25 MPa'ya düşürülmesi ile antioksidan enzimlerin aktivitelerinde aşamalı bir artış saptamışlardır. BC2-59 genotipinin düşük su



rejimi altında üç antioksidan enzimde de daha yüksek aktivite gösterdiği ve üç çeşit arasında su sınırlı koşullardan kaynaklanan oksidatif hasara karşı etkili bir antioksidan sistemine sahip olduğunu bildirmektedirler.

Sekhar ve arkadaşları (2017), dutta (*M. alba* L.) kuraklığa bağlı olumsuz tepkilerin iyileştirilmesini araştırmışlardır. Kuraklık stresi koşullarında prolin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MDA seviyesinde azalma olduğu, AsA ve toplam fenolikler dahil daha yüksek antioksidan içerikleri ile bitkilerin daha az oksidatif hasar gösterdiği bildirilmiştir. Stres uygulamasının 15. gününde stresli bitkilerde kontrole göre antioksidan enzim aktivitelerini daha yüksek olarak belirlemişlerdir. Kuraklık uygulamasının 30. gününde antioksidan sistemlerin regülasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak dutun hızla değişen küresel iklimde kuraklık koşullarının hakim olacağı öngörülen aralıklı en uygun potansiyel biyo-enerji ağacı mahsulü olacağını rapor etmişlerdir.

Arslan (2019), turunçgile anaç olarak kullanılan turunç (*Citrus aurantium*), Troyer ve Carrizo sitranjlarının (*Poncirus trifoliata x Citrus sinensis*) kuraklık stresi koşullarında antioksidan aktivitelerinde oluşan değişimleri araştırmıştır. Stres uygulanacak bitkilere 14 gün süresince su verilmemiştir. Strese maruz kalan bitkilerin tümünün H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA, AsA, fenolik miktarlarının ve CAT, APX enzim aktivitelerinin kontrole kıyasla arttığını belirlemiştir. SOD enzim aktivitesinin tüm çeşitlerde azaldığı, GR enzim aktivitesi ve protein miktarının ise turunç anacında kontrole göre azalırken diğer anaçlarda arttığı saptanmıştır. Çalışmanın sonucunda Troyer ve Carrizo sitranjlarının kuraklık stresine dayanım düzeylerinin turunç anacına göre daha fazla olduğu belirtilmiştir.

Bitkiler doğal yaşam ortamlarında fizyolojik ve biyokimyasal zararlar oluşturan ürünlerin kalitesini bozan bir çok stres etmeni ile karşı karşıyadırlar (Büyük vd., 2012). Politilen glikol (PEG) ortamın ozmotik potansiyelini etkilemek sureti ile bitkilerde su alınımları üzerinde önemli etkiye sahiptir ve istenilen su stresi şartlarını meydana getirir (Çarpıcı ve Erdel, 2015; Tiryaki, 2016).

PEG, yüksek molekül ağırlığına sahip (1500-8000 arasında değişen moleküler ağırlıkları mevcuttur), suda çözünebilir ve bitkiler için toksik olmayan bir polimerdir. Yüksek moleküler ağırlığından dolayı köklerde ve sürgünlerde alınma oranı oldukça yavaştır. Bu yavaşlama bitki türlerine, konsantrasyonuna ve uygulama zamanına göre değişmektedir (Yaniv ve Werker, 1983; Jacomini vd. 1988). Bu özelliğinden dolayı bitkilerde suni kuraklık etkisi yaratmak amacıyla kullanılmaktadır (Tábori vd., 2017) PEG

ile kuru (susuz) topraktaki düşük su potansiyeline benzer koşullar suni olarak sağlanabilmekte, fide aşamasında bitkilerde kök ve sürgün gelişmesi incelenebilmektedir (Nistor vd. 2014).

Özkaynak ve Şimşek (2018), bazı ileri patates hatlarının *in vitro* koşullarda oluşturulan kuraklık toleransını belirlemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışmada PEG 6000 farklı konsantrasyonlarda (0, %3, %10, %15) kullanılarak kuraklık stresi oluşturulmuştur. Yirminci ve kırkıncı günlerde bitki boyu, bitki yaş ağırlığını, bitki başına nodyum gibi parametreler ölçülmüş ve sayılmıştır. PEG içermeyen ortamda en iyi değerlere ulaşıldığı bildirilmektedir. PEG dozundaki artışın bitki boyu, bitki başına nod sayısı, bitki yaş ağırlığı ile bitki büyüme ve gelişmesinde azalmaya neden olduğunu belirtmektedirler. Araştırmacılar çalışma verilerine göre PEG 6000 içeren *in vitro* koşullarda iki ileri hattı kuraklık toleranslı hatlar olarak seçmişlerdir.

Dört haftalık *Arabidopsis* bitkilerinin yedi gün süresince -2,54 MPa'lık kuraklık stresine maruz bırakılmıştır. Strese maruz kalan genç ve olgun yirmi dört yaprakta yapılan incelemelerde enzimatik olmayan antioksidanlar hem genç hem de olgun yapraklarda artmışken, enzimatik antioksidanlardan CAT, POD, SOD ve GR'de yalnızca olgun yapraklarda artmıştır. Çalışmada olgun yaprakların genç yapraklara oranla kuraklık stresinden daha fazla etkilendiği ve yaprakların gelişim evrelerinin kuraklığa uğrayan bitkilerde oksidatif hasarın engellenmesinde katkısı olabileceği belirtilmiştir (Jung, 2004).

Sivritepe ve arkadaşları (2008), Gisela 5 anacını *in vitro* koşullarda farklı konsantrasyonlarda PEG 8000 (0, %1, %2, %4) uygulayarak yetiştirmişlerdir. Altı haftanın sonunda bitkilerde morfolojik ve biyokimyasal değişimleri araştırmışlardır. Uygulanan PEG konsantrasyonları incelendiğinde %4'lük PEG konsantrasyonunda bitkide zararlanma, bitki kuru ağırlığı, prolin miktarı, SOD, CAT, POD, APX ve GR aktivitesi ile MDA içeriği en yüksek değerlere ulaştığını belirlemişlerdir. Element analizleri sonucuna göre fosfor, magnezyum, sodyum ve bakır içeriklerinde uygulamaların istatistiksel bakımdan önemsiz olduğu, potasyum içeriğinin en fazla kontrol uygulamasında, kalsiyum içeriğinin %1'lik PEG konsantrasyonunda, demir içeriğinin kontrol ve %1'lik PEG konsantrasyonunda, çinko içeriğinin %1'lik PEG konsantrasyonunda ve mangan içeriğinin ise %4'lük PEG konsantrasyonu hariç tüm uygulamalarda en yüksek miktarda olduğunu tespit etmişlerdir.

Karimi ve arkadaşları (2012) tarafından, beş farklı badem çeşidi ve GF 677 anacı ile yürüttükleri çalışmada PEG dozunun artmasıyla bitki kuru ağırlığında, boyunda, sürgün

sayısında ve gövde çaplarında azalmalar olduğunu saptanmıştır. Çalışmada kullanılan anaç ve çeşitlerin yaprak oransal su içeriği, membran stabilitesi ile yaprak alanları kuraklık şiddetinin artmasıyla kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu, ayrıca PEG dozunun artması ile bitkilerde biriken prolin miktarının arttığını belirtmektedir.

Bolat ve arkadaşları (2014), elma (M9-Vista Bella) ve armut (MA-Santa Maria) fidanlarına su stresi uygulamak için kontrol (%100), %75 sulama ile %50 sulama şeklinde uygulamalar yapmışlardır. Fidanlarda göz verimliliği ile bazı morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri araştırmışlardır. Çalışmanın sonucuna göre su stresinin artması ile her iki türe ait bitkilerde kuru ağırlık, yaprak oransal su içeriği ve klorofil içeriklerinde azalma, CAT ile POD aktivitelerinde ise artış gözlemlenmiştir. Stresin şiddeti arttıkça bitkilerin prolin içeriklerinde arttığı rapor edilmiştir.

Araştırmacılar *in vitro* ortamda MM 106 elma anacı ile armutun kullanıldığı kuraklık çalışmasında mikroçoğaltım ortamına PEG 6000'nin dört farklı dozunu (0, %2, %4, %6) eklemiştir. Her iki türde de kuraklık şiddetinin artması ile sürgün uzunluğu ve sürgün sayısında azalma olduğunu tespit etmişlerdir (Danial vd., 2014).

Zokaee-Khosroshahi ve arkadaşları (2014), beş farklı yabani badem türüne dört farklı kuraklık şiddeti uygulamışlardır. Kuraklık şiddeti arttığında badem türlerinin hepsinde yaprak oransal su içeriğinde ve yaprak alanında azalmalar saptanmıştır.

Zonouri ve arkadaşları (2014), tarafından White Seedless ve Khoshnav üzüm çeşitlerine üç farklı askorbik asit uygulayarak kuraklık stresinden bitkileri korumayı amaçlamışlardır. Her iki çeşitte de askorbik asit miktarını kuraklık stresinde kontrol grubuna kıyasla arttığını gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra APX aktivitesi, MDA ve protein miktarları ile membran geçirgenliğinin kuraklık uygulamasında en yüksek değerlere ulaştığını rapor etmişlerdir.

İpek (2015), *in vitro* şartlarda Garnem ve Myrobolan 29C anaçlarının farklı dozlardaki PEG içeren büyüme ortamlarında kuraklığa karşı morfolojik ve biyokimyasal tepkileri araştırmıştır. Çalışmada 3 farklı kuraklık seviyesi (-0.5 MPa, -1.0 MPa ve -1.5 MPa) uygulanmıştır. Bu araştırmada Garnem anacının kuraklık stresine Myrobolan 29C anacına göre daha dayanıklı olduğunu belirlenmiştir. Kuraklık stresinin artmasıyla bitkilerin morfolojik gelişimleri ve SOD, CAT, POD, GR, APX aktivitelerinin olumsuz yönde etkilendiğini saptamıştır.

Reddy ve arkadaşları (2004), 5 farklı *M. alba* L. (Beyaz dut) çeşidinin yaprak su potansiyeli -2,5 MPa'ya ulaşınca kadar susuz bırakılarak kuraklık stresi oluşturmuşlardır. Çalışmada askorbat, antioksidan enzim aktiviteleri, prolin, glisin-betain, absisik asit, lipid peroksidasyonu oranlarını tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda su stresi altındaki yapraklarda SOD, CAT, APX, POD, GR ve MDAR aktivitelerinde önemli artmıştır. Çeşitlerin hepsinin kısıtlı suya verdikleri tepkide askorbat ve monodehidroaskorbat içeriklerinde farklılıklar saptanmıştır. Kuraklığa tepki olarak çeşitler arasında prolin, glisin-betain ve askorbik asit içeriğinde kantitatif farklılıklar olduğu rapor edilmiştir.

Guha ve arkadaşları (2010), dört dut çeşidini (*Morus indica* L. cvs.V-1, MR-2, S-36 ve K-2) kuraklığa tolerans açısından değerlendirmişlerdir. Yapılan saksı denemelerinde kontrol bitkileri % 100 tarla kapasitesine kadar, stres uygulanacak bitkileri ise % 25-30 oranına kadar sulamışlardır. Dört çeşidin hepsi su stresi altında farklı antioksidatif yanıt gösterdiğini belirtmektedirler. V-1 çeşidinin yaprak ekstraktlarında karotenoid, AsA, GSH, a-tokoferol ve prolin konsantrasyonları daha yüksek gözlenirken, K-2 ve S-36 çeşitlerinde bu metabolitlerin birikiminin minimum olduğunu saptamışlardır. K-2, S-36 ve MR-2'de endojen  $\alpha$ -tokoferol kaybı ile daha yüksek lipid peroksidasyonu ile karşılaşırken, V-1'de su eksikliği koşulları altında minimum lipid peroksidasyonu gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Jahan ve arkadaşları (2020), domateste MEL uygulmasının Nikel stres toleransı lehine kritik mekanizmalarını açıklayan bir çalışma yapmışlardır. Nikel stresi fotosentezi, fotosistem fonksiyonunu, mineral homeostazisi, kök aktivitesini ve ozmotik dengeyi bozarak büyümeyi ve biyokütleyi belirgin şekilde azalttığı bildirilmektedir. Buna karşılık, MEL uygulamasının, bitki büyüme özelliklerini güçlendirdiği, fotosentez verimliliği artırdığı, nikel birikimini azalttığı ve mineral besin homeostazisini artırdığı rapor edilmiştir. MEL'in, antioksidan enzim aktivitelerini tetiklediğini, AsA-GSH havuzlarını modüle ederek  $H_2O_2$  ve SOD üretimini kısıtladığını, sekonder metabolitlerin (fenoller, flavonoidler ve antosiyanin) içeriklerini artırdığını, hücresel bütünlüğü (daha az MDA ve elektrolit sızıntısı) geri kazandırdığını tespit etmişlerdir.

Zahedi ve arkadaşları (2020), tuzluluk stresi koşullarındaki (0, 40 ve 80 mM NaCl) çilek (*Fragaria × ananassa* Duch.) bitkisinin yapraklarına MEL (100 ve 200  $\mu$ M ) uygulamasının strese toleransını, meyve verim ve kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada yaprak kompozisyon parametreleri (fotosentetik pigment, makrobesin konsantrasyonları, oksidatif stres parametreleri, antioksidan savunma sistemleri ve absisik asit konsantrasyonları), meyve verimi ve kalite parametreleri (çözünür kuru

madde, toplam asitlik, askorbik asit, toplam antioksidanlar, fenolik ve şekerler), yaprak ile meyvede MEL konsantrasyonu araştırılmıştır. Tuzluluk verimde, meyve kalite parametrelerinde, yaprak fotosentetik pigmentlerinde, makrobesin konsantrasyonlarında azalmaya, oksidatif stresin artmasına neden olduğu ve MEL uygulaması ile tüm bu değişikliklerin hafiflediği bildirilmektedir. Tuzluluk stresi olmadığında, MEL, tuzluluk varlığında gözlenen ile aynı yönde tüm parametrelerde daha az değişiklik saptanmıştır. Araştırmacılar MEL uygulamasının çilekte meyve verim ve kalitesinde artışa neden olduğu, yaprak antioksidan enzimleri ile ABA'da artışa neden olduğunu saptamışlardır.

Kaya ve Doğanlar (2019), pendimetalinin ve kuraklık stresine maruz bırakılan biberde (*Capsicum annuum*) çoklu stres etkileşiminin antioksidan sistem üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu araştırmada, ayrıca MEL'in strese cevabı incelenmiştir. Hem ayrı ayrı hem de aynı anda farklı konsantrasyonlarda Pend (8, 16 ve 32 mM) ve % 10 PEG uygulanan biberlerde, mRNA düzeyinin yanı sıra karotenoid, prolin, glutatyon, endojen MEL ve MDA içeriği, APX, GST ve GR aktiviteleri artarken, toplam klorofil içeriği ve bağıl su içeriğinin azaldığı rapor edilmiştir. 50 µM MEL ile uygulanan bitkiler için MDA içeriği MEL uygulanmayan bitkilere göre azalırken; bağıl su içeriği, klorofil, karotenoid, prolin, glutatyon ve endojen MEL içerikleri ile mRNA seviyesinin yanı sıra, antioksidan enzimlerin (APX, GST ve GR) aktivitelerinin arttığını saptamışlardır. Araştırma sonuçlarına göre hem Pend hem de PEG'in biber üzerinde bazı fitotoksik tepkiler yarattığını ve çoklu stres uygulamasının bu yanıtları uyardığını belirtmektedirler. Ekzojen MEL uygulaması, biberin antioksidan savunma yanıtlarını artırarak herbisit ve kuraklık streslerinin olumsuz etkilerini hafiflettiğini rapor etmişlerdir.

Nawaz ve arkadaşları (2018), karpuz fidelerinin vanadyum stresine tepkisini ve MEL'in karpuz fidelerinin vanadyum stresine toleransını arttırmadaki potansiyel rolünü araştırmışlardır. Araştırma sonuçları 50 mg/L vanadyuma maruz kalan MEL (0.1 uM) uygulanan fidelerin, MEL uygulanmayan fidelere göre daha yüksek bir nispi klorofil içeriğine (SPAD indeksi), fotosentetik asimilasyona ve bitki büyümesine sahip olduğunu saptamışlardır. MEL uygulaması kökten sürgüne vanadyum taşınımını azaltarak gövde ve yapraklarda vanadyum konsantrasyonunu azalttığını, SOD ve CAT aktivitelerini artırdığını, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA içeriğini azalttığı, peroksidaz, GPX, GST, APX, SOD'un gen ekspresyonunu düzenlediğini rapor etmişlerdir.

Farouk ve Al-Amri (2019), arsenik stresi koşullarındaki biberiye bitkisine 50 µM MEL uygulamasının sekonder metabolit üretimi, antioksidan kapasitesite ve kloroplast

yapısı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Arsenik'in bitki verimliliği, fotosentetik pigment, iyon konsantrasyonu, su durumu, AsA, kloroplastın yapısal bozukluğu üzerinde zararlı etki oluştururken antioksidan enzimler, fenol, flavonoid ve antosiyaninde artışa neden olduğu bildirilmektedir. Araştırmacılar arsenik varlığında veya yokluğunda MEL uygulamasının büyümeyi, fotosentetik pigmenti, iyon konsantrasyonunu, organik ozmolitleri artırdığını tespit etmişlerdir. MEL uygulamasının hücre zarı bütünlüğünü stabilize ettiği, oksidatif bozulma kriterlerini bastırdığı ve antioksidan kapasiteyi arttırdığı, ayrıca antioksidan enzimleri düzenlediği rapor edilmektedir.

Sharma ve arkadaşları (2020), kuraklık stresi koşullarında aşılı Çin hickory (*Carya cathayensis*) bitkilerine MEL uygulamasının koruyucu etkinliğini değerlendirmek için bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar ekzojen uygulanan MEL, kuraklık stresi altındaki bitkilerin antioksidatif savunma sistemini güçlendirerek ROT atılımının artmasına neden olduğu, toplam çözünür şeker ve prolin gibi çözünen maddelerin birikmesini tetiklediği, fenilpropanoid, klorofil ve karotenoid biyosentezi, karbon fiksasyonu gibi metabolik yolları düzenlediğini saptamışlardır. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkiler ve kuraklık stresi altında MEL uygulanan bitkilerde antioksidatif enzimlerin (SOD, CAT, POD ve APX) aktivitelerinin arttığını gözlemişlerdir.

Posmyk ve arkadaşları (2009), hıyar tohumlarında çimlenme iyileştirilmesi için osmopriming (osmotik çözelti) ve hydropriming (suda bekletme) ile birlikte MEL uygulayarak soğuk stresi ile çimlenme arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Hıyar tohumları soğuk stresine karşı duyarlıdır, 25°C de %99, 15°C %30 ve 10°C'de ise %4 imlenmiştir. Hydropriming ile tohum imlenmesi 15 °C'de %50-60 seviyesine yükselmiş ve 25-100 µM MEL eklenmesi çimlenme oranını arttırmıştır. PEG ile yapılan osmopriming uygulamasından sonra tohumlarda imlenme 15°C'de %78 iken 50 µM MEL eklenmesiyle çimlenme %98 seviyesine çıkmış ve çimlenme hızında da olumlu etkiye neden olmuştur. Hıyar tohumlarının osmopriming sonrası 10°C'de dahi %43 oranında çimlendiği ve osmopriming çözeltisine eklenen 50 µM MEL sonrası bu oranının %83'e ulaştığı bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışmanın sonucuna göre, MEL'in hıyar tohumlarında soğuk stresi esnasında hücre zarlarını peroksidasyona karşı koruduğu bununla birlikte yüksek MEL miktarlarının proteinler içinde oksidatif değişikliklere neden olduğunu bildirmişlerdir.

Posmyk ve arkadaşları (2008), *Brassica oleracea rubrum* (kırmızı lahana)'un fide gelişimi üzerine MEL'in koruyucu etkisini araştırmışlardır. Araştırmada kırmızı lahana fidelerinin ortamda aşırı bakır varlığında gelişmesi ve bu durumda tohumlara uygulanan

MEL'in etkisi çalışılmıştır. Bakır varlığında yetiştirilen MEL uygulaması yapılmamış tohumlardan elde edilen fidelerde yağ asitleri peroksidasyonu artmakta, hücre bölünmesi ile DNA endoreplikasyonunu olumsuz etkilediği ve büyümeyi engellediği bildirilmiştir. Ancak 1 µM veya 10 µM miktarlarında MEL uygulanan tohumlardan elde edilen fidelerde aşırı bakırdan kaynaklanan hücre yaralanmalarının engellendiği belirlenmiştir.

Tan ve arkadaşları (2007b), *Pisum sativum* L. (bezelye) fideleri için topraktaki aşırı bakır bulunmasının öldürücü olduğu bildirilmektedir. Toprağa 5 µM MEL eklenmesi ile kökler aracılığıyla alınan MEL'in bitkinin hayatta kalmasını sağladığını gözlemişlerdir.

Zeng ve arkadaşları (2018), tuz stresi altında yetiştirilen kolza tohumu (*Brassica napus* L.) fidelerine MEL uygulamasının etkilerini araştırmışlardır. MEL uygulaması ile tuz kaynaklı büyüme inhibisyonunun azaldığı, POD, CAT, APX antioksidan enzimlerin aktivitelerinin sırasıyla %16.5, %19.3 ve %14.2 oranında arttığı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinin %11.2 azaldığı saptanmıştır. Ayrıca prolin (%26.8), çözünür şekerler (%15.1) ve proteinlerin (%58.8) içeriği artarak çözünen madde birikiminin arttığı rapor edilmiştir.

Li ve arkadaşları (2012), dışarıdan uygulanan MEL'in, tuz stresindeki yaban elması (*Malus hupehensis*) fideleri üzerine etkilerini ve stresin etkilerini engellemedeki görevini araştırmışlardır. Strese (100 mM NaCl) uğrayan bitkilerde klorofil içeriği ve net fotosentetik kapasitenin bariz bir şekilde azaldığı, oksidatif zararlanmanın artarak fide gelişimi olumsuz etkilediği saptanmıştır. Ancak 0.1 µM MEL uygulamasıyla büyümede gözlenen bu düşüş önemli ölçüde önlenmiş ve fotosentez hızında artış olduğunu belirlemişlerdir. MEL uygulanması ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi serbest radikallerde azalma, buna karşılık POD, AsA ve CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde artma olduğu ve tüm bunların tuzluluktan kaynaklanan oksidatif zararlanmayı azalttığı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

Xu ve arkadaşları (2010), yüksek sıcaklık stresi koşullarındaki hıyar fidelerine dışarıdan 25-100 µM miktarlarında yapılan MEL uygulamışlardır. MEL uygulamasının bitki dokularında serbest radikallerde ve MDA içeriğinde önemli düşüslere neden olduğunu tespit etmişlerdir. MEL uygulanan bitkilerde doku iletkenliklerinin azaldığı ve buna karşın SOD, CAT, POD gibi enzimatik antioksidanların aktivitelerinin arttığı rapor edilmiştir.

Haskırlı (2019), *Arabidopsis thaliana*'da MEL'in UV stresini iyileştirici etkisini araştırmıştır. Araştırmanın yirminci gününde MEL uygulayarak yirmi birinci günün sonunda 90 ve 180 dakika UV-B stresine maruz bırakılmış, ayrıca strese maruz kalan bitkilerin bir grubuna 10 µM MEL uygulaması yapılmıştır. UV-B süresine bağlı olarak kontrol grubuna

kıyasla CAT aktivitesi önemli ölçüde artarken, APX aktivitesinde azaldığı bildirilmiştir. Çalışma sonuçları incelendiğinde dışarıdan uygulanan 10 µM MEL'in UV stresi altında *Arabidopsis thailana*'da strese karşı tolerans kazandığı ve daha az zarar gördüğü rapor edilmiştir.

Karaca (2013), dışarıdan yapılan MEL uygulamaları ile biberde (*Capsicum annuum* L.) çimlenme esnasında soğuk stresine toleransı arttırmayı amaçlamıştır. Araştırmacı, soğuk stresi koşullarında, tohumlara çeşitli dozlarda (kuru tohum, 0, 1, 5, 10 ve 25 µM) MEL ile muamele etmiştir. Çalışmada tohumlara optimum (25 °C) ve soğuk stresi (15 °C) şartlarında çimlenme ile fide çıkış testleri yapılmıştır. Ekim öncesi tohum uygulaması biçiminde yapılan MEL uygulamalarının hem soğuk stresi koşullarında biber tohumlarının çimlenmesini hem de fide çıkış performanslarını olumlu olarak etkilenebileceği ve en etkili MEL dozunun 1 µM olduğu belirlenmiştir. Bu olumlu etkinin, MEL uygulamalarının yol açtığı antioksidan enzimlerin aktivitelerinde gözlenen artışlardan kaynaklandığı ifade edilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, içsel bir bitki büyüme düzenleyici olarak kabul edilen MEL'in soğuk stresi koşullarında biber tohumlarının çimlenme ve fidelerin çıkış performansını artırmada kullanılabileceği belirtilmektedir.

Kolodziejczyk ve arkadaşları (2016), soğuk stresine maruz kalan mısır (*Zea mays* L.) tohumlarının eksojen MEL uygulamasının embriyo proteomunu iyileştirici etkisini araştırmışlardır. Hiçbir uygulama yapılmamış tohumlar ile hidropriming (suda bekletme) ve hem hidropriming hem de 50 µM veya 500 µM MEL uygulanmış tohumlar ile karşılaştırmışlardır. Protein biyosentezi uzun süreli soğuk stres koşulları (14d/5°C) altında önemli ölçüde inhibe edilmiş olmasına rağmen, hidro-koşullandırılmış tohumlarda ve özellikle MEL ile hidro-koşullandırılmış olanlarda embriyo proteomunda pozitif değişiklikler gözlemişlerdir. Hidro-koşullandırma, kontrol sıcaklığındakilere göre soğuk stresinde çimlenen embriyonik tohum eksenlerinde beş yeni protein ürettiğini ve bu MEL uygulaması ile desteklendiğinde 6 spesifik protein ortaya çıktığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, MEL'in gelecek vaat eden bir tohum biyostimülatörü gibi görüldüğü rapor edilmiştir.

Türk ve Genisel (2020), mısır (*Zea mays*) fidelerine soğuk stresi ve stres ile birlikte MEL uygulaması yapmışlardır. Soğuk stresi uygulanan fidelerde kök uzunluğu, bitki boyu, yaprak yüzey alanı, klorofil içeriği gibi bitki büyüme parametrelerinin önemli ölçüde azaldığı, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve oksidatif hasar dahil olmak üzere ROT içeriğinin arttığı ifade edilmektedir. Ancak MEL uygulamasının, bitki büyüme parametrelerini önemli ölçüde



arttırdığı, kontrol ve soğuk stresi koşullarındaki bitkilere göre ROT içeriğini ile oksidatif hasarın azaldığı tespit edilmiştir.

Huihui ve arkadaşları (2020), 100 mM NaCl ve NaHCO<sub>3</sub> stresine maruz bırakılan dut (*Morus alba* L.) fidanlarının yapraklarında ROT ile ROT metabolizmasının fizyolojik ve proteomik yönlerini araştırmışlardır. NaCl stresinin dut fidanı yapraklarında fotosentez ve solunumuna etkisinin çok az olduğunu; SOD aktivitesi ve ilgili protein ekspresyonunun değişen derecelerde arttığı; CAT aktivitesinin arttığı ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> birikimi gözlenmediğini tespit etmişlerdir. NaHCO<sub>3</sub> stresi altında fotosentez ve solunum önemli ölçüde engellendiği, O<sub>2</sub><sup>-</sup> üretimi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinin arttığı; CAT aktivitesinin azaldığı; POD'un H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> süpürme kabiliyetinin arttığı saptanmıştır.

Kostopoulou ve arkadaşları (2015), AsA ile kombine edilen MEL'in iki yaşındaki *Citrus aurantium* fidanlarında tuz stresine adaptasyonunu araştırmışlardır. 30 gün 100 mM NaCl uygulaması yapılan fidanlara 0.50 mM AsA, 1 µM MEL ve bunların kombinasyonları (AsA + MEL) eksojen olarak uygulamışlardır. AsA, MEL veya AsA + MEL'in tuz çözeltisine uygulanması, NaCl kaynaklı elektrolit sızıntısını ve lipid peroksidasyonunu azalttığı, NaCl ile ilişkili toksisite semptomlarını ve pigmentlerin bozulmasını önlediğini bildirmişlerdir. AsA + MEL uygulanan fidanların yapraklarında daha düşük Cl<sup>-</sup> birikimi gösterdiğini ifade etmişlerdir. AsA ve MEL ile muamale edilenler, sadece NaCl uygulananlarla kıyaslandığında karbohidrat, prolin, fenol, GSH ve dokuların toplam antioksidan gücünü farklı şekilde modüle ettiği belirtilmektedir. Yaprakların ve köklerin kimyasal işlemlere, özellikle kombine AsA ve MEL uygulamasına, maruz bırakılması şeker metabolizmasının, iyon homeostazisinin, transkripsiyon düzenlemesinin AsA ve MEL tarafından tetiklendiğini gösterdiği rapor edilmiştir.

Sarropoulou ve arkadaşları (2012), *in vitro*'da yetiştirilen vişne anaçlarını (*Prunus avium* L. x *Prunus cerasus* L.) MEL (0, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 ve 10 µM) ile muamele etmişlerdir. MEL uygulamasının anaçların yapraklarında fotosentetik pigmentleri, biyokütleyi, toplam karbohidratları ve prolin içeriğini artırdığını ifade etmişlerdir. Kontrolle karşılaştırıldığında, 0.1 µM MEL uygulanan grubun en yüksek klorofil içeriğine (klorofil a+b) sahip olduğu ve 5-10 µM MEL uygulanan gruplarda klorofil konsantrasyonunun 2 kat azalttığı tespit edilmiştir. Yüksek MEL konsantrasyonlarının (5-10 µM) uygulandığı yapraklarda prolin ve karbohidrat düzeyinin 3-4 kat arttığı belirtilmektedir. Prolin içeriği 0.05, 0.1 ve 1 µM MEL konsantrasyonlarında prolin içeriği önemli oranda azalırken 0.5 µM MEL konsantrasyonunun karbohidrat düzeyinin 1.5 kat arttığı rapor edilmiştir.

Liu ve arkadaşları (2015), sodik alkalin stres koşullarındaki domates bitkileri üzerinde ekzojen MEL uygulamasının reaktif oksijen metabolizmasına etkisini araştırmışlardır. Dışarıdan uygulanan MEL domateste sodik alkalin strese toleransı artırabildiğini belirtmektedirler. Bu çalışmada 0.5  $\mu$ M MEL uygulamasının en uygun doz olduğu, stres altındaki bitkilerde büyümeyi teşvik ettiği, antioksidan enzimlerin aktivitesini indüklediği, AsA ve GSH birikimini arttırdığı rapor edilmiştir.

Kaya ve İnan (2018), kuraklık ve tuz stres koşulları ile karşı karşıya kalan tütün (*Nicotiana tabacum* L. ) bitkisinde ekzojen MEL uygulamasının bazı biyokimyasal ve fizyolojik parametreler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada kontrol grubunda bitkiler NaCl (50 mM) ve PEG (%10) stresleri ayrı ayrı oluşturulmuş farklı bir grupta her iki stres etmeni (50 mM NaCl + % 10 PEG) aynı anda uygulamışlardır. Ayrıca aynı gruplar bir de ekzojen olarak 50  $\mu$ M MEL uygulayarak çalışmışlardır. Strese maruz kalan tütünde klorofil içeriğinin azaldığı, karotenoid, prolin, MDA içerikleri ile APX ve guaiakol peroksidaz aktivitelerinin arttığını tespit etmişlerdir. 50  $\mu$ M MEL uygulanan bitkilerde pigment, prolin ve MDA içerikleri ile enzim aktivitelerinin arttığını belirlemişlerdir. Yapraklara ekzojen uygulanan MEL'in tütünde stres yanıtlarını düzenleyerek kuraklık ve tuzluluğun olumsuz etkileri üzerinde olumlu etkiye neden olduğunu saptamışlardır.

Korkmaz ve arkadaşları (2016), biber fidelerinin soğuk stresine karşı tolerans sağlamasında MEL'in etkilerini araştırmışlardır. Biber fideleri 4 tam gerçek yaprağı olduğunda, 0, 1, 5 ve 25  $\mu$ M MEL ihtiva eden distile suyu bitkilerin yapraklarına püskürtmüşlerdir. Uygulamadan bir gün sonra bitkileri 3 gün soğuk stresine maruz bırakmışlardır. Yapraktan uygulanan MEL'in soğuk stresi şartlarındaki biber fidelerinin gelişimlerini olumlu yönde etkilediği ve soğuk stresine toleranslarının arttığını gözlemişlerdir. MEL dozları kıyaslandığında, 5  $\mu$ M dozunun en etkili doz olduğunu, 5  $\mu$ M MEL uygulanan bitkilerde görsel olarak daha az zarar görmüş olduğunu, fotosentetik aktivite, doku nispi su içeriği ile antioksidan enzim aktivitelerinin arttığını ve lipid peroksidasyonunda da düşüslere neden olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan araştırma sonuçlarına göre, biber fidelerine yapraktan 5  $\mu$ M dozunda MEL uygulanmasının soğuk stresine toleransı arttırmak için sürdürülebilir bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu araştırma 2017-2020 yıllarında Kayısı Araştırma Enstitüsü'ne ait Doku Kültürü Laboratuvarı'nda ve İnönü Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Bitki Fizyolojisi Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Araştırmada kullanılan *M. nigra* eksplantları Kayısı Araştırma Enstitüsü arazisinde bulunan Ülkesel Dut Gen Kaynakları Parseli'ndeki ağaçlardan temin edilmiştir. Karadutun tescilli tek çeşidi Ekşi kara çeşidinden eksplantlar alınmıştır.

#### 3.1 Bitkilerin *In vitro* Koşullarda Çoğaltılması

##### 3.1.1 Alet ve ekipmanların sterilizasyonu

Doku kültürü çalışmaları, bütün aşamaları aseptik şartlarda gerçekleştirilen ve sterilizasyonun çok büyük önem taşıdığı çalışmalardır. Çalışmada polikarbonat gövdeli ve polipropilen kapaklı kültür kapları (Magenta Vessel GA-7) kullanılmıştır. Pens ve bisturiler her kullanımdan önce alüminyum folyoya sarılarak otoklavda sterilize edilerek kullanılmıştır. Çalışmada inokulasyon işlemleri için steril kabin kullanılmıştır.

##### 3.1.2 Eksplantların alınması

Eksplantlar *M. nigra*'nın *in vitro* çoğaltımında uygun vejetasyon dönemini belirlemek için Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında bir yıllık sürgünlerdeki nodal tomurcuklardan alınmıştır. Sürgünlerin uç kısımlarından 5-10 cm uzunluğunda çeliklerden yararlanılmıştır. Çelikler alındıktan sonra saf su içerisine konulup hızla doku kültürü laboratuvarına getirilerek sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

##### 3.1.3 Yüzey sterilizasyonu

Çelikler laboratuvara getirildikten sonra yapraklar kesilerek sürgünden uzaklaştırılmıştır. Çelikler nodyumları içerecek şekilde 2-3 cm boyunda kesilerek mikroçelikler elde edilmiştir. Mikroçeliklerin üst kısmı alt tarafa göre daha kısa bırakılmıştır. Tüm eksplantlar 3 kez saf suda yıkandıktan sonra sterilizasyon aşamalarına steril kabinde

devam edilmiştir. Eksplantlar %3'lük  $\text{CuSO}_4$  çözeltisinde manyetik karıştırıcıda çalkalanarak 20 dk bekletilmiş, daha sonra %70'lik etil alkolde ise 1 dk tutulmuştur. Bu uygulamalardan sonra steril saf su ile çalkalanan eksplantlar %30'luk  $\text{NaOCl}$  ve 5-6 damla Tween 20 içeren çözeltiye alınarak burada 15 dk tutulmuştur. %5 Proclin (ProClin 200, Sigma) içeren suda 5 dk bekletildikten sonra 3'er kez 5 dk olacak şekilde steril saf su ile yıkılarak yüzey sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır.



**Şekil 3.1 :** Sürgünlerin alınması ve sterilizasyona hazırlanması (Orijinal)

#### **3.1.4 Başlangıç kültürü aşaması**

Kültürü başlatma aşamasında, 4.4 g/L vitaminli Murashige ve Skoog (M0222 Duchefa; Çizelge 3.1) 30 g/L sukroz, 7 g/L agar, 0.01 mg/L IBA, 0.2 mg/L  $\text{GA}_3$ , 3 mg/L  $\text{AgNO}_3$ , 0.5 mg/L Proclin içeren besi ortamı kullanılmıştır. Ayrıca BAP'ın tomurcukların sürmesi üzerine etkisini belirlemek için besi ortamına 0.75, 1 ve 3 mg/L konsantrasyonlarında BAP eklenmiştir. Besi ortamlarının pH'sı, 0.1 N HCl ve 0.1 N NaOH kullanılarak 5.75'e ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar, manyetik karıştırıcı üzerinde agar tamamen eriyinceye kadar tutularak kültür kaplarına yaklaşık 15 mL olacak şekilde doldurularak 121 °C'de 1.1 atm basınçta 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Her kapta dört eksplant olacak şekilde dikim yapılmıştır. Dikim sonrası 4 hafta süreyle 25±1°C'de, 16 saat fotoperiyotta 4000 lux floresan lamba altında kültüre alınmıştır. 4 haftalık gelişme periyodu sonunda sürgün çoğaltım aşamasına transfer edilmiştir.

**Çizelge 3.1 : Duchefa M0222 MS besi ortamının içeriği**

<b>Mikro Elementler</b>	<b>mg/l</b>	<b>µM</b>
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.025	0.11
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025	0.10
FeNaEDTA	36.70	100.00
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.20	100.27
KI	0.83	5.00
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	16.90	100.00
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.25	1.03
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.60	29.91
<b>Makro Elementler</b>	<b>mg/l</b>	<b>mM</b>
CaCl <sub>2</sub>	332.02	2.99
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170.00	1.25
KNO <sub>3</sub>	1900.00	18.79
MgSO <sub>4</sub>	180.54	1.50
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650.00	20.61
<b>Vitaminler</b>	<b>mg/l</b>	<b>µM</b>
Glisin	2.00	26.64
Miyoinositol	100.00	554.94
Nikotik asit	0.50	4.06
Piridoksin HCl	0.50	2.43
Tiamin HCl	0.10	0.30

### 3.1.5 Sürgün çoğaltım aşaması

Başlangıç ortamında elde edilen sağlıklı sürgünler ile sürgün çoğaltım aşamasına geçildi. 4.4 g/L vitaminli Murashige ve Skoog (M0222 Duchefa) 30 g/L sukroz, 7 g/L agar, 0.01 mg/L IBA, 0.2 mg/L GA<sub>3</sub>, 3 mg/L AgNO<sub>3</sub>, 0.5 mg/L Proclin içeren besi ortamında sürgünlerin gelişmesi teşvik edilmiştir. Ayrıca sürgün çoğaltımında uygun BAP konsantrasyonunu belirlemek için besi ortamına 0.75, 1 ve 3 mg/L konsantrasyonlarında BAP ilave edilmiştir. Besin ortamlarının pH'sı, 0.1 N HCl ve 0.1 N NaOH kullanılarak 5.75'e ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar kültür kaplarına doldurularak ve 121 °C'de 1.1 atm basınçta 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Sürgünler 4 hafta süreyle 25±1 °C'de, 16 saat fotoperiyotta florasan lamba altında kültüre alınmıştır.

### 3.1.6 Köklendirme aşaması

Köklendirme çalışmaları için 3-6 cm boyundaki sürgünler kullanılmıştır. Köklendirme aşamasında 4.4 g/L vitaminli Murashige ve Skoog (M0222 Duchefa) 30 g/L

sukroz, 7 g/L agar, 3 mg/L AgNO<sub>3</sub>, 0.5 mg/L Proclin içeren besi ortamı kullanılmıştır. Ayrıca besi ortamına köklenmede uygun IBA dozunu belirlemek üzere 0.5, 1.5 ve 2.5 mg/L konsantrasyonlarında IBA eklenmiştir. Besi ortamının pH ayarlaması, sterilizasyonu ve kültür koşulları önceki aşamalarda belirtildiği gibi yapılmıştır. Araştırmada kuraklık stresi *in vitro* ortamda yapılacağı için aklimatizasyon aşaması yapılmamıştır.

### 3.1.7 Kuraklık uygulamalarının yapılması

**Kontrol grubu:** Çalışmamızda kontrol grubu için *in vitro* şartlarda köklendirilen bitkiler sıvı MS ortamına (agarsız) aktarılmıştır. Bitkilerin besin solüsyonu içerisinde tamamen batmaması için kaba filtre kâğıdından yapılan köprüler kullanılmıştır.

**Kontrol + MEL grubu:** Çalışmamızda MEL içeren kontrol grubu için *in vitro* şartlarda köklendirilen bitkiler 20 µM MEL içeren sıvı MS ortamına aktarılmıştır. 24 saat karanlıkta bekletildikten sonra MEL içermeyen sıvı MS ortamına transfer edilmiştir. Bitkilerin besin solüsyonu içerisinde tamamen batmaması için kaba filtre kâğıdından yapılan köprüler kullanılmıştır.

**Kuraklık grubu:** PEG suyu bünyesinde tutan bir polimerdir. Çalışmamızda *in vitro* şartlarda köklendirilen bitkiler PEG içeren sıvı MS ortamına aktarılmıştır. Bitkilerin besin solüsyonu içerisinde tamamen batmaması için kaba filtre kâğıdından yapılan köprüler kullanılmıştır. Sıvı MS ortamına, Michel (1983) tarafından geliştirilen formüle göre -1.5 MPa için 355g/L PEG 8000 ilave edilmiştir.

$$\text{PEG} = [(4 - (5.16 \times \Psi \times T - 560 \times \Psi + 16)^{0.5}) / (2.58 \times T - 280)] \times 1000$$

$$\Psi = -1.5 \text{ MPa}$$

$$T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$$

**Kuraklık + MEL grubu:** Çalışmamızda MEL içeren kuraklık grubu için *in vitro* şartlarda köklendirilen bitkiler 20 µM MEL ve 355g/L PEG 8000 içeren sıvı MS ortamına aktarılmıştır. 24 saat karanlıkta bekletildikten sonra MEL bulunmayan PEG içeren sıvı MS ortamına transfer edilmiştir. Bitkilerin besin solüsyonu içerisinde tamamen batmaması için kaba filtre kâğıdından yapılan köprüler kullanılmıştır.

### 3.1.8 Analiz için örneklerin alınması

Çalışmada kullanılacak yapraklar uygulamaları takip eden 5., 10. ve 15. günlerde toplanmıştır (Şekil 3.2). Her analiz için kullanılacak miktarlar tartılarak etiketlenmiş ve alüminyum folyo ile sarılmıştır. Örnekler sıvı azotta hızlıca dondurularak çalışma yapılmaya kadar -40 °C’de saklanmıştır.

Örneklem Zamanı Grup	5. Gün	10. Gün	15. Gün
Kontrol	4 Örnek	4 Örnek	4 Örnek
Kontrol + Melatonin	4 Örnek	4 Örnek	4 Örnek
Kuraklık	4 Örnek	4 Örnek	4 Örnek
Kuraklık + Melatonin	4 Örnek	4 Örnek	4 Örnek

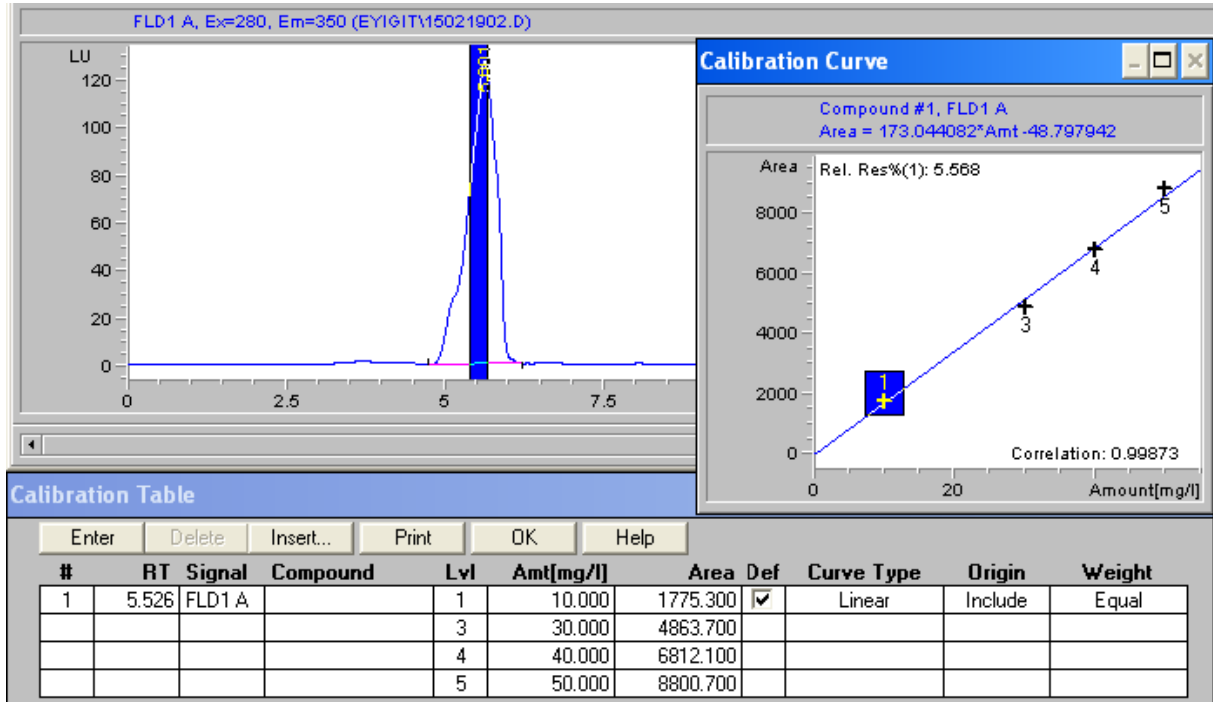
Şekil 3.2 : Deneysel grupların şematik gösterimi

## 3.2 Çalışmada Yapılan Gözlem ve Ölçümler

### 3.2.1 Melatonin ekstraksiyonu ve tayini

MEL içeriğini saptamak için Arnao ve Hernández-Ruiz (2009b) ile Korkmaz vd. (2014)’nin metodları modifiye edilerek kullanılmıştır. MEL uygulamasını takip eden 5., 10. ve 15. günlerde 0.5 g yaprak örneği 3 mL etilasetat ile homojenize edilmiştir. Örnekler 17 saat +4 °C’de soğutmalı çalkalayıcıda tutulmuş ve 6000 g devirde 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınarak 35 °C sıcaklıkta vakumlu evaporatörde (KNF LAB) etilasetat uçurulmuştur. Tüplerin dibinde kristal şeklinde kalan çöküntü 0.5 mL metanol ile çözülerek örnekler viallere alınmıştır (Arnao ve Hernández-Ruiz 2009b; Korkmaz vd. 2014).

Örnekler İnönü Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında HPLC cihazında okutulmuştur. Analizde Agilent 1100 serisi HPLC cihazı Ace 5 C18 250x4,6 nm kolon ile ACE-121-2546 floresans dedektör kullanılmıştır. İzokratik mobil faz olarak 1 mL/dk’lık bir akış hızı ve 20 µL enjeksiyon hacminde su:asetonitril (50:50) kullanılmıştır.



Şekil 3.3 : MEL'in alıkonma zamanı

### 3.2.2 Oransal su içeriği

Oransal su içeriğini (OSİ) (%) belirlemek için 5., 10. ve 15. günlerde bitkilerden alınan yaprak örneklerinin taze ağırlıkları alınmıştır. Daha sonra tartılan yapraklar 4 saat saf suda bekletilmiş, bu zamanın sonunda turgor ağırlıkları saptanmıştır. Ağırlıkları tespit edilen yaprak örnekleri, 70 °C etüvde 48 saat kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları tartılmıştır. Elde edilen taze, turgorlu ve kuru ağırlıklar aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanarak OSİ hesaplanmıştır (Sanchez vd., 2004; Demiral ve Türkan, 2005).

$$\text{OSİ (\%)} = \frac{(YA - KA)}{(TA - KA)} \times 100$$

YA: Taze Ağırlık

KA: Kuru Ağırlık

TA: Turgor Ağırlığı

### 3.2.3 Pigmentlerin ekstraksiyonu ve saflaştırılması

Pigmentlerin ekstraksiyon işlemlerinde De Kok ve Graham (1980) metodu kullanılmıştır. 5., 10. ve 15. günlerde bitkilerden alınan 1'er gr yaprak örnekleri her grup için 3 tekrarlı olmak üzere porselen havanda 50 mL aseton (%100'lük Merck) içerisinde



homojenize edilmiştir. Alüminyum folyo ile sarılarak hazırlanan örnekler erlenler içine alınmış ağzı parafilmle kapatıldıktan sonra çalkalamalı inkübatör ile 30 dk homojenize edilmiştir. Süre bitiminde örnekler +4 °C'ye ayarlı buzdolabında 24 saat bekletilmiştir. Örnekler süzülerek alüminyum folyo ile kaplanmış beherlere alınmıştır. Homojenata 1/5 oranında su eklenip ağzları parafilmle kapatıldıktan sonra çalkalamalı inkübatörde 15 dk tekrar homojenize edilmiş ve +4 °C'ye ayarlı buzdolabında 24 saat bekletilmiştir. Örnekler süre bitiminde 3.000 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örnekler absorbans değerleri Lichtenthaler ve Welburn (1983)'a göre 662, 645, 470 nm'de spektrofotometrede okunarak klorofil a, klorofil b, karotenoid ve toplam klorofil miktarları hesaplanmıştır.

$$Kl\ a=11,75 \times A_{662}-2,35 \times A_{645}$$

$$Kl\ b=18,61 \times A_{645}-3,96 \times A_{662}$$

$$Karotenoid=\frac{1000 \times A_{470}-2,27 \times Kl\ a-81,4 \times Kl\ b}{227}$$

$$Toplam\ klorofil = Kl\ a + Kl\ b$$

### 3.2.4 Enzim analizi için ekstraksiyon

Ekstraksiyon için 0.5 gr yaprak 2,5 mL 0,1 M pH 7,5 Tris-HCl tamponu, 2.5 mL 0.1mM EDTA ve 0.5 mL % 1'lik PVP ile homojenize edilmiştir. Homojenat 4 °C'de 18.000 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant okuma yapılmaya kadar -40 °C derin dondurucuda saklanmıştır (Andrews vd., 2005). Enzim değerleri toplam proteine bölünerek spesifik aktivite cinsinden hesaplanarak verilmiştir.

### 3.2.5 Katalaz aktivitesi tayini

CAT enziminin aktivite tayini Luck (1963) metoduna göre yapılmıştır. 1/15 M pH 7 potasyum fosfat tamponu hazırlanmıştır ve bu tamponun 100 mL'sine 160 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenen fosfat tamponunun 800 µL'sine 200 µL örnek ilave edilmiştir ve spektrofotometrede (Biochrom Libra S22) 240 nm'de okuma yapılarak 1 dakikada elde edilen absorbans değişimi olarak belirlenmiştir (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için molar ekstinksiyon katsayısı 0.0396 cm<sup>2</sup> µmol<sup>-1</sup> dir).

### 3.2.6 Süperoksit dismutaz aktivitesi

SOD aktivite tayini McCord ve Fridovich (1969) metodu kullanılarak yapılmıştır. pH 7.8'lik 50 mM K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> tamponunun 100 mL'sinde 24.8 mg sitokrom-c ile hazırlanmış

çözelti ve 10 mL distile suya 0.76 mg ksantin eklenerek hazırlanan çözelti birbirine karıştırılması ile A çözeltisi hazırlanmıştır. Başka tarafta 0.2 U/ml ksantin oksidaz ihtiva eden B çözeltisi hazırlanmıştır. 900 µL A çözeltisi, 50 µL B çözeltisi ve 100 µL örnek kullanılarak reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrede (Biochrom Libra S22) 550 nm dalga boyunda 1 dakikadaki absorbans değişimi belirlenmiştir.

### **3.2.7 Glutatyon-S-Transferaz tayini**

GST aktivitesi tayini Habig vd. (1974)'nin yöntemine göre yapılmıştır. 0.1 M potasyum fosfat tamponu, 0.01 M Tris HCl (pH 7.4) içerisinde 0.002 M redükte glutatyon ve % 96'lık etanolde 0.15 M CDNB (1-chloro,2-4dinitrobenzen) hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 400 µL 0.1 M potasyum fosfat tamponu, 400 µL redükte glutatyon, 100 µL örnek ve 150 µL CDNB olarak hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrede (Biochrom Libra S22) 344 nm dalga boyunda 1 dakikada elde edilen absorbans değişimi olarak belirlenmiştir (CDNB'nin ekstinksiyon katsayısı  $9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 'dir).

### **3.2.8 Glutatyon redüktaz aktivitesi**

GR aktivitesi Carlberg ve Mannervik (1985)'in 'nin yöntemine göre yapılmıştır. 2 mM EDTA içeren 0.2 M potasyum fosfat tamponu (pH 7), 10 mM Tris-HCL (pH 7) içerisinde 2mM NADPH ve 10 mL distile suda 20mM GSSG hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımı 500 µL 0.2 M potasyum fosfat tamponu, 50 µL 2 mM NADPH, 50 µL 20 mM GSSG, 250 µL distile su ve 150 µL örnek olacak şekilde hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrede (Biochrom Libra S22) 340 nm dalga boyunda 1 dakikada elde edilen absorbans değişimi olarak belirlenmiştir ve NADPH  $6.2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  ekstinksiyon katsayısı ile hesaplanmıştır.

### **3.2.9 Toplam glutatyon içeriği**

Toplam glutatyon içeriği Akerboom ve Sies (1981) metoduna göre belirlenmiştir. Glutatyon içeriğini saptamak üzere 6.3 mM EDTA ihtiva eden 125 mM sodyum difosfat tamponunun millitresinde 23.78 mg DTNB ve 0.248 mg NADPH hazırlanmıştır. 700 µL NADPH ve 100 µL DTNB sıcak su banyosunda 30 °C'de 10-12 dk bekletilmiştir. Süre

sonunda üzerine 150 µL distile su, 5 µL GR ve 50 µL örnek eklenmiştir. Spektrofotometrede (Biochrom Libra S22) 412 nm dalga boyunda 1 dakikalık absorbans değişimi belirlenmiştir.

### **3.2.10 Lipid peroksidasyonu (MDA) Analizi**

Yöntem Heath ve Packer (1968)'a göre yapılmıştır. 0.5 gr yaprak örneği 5 mL % 0.1'lik trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiş ve homojenat 10.000 g'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneğin süpernatant kısmından 2 mL alınarak üzerine 2 mL %0.5'lik tiobarbiturik asit (TBA) ilave edilmiş ve karışım 95 °C'de 30 dk su banyosunda bekletilmiştir. Süre bitiminde örnekler hızla buz banyosunda soğutulmuştur. Daha sonra 10.000 g'de 15 dk santrifüj yapılmıştır. Süpernatantın absorbansı 532 ve 600 nm'de ölçülmüştür. 532 nm'de saptanan ölçümlerden 600 nm'de yapılan ölçümler çıkarılmış ve  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  ekstinksiyon katsayısıyla MDA miktarı hesaplanmıştır.

### **3.2.11 Total fenolik tayini**

Total fenolik tayini Slinkard ve Singleton (1977) ile Chandler ve Dodds (1983) göre yapılmıştır. 0.05 gr yaprak üzerine 2.5 mL etanol eklenerek homojenize edilmiş ve -80 °C'de 24 saat bekletilmiştir. Örnekler süre bitiminde çalkalamalı etüvde 1 gün boyunca bekletilmiştir. Daha sonra 4000 g'de 8 dk santrifüj yapılmıştır. 1 mL süpernatant üzerine 1 mL etanol, 5 mL distile su ve 1 mL folin eklenerek 3 dk çalkalamalı etüvde bırakılmıştır. Karışımın üzerine 3 mL % 2'lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ilave edilerek 2 saat karanlıkta bekletilmiştir. Spektrofotometrede 760 nm'de okuma işlemi yapılmıştır. Yöntem gallik asit solüsyonu ile tekrar yapılarak standart eğri hazırlanmıştır.

### **3.2.12 Peroksidaz aktivitesi tayini**

POD tayininde Peters vd. (1989) ile MacAdam vd. (1992)'nin yöntemleri modifiye edilerek uygulanmıştır. 0.5 gr taze yaprak dokusu 0.5 gr Polivinilpirolidon (PVP), 3 mL 66 mM potasyum tamponu ve 3 mL 100 mM KCl içinde homojenize edilmiştir. Homojenat 10.000 g'de +4 °C'de 10 dk santrifüj edilmiştir. 3 mL 0.1 M potasyum fosfat tamponu (pH 6.0), 0.04 mL 0.03 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve 0.05 mL 0.2 M guaikol vortekslenerek bir solüsyon hazırlanmıştır. 0.9 mL solüsyona 0.1 mL ekstrakt eklenerek 436 nm dalga boyunda 1 dk'daki enzim aktivitesindeki değişim ölçülmüştür (Guaikol'ün ekstinksiyon katsayısı  $26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  'dir).

### 3.2.13 Askorbat peroksidaz aktivitesi tayini

APX tayini Nakano ve Asada (1981) ve akmak (1994)'a göre yapılmıştır. 0,5 gr taze yaprak dokusu 10 mL 50 mM potasyum fosfat tamponunda (pH 7,6) homojenize edilmiştir. Homejenat 15000 g'de +4 Ç'de 20 dk santrifüj edilmiştir. 550  L fosfat tamponu (pH 7,6), 100  L 10 mM EDTA, 12 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 250  L ekstrakt ve 100  L 0.25 mM AsA ilave edilerek hazırlanan reaksiyon karışımının enzim aktivitesi spektrofotometrede (Biochrome Libra S22) 290 nm dalga boyunda 1 dakika içerisinde elde edilen absorbans değişimi olarak belirlenmiştir. APX aktivitesi 2.8 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> ekstinksiyon katsayısıyla hesaplanmıştır.

### 3.2.14 Prolin miktarı tayini

Prolin tayini, Bates vd. (1973)'nin yöntemine göre spektrofotometrik olarak asit-ninhidrin metoduyla yapılmıştır. 0,1 g yaprak dokusuna 10 mL %3'lük sülfosalisilik asit eklenerek porselen havanda homojenizasyonu yapılmıştır. Homojenat 0,45  m çapında analitik filtre kullanılarak suzulmuştur. Süzüntüden 2 mL tüplere alınarak üzerine 2 mL glasiyal asetik asit ve 2 ml asit-ninhidrin ozeltisi eklenmiştir. Daha sonra örnekler 100 C'ye ayarlanmış etüvde 1 saat tutulmuştur. Süre bitiminde buz banyosunda 10 dk bekletilerek her tüpe 4 mL toluen eklenmiş, 20-30 sn vortekslenmiştir. Tüpün üstünde kalan faz pipet yardımıyla alınarak 520 nm dalga boyunda absorbansı olulmuştur. Aynı yöntem prolin kullanılarak tekrar edilmiş ve standart grafik oluşturulmuştur. 520 nm'de okunan değerler standart grafik üzerinden  g/g yaş ağırlık olarak belirlenmiştir.

### 3.2.15 Toplam protein tayini

Toplam protein tayini Bradford (1976) yöntemi kullanılarak saptanmıştır. 1000  L Bradford ayracı üzerine 50  L yapraktan hazırlanan homojenat ilave edilmiştir. 15 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonrasında renk değişimine bağlı olarak meydana gelen absorbans değişimi 595 nm dalga boyunda olulmuştur. OD değerleri, sığır serum albumini (BSA) kullanılarak çizilmiş standart grafik değerleriyle karışılaştırılmıştır. örneklerdeki toplam protein miktarları paket program (Slide) kullanılarak hesaplanmıştır.

### 3.3 İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen verilerin analizleri SPSS (Statistical Program in Social Sciences) 25 programı ile gerçekleştirilmiştir. Test sonuçları için anlamlılık düzeyi (p) 0.05 olarak alınmıştır. Çalışmada verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk Testi ile varyansların homojenliği ise LEVENE testi ile kontrol edilmiştir.

*In vitro* çoğaltım için yapılan analizlerde veriler normal dağılım sağladığı için çok gruplu değişkenlerin analizinde parametrik test yöntemlerinden ANOVA testi kullanılmış ve gruplar arası ikili karşılaştırmalar için Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Tekrarlı gözleme sahip verilerde ise Tekrarlayan ölçümlerde ANOVA analizi yapılmış çoklu karşılaştırmalarda ise LSD Testi kullanılmıştır.

Biyokimyasal ve fizyolojik analizlerde normal dağılıma uygunluk testinden sonra Levene Testi ile varyansların homojenliği test edilerek kullanılacak olan ikili karşılaştırma testi belirlenmiştir. Verilerde varyans homojenliği varsayımı sağlandığı ( $p>0.05$ ) için ikili karşılaştırmalarda Duncan Testi kullanılmıştır ( $p<0.05$ ) (Duncan, 1955).

## 4. BULGULAR

### 4.1 *M. nigra*'nın *In vitro* oğaltım alışmaları

Bu araştırma için rnekler Kayısı Araştırma Enstitüsü arazisinde bulunan lkesel Dut Gen Kaynakları Parselindeki ağaçlardan temin edildi. Eksplantlar laboratuvar koşullarında uygun sterilizasyon işlemlerinden geçirildikten sonra kültüre alındı (şekil 4.1). *M. nigra* bitkisinin nodal eksplantları kullanılarak yapılan *in vitro* oğaltım çalışmasının kültürü başlatma aşamasında, en yüksek sürme oranı %91 ile Haziran ayında alınan 0.75 mg/L BAP uygulamasında, en düşük sürme oranı ise %79.33 ile Ağustos ayında alınan 3 mg/L BAP uygulamasında saptandı. Kontaminasyon oranı, en düşük %8.67 ile Haziran ayında 0.75 mg/L BAP uygulamasında, en yüksek ise %15 ile Ağustos ayında 1 mg/L BAP uygulamasında belirlendi. Sürgün uzunluğu, en az 15.33 mm ile Haziran ve Ağustos aylarında 3 mg/L BAP uygulamasında, en fazla ise 24 mm ile Haziran ayında 0.75 mg/L BAP uygulamasında lld. Sürgün sayısı, en az 1.33 adet ile Haziran, Temmuz ve Ağustos ayında 3 mg/L BAP uygulamasında, en fazla ise 3.67 adet ile Haziran aylarında 0.75 mg/L BAP uygulamasında sayıldı. Nodyum sayısı, en az ortalama 2 adet ile Temmuz ve Ağustos ayında 1 ve 3 mg/L BAP uygulamalarında, en fazla ise ortalama 3.67 adet ile Ağustos ayında 0.75 mg/L BAP uygulamasında bulundu. BAP konsantrasyonundaki değişimler değişkenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Aylara göre değişimler de istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ancak hem BAP konsantrasyonundaki değişimler hem de aylara göre değişimler aynı anda değerlendirildiğinde etkileşim etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (izelge 4.1).

**Çizelge 4.1 : Kültür başlatma sonuçlarının BAP değerlerine göre değişimi**

Gruplar	Aylar	0.75 mg/L BAP	1 mg/L BAP	3 mg/L BAP	BAP (A) p değeri	Aylar (B) p değeri	BAP*Aylar (A*B) p değeri
Sürme Oranı (%)	Haziran	a91.0 ± 1.0a	a88 ± 1b	a85.0 ± 1.0a	0.001*	0.001*	0.134**
	Temmuz	b88.0 ± 2.0a	b85 ± 1b	b79.67 ± 0.58a			
	Ağustos	c84.33 ± 1.15a	c83 ± 2b	c79.33 ± 0.58a			
Kontaminasyon Oranı (%)	Haziran	a8.67 ± 0.58a	a10.33 ± 1.53b	a9.0 ± 1.0ab	0.001*	0.030*	0.080**
	Temmuz	b10.0 ± 1.0a	b14.33 ± 1.53b	b13.67 ± 0.58c			
	Ağustos	c13.33 ± 1.53a	c15.0 ± 2.0b	c13.33 ± 0.58c			
Sürgün Uzunluğu (mm)	Haziran	a24.0 ± 1.0a	a22.0 ± 1.0a	a15.33 ± 0.58b	0.001*	0.001*	0.089**
	Temmuz	b22.33 ± 0.58a	b22.0 ± 1.0b	b16.67 ± 0.58a			
	Ağustos	c21.67 ± 0.58a	c21.67 ± 0.58a	c15.33 ± 0.58a			
Sürgün Sayısı (Sürgün/Eksplant, Adet)	Haziran	a3.67 ± 0.58a	a2.67 ± 0.58a	a1.33 ± 0.58a	0.001*	0.001*	0.932**
	Temmuz	b2.67 ± 0.58a	b2.33 ± 0.58a	a1.33 ± 0.58a			
	Ağustos	c3.0 ± 0.0a	c2.0 ± 0.0a	a1.33 ± 0.58b			
Nodyum Sayısı (Adet)	Haziran	a2.67 ± 0.58a	a2.33 ± 0.58a	a2.33 ± 0.58a	0.001*	0.001*	0.513**
	Temmuz	b3.0 ± 1.0a	a2.33 ± 0.58b	b2.0 ± 1.0a			
	Ağustos	c3.67 ± 0.58a	b2.0 ± 0.0b	b2.0 ± 1.0c			

p değeri; Tekrarlı ölçümlerde ANOVA testi sonucu

\*p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı fark vardır, \*\*p>0.05 istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur

Sol tarafta yer alan harfler aylara göre değişimi gösterirken, sağ tarafta yer alan harfler gruplar arası değişimi göstermektedir.



**Şekil 4.1 : İklim odası genel görünüş (Orijinal)**

Başlangıç ortamında elde edilen sağlıklı sürgünler ile sürgün çoğaltım aşamasına geçildi (Şekil 4.2). Sürgün uzunluğunun BAP değerlerine göre değişimi incelendiğinde alt kültüre alınabilir eksplant oranı en fazla %95.33 ile 0.75 mg/L BAP uygulamasında, en düşük ise %85 ile 3 mg/L BAP uygulamasında saptandı. En yüksek vitrifikasyon oranı %9.67 ile 3 mg/L BAP uygulamasında, en düşük ise %2.33 ile 0.75 mg/L BAP uygulamasında bulundu. Sürgün uzunluğu en yüksek 30.87 mm ile 1 mg/L BAP uygulamasında, en kısa ise 22.6 mm ile 3 mg/L BAP uygulamasında ölçüldü. En fazla

nodyum sayısı ortalama 5.33 adet ile 1 mg/L BAP uygulamasında, en az ise ortalama 2.33 adet ile 3 mg/L BAP uygulamasında sayıldı. BAP konsantrasyonundaki değişimler tüm değişkenlerde istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2** : Sürgün çoğaltımının BAP değerlerine göre değişimi

Gruplar	0.75 mg/L BAP	1 mg/L BAP	3 mg/L BAP
Alt kültüre alınabilir eksplant (%)	a95.33 ± 1.15	a94.33 ± 2.08	b85.00 ± 1.00
Vitrifikasyon oranı (%)	a2.33 ± 0.58	a2.67 ± 0.58	b9.67 ± 0.58
Sürgün uzunluğu (mm)	a27.9 ± 0.26	b30.87 ± 0.91	c22.6 ± 0.36
Nodyum sayısı (Adet)	a3.33 ± 0.58	b5.33 ± 0.58	a2.33 ± 0.58

Harfler satır içindeki değişimleri göstermektedir.



**Şekil 4.2** : *M. nigra* 'da sürgün çoğaltımı (Orijinal)

Köklendirme çalışmaları için 3-6 cm boyundaki sürgünler kullanıldı (Şekil 4.3). Köklendirme sonuçlarının IBA konsantrasyonlarına göre değişimi incelendiğinde en yüksek köklenme oranı %95 ile 1.5 mg/L IBA uygulamasında, en düşük köklenme oranı %87.33 ile 2.5 mg/L IBA uygulamasında saptandı. Kök uzunluğu, en yüksek 66.6 mm ile 1.5 mg/L IBA uygulamasında, en düşük 52.8 mm ile 0.75 mg/L IBA uygulamasında ölçüldü. Sürgün uzunluğu, en fazla 52.5 mm ile 1.5 mg/L IBA uygulamasında, en düşük 34.37 mm ile 2.5 mg/L IBA uygulamasında bulundu. Kök sayısı en fazla 6.67 adet ile 1.5 mg/L IBA uygulamasında, en düşük 4.67 adet ile 2.5 mg/L IBA uygulamasında sayıldı. IBA konsantrasyonundaki değişimler tüm değişkenlerde istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 4.3).



**Çizelge 4.3** : Köklendirme sonuçlarının IBA konsantrasyonlarına göre değişimi

Gruplar	0.75 mg/L IBA	1.5 mg/L IBA	2.5 mg/L IBA
<b>Köklenme oranı (%)</b>	ab92.00 ± 1.00	a95.00 ± 1.00	b87.33 ± 3.06
<b>Kök uzunluğu (mm)</b>	a52.8 ± 1.11	b66.6 ± 1.18	c55.83 ± 0.57
<b>Sürgün uzunluğu (mm)</b>	a34.97 ± 1.00	b52.5 ± 1.50	a34.37 ± 1.27
<b>Kök sayısı (Adet)</b>	ab5.33 ± 0.58	a6.67 ± 0.58	b4.67 ± 0.58

Harfler satır içindeki değişimleri göstermektedir.



**Şekil 4.3** : *M. nigra* 'da köklendirme (Orijinal)

Köklendirilen bitkilerde kuraklık stresini ve kuraklık stresine cevapta MEL'in rolünü test etmek amacı ile farklı deney grupları oluşturuldu (Şekil 4.4). Kontrol grubu için *in vitro* şartlarda köklendirilen bitkiler sıvı MS ortamına (agarsız) transfer edildi. MEL içeren kontrol grubu için *in vitro* şartlarda köklendirilen bitkiler 20 µM MEL içeren sıvı MS ortamına alındı. Karanlıkta bekletilen örnekler 24 saat sonra MEL içermeyen sıvı MS ortamına transfer edildi. Kontrol grubu için 355g/L PEG 8000 içeren sıvı MS ortamına alındı. Kuraklık ve MEL grubu için bitkiler 20 µM MEL ve 355g/L PEG 8000 içeren sıvı MS ortamına alındı. Karanlıkta bekletilen örnekler 24 saat sonra MEL içermeyen fakat PEG içeren sıvı MS ortamına transfer edildi. Uygulamalardan sonra 5., 10. ve 15. günlerde yaprak örnekleri alınarak -40°C'de saklandı.



**Şekil 4.4** : Deneysel gruplar (Orijinal)

## 4.2 Fotosentetik Pigment Miktarı Değişimleri

*M. nigra* yapraklarında yapılan Kl a değişimi incelendiğinde, Kl a değeri en düşük kuraklık uygulanan grupta 5. günde 5.36 µg/g, 10. günde 5.15 µg/g ve 15. günde 3.45 µg/g olarak saptandı. En yüksek Kl a değeri ise 5. günde 9.01 µg/g olarak kontrol grubunda, 10. günde 8.83 µg/g olarak MEL uygulanan kontrol grubunda ve 15. günde 8.94 µg/g olarak kontrol grubunda saptandı. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak Kl a değeri değişimleri incelendiğinde 15. günde Kl a değerinde belirgin bir azalış saptandı. Kl a değerindeki bu azalış istatistiksel olarak da önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 genel olarak değerlendirildiğinde, kuraklık ve MEL uygulanan grubun kuraklık uygulanan gruba göre bitki tarafından verilen cevabı önemli bulundu. İki grup arasında 5. 10. ve 15. günlerde Kl a değeri arttı. Kl a değeri sırasıyla; kuraklık grubunda 5.36, 5.15 ve 3.45 µg/g iken kuraklık ve MEL grubunda 6.8, 5.93 ve 4.93 µg/g olarak belirlendi.

**Çizelge 4.4 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı Kl a miktarlarının değişimi

Gruplar	Kl a (µg/g)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a9.01 ± 0.23a	a8.8 ± 0.41a	a8.94 ± 0.61a
<b>Kontrol+MEL</b>	a8.51 ± 0.25a	a8.83 ± 0.49a	a8.42 ± 0.26a
<b>Kuraklık</b>	b5.36 ± 0.66a	b5.15 ± 0.27a	b3.45 ± 0.19b
<b>Kuraklık+MEL</b>	c6.8 ± 0.13a	c5.93 ± 0.26b	c4.93 ± 0.23c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

*M. nigra* yapraklarında yapılan Kl b değişimi incelendiğinde, Kl b değeri en düşük kuraklık grubunda 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; 1.16, 1.78 ve 1.08 µg/g olarak saptandı. En yüksek Kl b değeri ise MEL uygulanan kontrol grubunda 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; 2.81, 2.64 ve 2.75 µg/g olarak saptandı. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak Kl b değeri değişimleri incelendiğinde 10. günde artış 15. günde ise belirgin bir azalış saptandı. Kl a değerindeki bu azalış istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 değerlendirildiğinde, Kl b değeri kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre arttığı saptandı. 5. 10. ve 15. günlerde Kl b değeri sırasıyla kuraklık grubunda 1.16, 1.78 ve 1.08 µg/g iken kuraklık ve MEL grubunda 1.96, 2.05 ve 1.98 µg/g olarak belirlendi.

**Çizelge 4.5 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı Kl b miktarlarının değişimi

Gruplar	Kl b (µg/g)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a2.47 ± 0.05ac	a2.24 ± 0.04b	a2.30 ± 0.03c
<b>Kontrol+MEL</b>	b2.81 ± 0.03a	a2.64 ± 0.04b	ab2.75 ± 0.02c
<b>Kuraklık</b>	b1.16 ± 0.05ac	b1.78 ± 0.01b	ab1.08 ± 0.03c
<b>Kuraklık+MEL</b>	b1.96 ± 0.01a	c2.05 ± 0.04a	b1.98 ± 0.01a

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

*M. nigra* yapraklarında yapılan toplam klorofil miktarı değişimi incelendiğinde, toplam klorofil miktarı en düşük kuraklık grubunda 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; 6.85, 6.94 ve 4.54 µg/g olarak saptandı. En yüksek toplam klorofil miktarı ise kontrol grubunda 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; 11.43, 11.05 ve 11.28 µg/g olarak saptandı. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak toplam klorofil miktarının değişimleri incelendiğinde 5. ve 10. günlerde en yüksek olduğu saptandı. Kuraklık stresine maruz kalan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam klorofil miktarının düştüğü görülmektedir. Toplam klorofil miktarındaki değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.6).

Toplam klorofil miktarı, 5. ve 10. günlerde MEL uygulanan kontrol grubunda (11.32 ve 10.8 µg/g) MEL uygulanmayanlara göre (11.43 ve 11.05 µg/g) daha düşük belirlendi. Bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Toplam klorofil miktarı kuraklık stresi ile MEL'in birlikte uygulandığı grupta kuraklık stresi uygulanan gruba göre 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; 8.84, 7.96 ve 6.92 µg/g değerleri ile daha yüksek olduğu saptandı. Bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.6 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı toplam klorofil miktarlarının değişimi

Gruplar	Toplam Klorofil ( $\mu\text{g/g}$ )		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a11.43 $\pm$ 0.27a	a11.05 $\pm$ 0.13a	a11.28 $\pm$ 0.21a
<b>Kontrol+MEL</b>	a11.32 $\pm$ 0.37a	a10.8 $\pm$ 0.35a	b11.28 $\pm$ 0.25a
<b>Kuraklık</b>	b6.85 $\pm$ 0.26a	b6.94 $\pm$ 0.25a	ab4.54 $\pm$ 0.23b
<b>Kuraklık+MEL</b>	c8.84 $\pm$ 0.21a	c7.96 $\pm$ 0.14b	ab6.92 $\pm$ 0.23c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

*M. nigra* yapraklarında yapılan karotenoid içeriği değişimi incelendiğinde, karotenoid içeriği en düşük kuraklık stresi ile MEL'in birlikte uygulandığı grupta 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; 1.9, 1.83 ve 1.46  $\mu\text{g/g}$  olarak bulundu. En yüksek karotenoid içeriği ise 5. ve 10. günlerde sırasıyla; 2.44, 2.36  $\mu\text{g/g}$  olarak kontrol grubunda 15. günde ise 2.57  $\mu\text{g/g}$  ile MEL uygulanan kontrol grubunda saptandı. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak karotenoid içeriği değişimleri incelendiğinde 5. günde en yüksek olduğu ve 10. ve 15. günlerde ise azaldığı saptandı. Kuraklık grubunda günler arası karotenoid içeriğindeki azalışlar istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p > 0.05$ ) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 incelendiğinde karotenoid içeriğinin kuraklık ve MEL grubunda kuraklık grubuna göre azaldığı belirlendi. Karotenoid içeriği, 5. 10. ve 15. günlerde kuraklık grubunda 2.06, 1.88 ve 1.56  $\mu\text{g/g}$  iken kuraklık ve MEL grubunda 1.9, 1.83 ve 1.46  $\mu\text{g/g}$  olarak saptandı. Kuraklık ve MEL uygulanan grupta gruplara bağlı değişimler istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $p < 0.05$ ), günlere bağlı değişimler önemli bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Çizelge 4.7 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı karotenoid miktarlarının değişimi

Gruplar	Karotenoid (µg/g)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a2.44 ± 0.02ac	a2.36 ± 0.03b	a2.35 ± 0.04c
<b>Kontrol+MEL</b>	b2.27 ± 0.07a	a2.22 ± 0.03b	ab2.57 ± 0.02c
<b>Kuraklık</b>	b2.06 ± 0.01ac	b1.88 ± 0.02b	ab1.56 ± 0.02c
<b>Kuraklık+MEL</b>	b1.90 ± 0.03a	c1.83 ± 0.03a	b1.46 ± 0.05a

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

### 4.3 Oransal Su İçeriği Değişimi

*M. nigra* yapraklarında OSİ değişimleri incelendiğinde, oransal su içeriği en düşük kuraklık stresi uygulanan grupta 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; %38.78, 34.6 ve 21.11 olarak bulundu. En yüksek OSİ ise MEL uygulanan kontrol grubunda 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; %64.11, 62.69 ve 58.1 olarak saptandı. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak OSİ'deki değişimler incelendiğinde en yüksek OSİ 5. günde, en düşük OSİ ise 15. günde saptandı. OSİ'deki bu azalışlar istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.8).

OSİ, MEL uygulanan kontrol grubunda %64.11, 62.69, 58.1 olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta %63.28, 59.46, 56.73 olarak daha düşük saptandı. Kuraklık stresi ile MEL'in birlikte uygulandığı grup kuraklık stresi uygulanan grup ile karşılaştırıldığında 5. günde (%48.7) ve 15. günde (%33.01) OSİ'nin daha yüksek olduğu saptandı. Bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 değerlendirildiğinde OSİ'nin kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre 5. günde yüksek olduğu 10. günde azaldığı ve 15. günde arttığı saptandı. OSİ, kuraklık grubunda 5. 10. ve 15. günlerde sırasıyla; %38.78, 34.6 ve 21.11 iken kuraklık ve MEL grubunda %48.27, 33.01 ve 33.01 olarak bulundu. Bu değerler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Çizelge 4.8 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı oransal su içeriği değişimi

Gruplar	OSİ (%)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a63.28 ± 0.34a	a59.46 ± 0.85b	a56.73 ± 0.65c
<b>Kontrol+MEL</b>	a64.11 ± 0.68a	b62.69 ± 0.61b	b58.1 ± 0.74c
<b>Kuraklık</b>	b38.78 ± 0.91a	c34.6 ± 0.35b	c21.11 ± 0.69c
<b>Kuraklık+MEL</b>	c48.27 ± 0.51a	d33.01 ± 0.58b	d33.01 ± 0.43bc

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.4 Peroksidaz Aktivitesi Değişimi

*M. nigra* yapraklarında yapılan POD aktivitesi incelendiğinde, en düşük POD aktivitesi MEL uygulanan kontrol grubunda 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 0.11, 0.13 ve 0.13 U/mg protein olarak saptandı. En yüksek POD aktivitesi kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 0.89, 1.59 ve 3.92 U/mg protein olarak belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak POD aktivitesindeki değişimler incelendiğinde genel olarak POD aktivitesinde artış saptandı. POD aktivitesindeki bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.9).

POD aktivitesi, MEL uygulanan kontrol grubunda 0.11, 0.13 ve 0.13 U/mg protein olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta sırasıyla; 0.22, 0.27 ve 0.26 U/mg protein olarak daha yüksek saptandı. Bu değişimler 5. gün için istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 incelendiğinde, POD aktivitesinin kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre arttığı saptandı. POD aktivitesi 5. 10. ve 15. günlerde sırasıyla; kuraklık grubunda 0.6, 1.07 ve 2.04 U/mg protein iken kuraklık ve MEL grubunda 0.89, 1.59 ve 3.92 U/mg protein olarak ölçüldü. Bu değişimler istatistiksel olarak da önemli bulundu ( $p<0.05$ ).

**Çizelge 4.9 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı POD aktivitesi değişimi

Gruplar	POD Aktivitesi (U/mg protein)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a0.22 ± 0.01a	a0.27 ± 0.01a	a0.26 ± 0.01c
<b>Kontrol+MEL</b>	b0.11 ± 0.03a	a0.13 ± 0.01a	a0.13 ± 0.01a
<b>Kuraklık</b>	c0.6 ± 0.07a	b1.07 ± 0.17b	b2.04 ± 0.11c
<b>Kuraklık+ MEL</b>	d0.89 ± 0.03a	c1.59 ± 0.14b	c3.92 ± 0.12c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.5 Askorbat Peroksidaz Aktivitesi Değişimi

*M. nigra* yapraklarında yapılan APX aktivitesi incelendiğinde, en düşük APX aktivitesi 5., 10. günlerde sırası ile 3.98, 4.57 U/mg protein olarak kontrol grubunda ve 15. günde ise 7.61 U/mg protein olarak MEL grubunda saptandı. En yüksek APX aktivitesi ise 5. günde 63.33 U/mg protein ile kuraklık grubunda, 10. ve 15. günde sırası ile 170.43, 317.59 U/mg protein ile kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak APX aktivitesindeki değişimler incelendiğinde genel olarak APX aktivitesinde artış saptandı. APX aktivitesindeki bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 değerlendirildiğinde, APX aktivitesinin kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre 5. günde azaldığı 10. ve 15. günlerde arttığı tespit edildi. APX aktivitesi 5. 10. ve 15. günlerde sırasıyla; kuraklık grubunda 63.33, 97.29 ve 173.07 U/mg protein iken kuraklık ve MEL grubunda 59.43, 170.43 ve 317.59 U/mg protein olarak bulundu. Bu değişimler istatistiksel olarak da önemli bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Çizelge 4.10 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı APX aktivitesi değişimi

Gruplar	APX Aktivitesi (U/mg protein)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a3.98 ± 0.02a	a4.57 ± 0.06b	a8.41 ± 0.22c
<b>Kontrol + MEL</b>	a5.62 ± 0.24a	a5.47 ± 0.27b	a7.61 ± 0.17bc
<b>Kuraklık</b>	b63.33 ± 1.97a	b97.29 ± 0.54b	b173.07 ± 0.43c
<b>Kuraklık+ MEL</b>	c59.43 ± 1.05a	c170.43 ± 0.82b	c317.59 ± 1.2c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.6 Katalaz Aktivitesi Değişimi

*M. nigra* yapraklarında yapılan CAT aktivitesi değişimleri incelendiğinde, en düşük CAT aktivitesi 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 10.41, 8.47 ve 9.28 U/mg protein olarak kontrol grubunda saptandı. En yüksek CAT aktivitesi ise 5. günde 26.84 U/mg protein ile kuraklık grubunda, 10. ve 15. günlerde sırası ile 31.46 ve 54.14 U/mg protein olarak kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak CAT aktivitesindeki değişimler incelendiğinde 10. günde azalış 15. günde artış saptandı. CAT aktivitesindeki bu artış ve azalışlar istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.11).

CAT aktivitesi, MEL uygulanan kontrol grubunda 12.34, 11.78 ve 9.65 U/mg protein olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta 10.41, 8.47 ve 9.28 U/mg protein olarak daha düşük gözlemlendi. Bu değişimler 5. ve 10. günlerde istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 değerlendirildiğinde, CAT aktivitesi kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre 5. günde azaldığı, 10. ve 15. günlerde arttığı saptandı. CAT aktivitesi 5. 10. ve 15. günlerde kuraklık grubunda sırasıyla; 26.84, 22.42 ve 34.43 U/mg protein iken kuraklık ve MEL grubunda 24.17, 31.46 ve 54.14 U/mg protein olarak belirlendi. Bu değişimler istatistiksel olarak da önemli bulundu ( $p<0.05$ ).

**Çizelge 4.11** : *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı CAT aktivitesi değişimi

Gruplar	CAT Aktivitesi (U/mg protein)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a10.41 ± 0.34a	a8.47 ± 0.17b	a9.28 ± 0.31c
<b>Kontrol+MEL</b>	b12.34 ± 0.43a	b11.78 ± 0.23a	a9.65 ± 0.3c
<b>Kuraklık</b>	c26.84 ± 0.39a	c22.42 ± 0.35b	b34.43 ± 0.2c
<b>Kuraklık+MEL</b>	d24.17 ± 0.39a	d31.46 ± 0.14b	c54.14 ± 0.1c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.7 Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Değişimi

*M. nigra* yapraklarında yapılan SOD aktivitesi değişimleri incelendiğinde, en düşük SOD aktivitesi 5. günde 2.48 U/mg protein ile MEL uygulanan kontrol grubunda, 10. ve 15. günde sırasıyla 2.87 ve 0.77 U/mg protein ile kontrol grubunda saptandı. En yüksek SOD



aktivitesi ise 5., 10. ve 15 günlerde sırası ile; 37.64, 52.59 ve 97.06 U/mg protein kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak SOD aktivitesindeki değişimler incelendiğinde genel olarak SOD aktivitesinde artış saptandı. SOD aktivitesindeki bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.12).

SOD içeriği, MEL uygulanan kontrol grubunda 2.48, 4.37 ve 3.73 U/mg protein olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta sırasıyla; 2.85, 2.87 ve 0.77 U/mg protein olarak bulundu. Bu değişimler 15. gün için istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12 incelendiğinde, SOD aktivitesi kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre arttığı belirlendi. SOD aktivitesi 5. 10. ve 15. günlerde kuraklık grubunda sırasıyla; 23.69, 26.3 ve 50.55 U/mg protein iken kuraklık ve MEL grubunda 37.64, 52.59 ve 97.06 U/mg protein olarak belirlendi. Bu değişimler istatistiksel olarak da önemli bulundu ( $p<0.05$ ).

**Çizelge 4.12 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı SOD aktivitesi değişimi

Gruplar	SOD Aktivitesi (U/ mg protein)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a2.85 ± 0.29a	a2.87 ± 0.23ab	a0.77 ± 0.26c
<b>Kontrol+MEL</b>	a2.48 ± 0.65a	a4.37 ± 0.37b	b3.73 ± 0.46ab
<b>Kuraklık</b>	b23.69 ± 1.69a	b26.3 ± 1.03ab	c50.55 ± 0.77c
<b>Kuraklık+MEL</b>	c37.64 ± 1.27a	c52.59 ± 1.99b	d97.06 ± 1.52c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.8 Glutasyon-S-Transferaz Aktivitesi Değişimi

*M. nigra* yapraklarında yapılan GST aktivitesi incelendiğinde, en düşük GST aktivitesi 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 4.1, 3.7 ve 4.08 U/mg protein olarak kontrol grubunda saptandı. En yüksek GST aktivitesi ise 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 22.83, 30.82 ve 66.57 U/mg protein kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak GST aktivitesindeki değişimler incelendiğinde en yüksek değer 10. günde saptandı. GST aktivitesindeki bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.13).

GST aktivitesi, MEL uygulanan kontrol grubunda 5.03, 5.35 ve 4.38 U/mg protein olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta 4.1, 3.7 ve 4.08 U/mg protein olarak daha düşük gözlemlendi. Kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grup (22.83, 30.82 ve 66.57 U/mg protein) kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında (18.08, 30.54 ve 29.65 U/mg protein) GST aktivitesinde 5., 10. ve 15 günlerde artış olduğu saptandı. Günlere bağlı bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.13).

**Çizelge 4.13 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GST aktivitesi değişimi

Gruplar	GST Aktivitesi (U/mg protein)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a4.1 ± 0.35a	a3.7 ± 0.36a	a4.08 ± 0.3a
<b>Kontrol+MEL</b>	b5.03 ± 0.38a	b5.35 ± 0.46a	a4.38 ± 0.35a
<b>Kuraklık</b>	c18.08 ± 0.3a	c30.54 ± 0.5b	b29.65 ± 0.52bc
<b>Kuraklık+MEL</b>	d22.83 ± 0.09a	c30.82 ± 0.17b	c66.57 ± 0.44c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.9 Glutatyon Redüktaz Aktivitesi Değişimi

*M. nigra* yapraklarında GR aktivitesi incelendiğinde, en düşük GR aktivitesi 5. günde 3.63 U/mg protein ile kontrol grubunda, 10. günde 5.14 U/mg protein ile MEL uygulanan kontrol grubunda ve 15. günde 5.75 U/mg protein ile kontrol grubunda saptandı. En yüksek GR aktivitesi ise 5. günde 41.35 U/mg protein ile kuraklık grubunda 10. günde 57.81 U/mg protein ve 15. günde 124.48 U/mg protein olarak kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak GR aktivitesindeki değişimler incelendiğinde genel olarak GR aktivitesinde artış saptandı. GR aktivitesindeki bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.14).

GR aktivitesi, MEL uygulanan kontrol grubunda 8.91, 5.14 ve 7.58 U/mg protein olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta sırasıyla; 3.63, 5.73 ve 5.75 U/mg protein olarak daha düşük gözlemlendi. Bu değişimler 5. ve 15. günlerde istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14 değerlendirildiğinde, GR aktivitesi kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre 5. günde azaldığı, 10. ve 15. günlerde arttığı saptandı. GST aktivitesi 5. 10. ve 15. günlerde kuraklık grubunda sırasıyla; 41.35, 45.04 ve 80.07 U/mg

protein iken kuraklık ve MEL grubunda 36.06, 57.81 ve 124.48 U/mg protein olarak ölçüldü. Bu değişimler istatistiksel olarak da önemli bulundu ( $p<0.05$ ).

**Çizelge 4.14 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GR aktivitesi değişimi

Gruplar	GR Aktivitesi (U/mg protein)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a3.63 ± 0.02a	a5.73 ± 0.08b	a5.75 ± 0.04bc
<b>Kontrol+MEL</b>	b8.91 ± 0.18a	a5.14 ± 0.06b	b7.58 ± 0.04c
<b>Kuraklık</b>	c41.35 ± 0.25a	b45.04 ± 0.74b	c80.07 ± 0.3c
<b>Kuraklık+MEL</b>	d36.06 ± 0.87a	c57.81 ± 0.75b	d124.48 ± 0.32c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p<0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.10 Toplam Glutasyon İçeriği Değişimi

*M. nigra* yapraklarında GSH içeriği incelendiğinde, en düşük GSH içeriği 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 0.3, 0.25 ve 0.26 U/mg protein olarak kontrol grubunda saptandı. En yüksek GSH içeriği ise 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 0.77, 1.05 ve 2.34 U/mg protein olarak kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak GSH içeriği değişimler incelendiğinde genel olarak GSH içeriğinde artış saptandı. GSH içeriğindeki bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.15).

GSH içeriği, 5. ve 10. günlerde MEL uygulanan kontrol grubunda (0.34 ve 0.34 U/mg protein) MEL uygulanmayan gruba (0.3 ve 0.25 U/mg protein) göre daha yüksek belirlendi. Kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı bitkilerde 15. günde GSH içeriği en yüksek (2.34 U/mg protein) bulundu. Bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15 incelendiğinde, GSH içeriği kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre arttığı belirlendi. GSH içeriği 5. 10. ve 15. günlerde kuraklık grubunda sırasıyla; 0.72, 0.76 ve 1.21 U/mg protein iken kuraklık ve MEL grubunda 0.77, 1.05 ve 2.34 U/mg protein olarak ölçüldü. Bu değişimler istatistiksel olarak da önemli bulundu ( $p<0.05$ ).

**Çizelge 4.15 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GSH içeriği değişimi

Gruplar	GSH İçeriği (U/mg protein)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a0.3 ± 0.01a	a0.25 ± 0.01b	a0.26 ± 0.01bc
<b>Kontrol+MEL</b>	b0.34 ± 0.01a	b0.34 ± 0.02a	a0.26 ± 0.03c
<b>Kuraklık</b>	c0.72 ± 0.01a	c0.76 ± 0.04a	b1.21 ± 0.04c
<b>Kuraklık+MEL</b>	d0.77 ± 0.02a	d1.05 ± 0.02b	c2.34 ± 0.01c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.11 Lipid Peroksidasyonu İçeriği Değişimi

*M. nigra* yapraklarında MDA içeriğindeki değişimler incelendiğinde, en düşük MDA içeriği 5. günde 4.39  $\mu\text{mol}$  MDA/g yaş ağırlık ile MEL uygulanan kontrol grubunda, 10. ve 15. günlerde sırası ile; 4.19 ve 4.24  $\mu\text{mol}$  MDA/g yaş ağırlık ile kontrol grubunda saptandı. En yüksek MDA içeriği ise 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 21.18, 26.71 ve 27.75  $\mu\text{mol}$  MDA/g yaş ağırlık olarak kuraklık grubunda belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak MDA içeriği değişimleri incelendiğinde en yüksek MDA içeriğinde 15. günde saptandı. MDA içeriğindeki bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.16).

MDA içeriği, MEL uygulanan kontrol grubunda 4.39, 4.91 ve 5.06  $\mu\text{mol}$  MDA/g yaş ağırlık olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta sırasıyla; 4.86, 4.19 ve 4.24  $\mu\text{mol}$  MDA/g yaş ağırlık olarak belirlendi. Bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmadı ( $p > 0.05$ ) (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16 değerlendirildiğinde, MDA içeriğinin kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre daha az olduğu belirlendi. MDA içeriği 5. 10. ve 15. günlerde kuraklık grubunda sırasıyla; 21.18, 26.71 ve 27.75  $\mu\text{mol}$  MDA/g yaş ağırlık iken kuraklık ve MEL grubunda 18.96, 20.05 ve 23.2  $\mu\text{mol}$  MDA/g yaş ağırlık olarak belirlendi. Günlere ve gruplara bağlı bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Çizelge 4.16 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı MDA içeriği değişimi

Gruplar	MDA İçeriği (µmol MDA/g yaş ağırlık)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a4.86 ± 0.09a	a4.19 ± 0.62a	a4.24 ± 0.09a
<b>Kontrol+MEL</b>	a4.39 ± 0.47a	a4.91 ± 0.5a	a5.06 ± 0.7a
<b>Kuraklık</b>	b21.18 ± 0.59a	b26.71 ± 0.24b	b27.75 ± 0.15c
<b>Kuraklık+MEL</b>	c18.96 ± 0.36a	c20.05 ± 0.39b	c23.2 ± 0.24c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.12 Toplam Fenolik Madde İçeriği Değişimi

*M. nigra* yapraklarında toplam fenolik madde içeriği incelendiğindeki değişimler incelendiğinde, en düşük toplam fenolik madde içeriği 5. günde 2.68 µg/g yaş ağırlık ile kontrol ve MEL uygulanan kontrol grubunda, 10. günde 2.38 µg/g yaş ağırlık ve 15. günde 2.37 µg/g yaş ağırlık ile MEL uygulanan kontrol grubunda saptandı. Toplam fenolik madde içeriği en yüksek 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 8.75, 8.84 ve 13.5 µg/g yaş ağırlık olarak kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta belirlendi (Çizelge 4.17).

Fenolik madde içeriği, MEL uygulanan kontrol grubunda 2.68, 2.38 ve 2.37 µmol µg/g yaş ağırlık olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta 2.68, 2.85 ve 2.75 µmol µg/g yaş ağırlık olarak saptandı. MEL içeren kontrol ve kontrol grubu arasında gruplara ve günlere bağlı toplam fenolik miktarındaki değişim önemli bulunmadı ( $p > 0.05$ ) (Çizelge 4.17).

Çizelge 4. 17 değerlendirildiğinde, fenolik madde içeriği kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grup kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek saptandı. Fenolik madde içeriği kuraklık grubunda 5., 10. ve 15. günlerde sırasıyla; 7.46, 7.9 ve 8.82 µg/g yaş ağırlık iken kuraklık ve MEL grubunda 8.75, 8.84 ve 13.5 µg/g yaş ağırlık olarak ölçüldü. Günlere ve gruplara bağlı bu değişimler istatistiksel olarak da önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.17).

**Çizelge 4.17 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı toplam fenolik miktarındaki değişim

Gruplar	Toplam Fenolik Madde Miktarı (µg/g yaş ağırlık)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a2.68 ± 0.24a	a2.85 ± 0.16a	a2.75 ± 0.07a
<b>Kontrol+MEL</b>	a2.68 ± 0.40a	a2.38 ± 0.28a	a2.37 ± 0.27a
<b>Kuraklık</b>	b7.46 ± 0.43a	b7.9 ± 0.34a	b8.82 ± 0.27b
<b>Kuraklık+MEL</b>	c8.75 ± 0.49a	c8.84 ± 0.31a	c13.5 ± 0.39b

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.13 Prolin Miktarı Değişimi

*M. nigra* yapraklarında prolin miktarındaki değişimler incelendiğinde, en düşük prolin miktarı 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 3.53, 3.47 ve 3.91 µg/g yaş ağırlık olarak kontrol grubunda saptandı. En yüksek prolin miktarı ise 5., 10. ve 15. günlerde sırası ile; 99.89, 110.14 ve 115.11 µg/g yaş ağırlık olarak kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta belirlendi. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak prolin miktarı değişimleri incelendiğinde genel olarak prolin miktarında artış saptandı. Prolin miktarındaki bu artış istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.18).

Prolin miktarı, MEL uygulanan kontrol grubunda 4.92, 4.73 ve 6.81 µg/g yaş ağırlık olarak saptanırken MEL uygulanmayan grupta 3.53, 3.47 ve 3.91 µg/g yaş ağırlık olarak daha düşük gözlemlendi. Bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18 değerlendirildiğinde, prolin miktarı kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre daha yüksek saptandı. Prolin miktarı 5. 10. ve 15. günlerde kuraklık grubunda sırasıyla; 75.99, 91.77 ve 98.25 µg/g yaş ağırlık iken kuraklık ve MEL grubunda 99.89, 110.14 ve 115.11 µg/g yaş ağırlık olarak ölçüldü. Bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Çizelge 4.18 : *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı Prolin miktarındaki değişim**

Gruplar	Prolin Miktarı (µg/g yaş ağırlık)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a3.53 ± 0.18a	a3.47 ± 0.49a	a3.91 ± 0.54a
<b>Kontrol+MEL</b>	b4.92 ± 0.48ac	b4.73 ± 0.36b	b6.81 ± 0.29c
<b>Kuraklık</b>	c75.99 ± 0.58a	c91.77 ± 0.57b	c98.25 ± 0.44c
<b>Kuraklık+MEL</b>	d99.89 ± 0.5a	d110.14 ± 0.22b	d115.11 ± 0.13c

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).

#### 4.14 İçsel Melatonin Miktarı Değişimi

*M. nigra* yapraklarında içsel MEL miktarındaki değişimler incelendiğinde, en düşük içsel MEL miktarı 5.günde 1.66 ng/g yaş ağırlık olarak kontrol grubunda 10. ve 15. günlerde sırasıyla 2.5 ve 1.55 ng/g yaş ağırlık olarak kuraklık grubunda saptandı. En yüksek içsel MEL miktarı ise 5. günde 4.79 ng/g yaş ağırlık olarak MEL uygulanan kontrol grubunda, 10. günde 13.74 ng/g yaş ağırlık olarak kontrol grubunda ve 15. günde 6.97 ng/g yaş ağırlık olarak MEL grubunda bulundu. Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında günlere bağlı olarak içsel MEL miktarı değişimleri incelendiğinde 10. günde en yüksek değere ulaştığı saptandı. İçsel MEL miktarındaki bu artış ve azalışlar istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.19).

İçsel MEL miktarı, 5. ve 15. günlerde MEL uygulanan kontrol grubunda 4.79 ve 6.97 ng/g yaş ağırlık olarak MEL uygulanmayanlara (1.66 ve 3.54 ng/g yaş ağırlık) göre daha yüksek saptandı. Bu değişimler istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19 incelendiğinde, içsel MEL miktarı kuraklık ve MEL uygulanan grupta kuraklık uygulanan gruba göre 5. günde aynı, 10. ve 15. günlerde ise daha yüksek saptandı. İçsel MEL miktarı 5. 10. ve 15. günlerde kuraklık grubunda sırasıyla; 4.03, 2.5 ve 1.55 ng/g yaş ağırlık iken kuraklık ve MEL grubunda 4.03, 4.11 ve 3.84 ng/g yaş ağırlık olarak bulundu. Günlere bağlı değişimler kuraklık grubunda istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ). Gruplara bağlı değişimler 10. ve 15. günler için istatistiksel olarak önemli bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Çizelge 4.19** : *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı içsel MEL miktarındaki değişim

Gruplar	MEL Miktarı (ng/g yaş ağırlık)		
	5. gün	10. gün	15. gün
<b>Kontrol</b>	a1.66 ± 0.18a	a13.74 ± 2.63b	a3.54 ± 0.08a
<b>Kontrol+MEL</b>	b4.79 ± 0.76a	a10.72 ± 0.71b	b6.97 ± 0.23c
<b>Kuraklık</b>	b4.03 ± 0.13a	b2.50 ± 0.04b	b1.55 ± 0.35c
<b>Kuraklık+MEL</b>	b4.03 ± 0.57a	c4.11 ± 0.42a	c3.84 ± 1.04a

Farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı ( $p < 0.05$ ), aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Sağ tarafta yer alan harfler satır içindeki ortalamalar arasındaki karşılaştırmayı sol tarafta yer alan harfler ise sütun içindeki karşılaştırmayı göstermektedir. Her aşama (5., 10. ve 15. günler) kendi içerisinde karşılaştırılmıştır (Duncan Karşılaştırma Testi).



## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kuraklık, toprakta bitkiler tarafından kullanılabilir su miktarının azaldığı ve meteorolojik şartlar yüzünden evaporasyon ya da transpirasyon ile suyun kaybedildiği şartlarda oluşmaktadır (Jaleel vd., 2009). Dünyada etkili olan doğal afetlerin tipik özellikleri ve etki derecelerine göre yapılan değerlendirmede kuraklık, ilk sırada yer almaktadır. Kuraklık, son zamanların en önemli gündem maddesidir (Mengü vd., 2011).

Küresel ısınmanın sebep olduğu iklim değişiklikleri sonucu, kuraklık tarımsal üretimi kısıtlayan en önemli problem olmuştur. Kurak koşullar, hücre bölünmesi ve büyümesini azaltarak bitki gelişimini azaltır. Ayrıca kuraklık esnasında büyüme için bir itici güç olan turgor basıncının azalması, transpirasyonun olumsuz etkilenmesi, mineral madde alınımının düşmesi ve büyüme hızının gerilemesi meydana gelebilir (Kabay, 2018; Kabay, 2019). Bu nedenle kuraklık, tarımsal üretim için en önemli sınırlayıcı faktörler arasındadır (Liu ve Stützel, 2004; Özfıdaner vd., 2018). Bitkilerin su yetersizliği koşullarına adapte olabileceği mekanizmaları anlamak, kuraklıktan kaynaklanan verim kayıplarına çözüm bulmak büyük bir önem arz etmektedir.

Farklı bitki türlerinde yapılan çalışmalar, kontrollü şartlarda PEG'in bitkilerde kuraklık stresinin oluşturulmasında başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir (Rouhi vd., 2004; Zhu vd., 2005; Rouhi vd., 2006; Caruso vd., 2008; Chen vd., 2010; İpek, 2015). PEG, bulunduğu ortamın ozmotik potansiyelini etkilemek sureti ile bitkilerde su alınımı üzerinde önemli etkiye sahiptir. PEG'in ortamda kullanım yoğunluğu, farklı düzeylerde kuraklık stresine neden olmaktadır. Bundan dolayı bu araştırmada kuraklık stresi oluşturmak amacı ile -1.5 MPa'lık bir ortam oluşturulmuştur.

### 5.1 *M. nigra*'nın *In vitro* Çoğaltımı

Doku kültürü çalışmalarında, eksplanta yapılan etkili bir yüzey sterilizasyonu kültürü başlatma aşamasının en önemli aşamasıdır. Genellikle kültürü başlatma aşamasında görülen kontaminasyon, eksplant kararması ve tomurcuk sürmemesi gibi problemler, odunsu türlerin mikroçoğaltımını sınırlayan faktörlerdendir. Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında alınan

eksplantlar aynı sterilizasyon yöntemine tabi tutulmuştur. Haziran ayında başlatılan kültürler, %91 sürme ve %8.67 kontaminasyon oranı ile daha başarılı bulunmuştur. Ağustos ayında en yüksek kontaminasyon oranı %13.33 ile ve en düşük sürme oranı %79.33 ile saptanmıştır (Çizelge 4.1). Bu durum Ağustos ayında karadut ağaçlarında tomurcukların büyüyerek tomurcuk pullarının daha fazla toz tutması ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bu ayda sürgünler tüylerle kaplanarak kalınlaşmıştır. Tüylerin tuttuğu mikroorganizmalar besi ortamında çoğalmaları için uygun koşul bularak hızla çoğalmıştır. Kışın yaprağını döken türlerin yeşil çelikleri için en iyi sonuçlar genellikle, çeliklerin mümkün olduğu kadar erken alınmasıyla elde edilir. Ancak bu sırada yapraklar tam bütünlüğünü almış ve sürgünler bir dereceye kadar olgunlaşmış olmalıdır. Birçok elma çeşitlerinde yeşil çeliklerin köklenmesi üzerinde yapılan araştırmalarda köklenmeyi uyarıcı kimyasal maddelerin optimum etkilerinde, çelik yaşının bir ay artmasıyla bile azalma olduğu bulunmuştur. En iyi sonuç, çeliklerin Mayıs ayında, sürgünler 10-17 cm boyunda iken alınmaları halinde elde edilmiştir (Hartman ve Kester, 1975)

Kültürü başlatma aşamasında, MS besi ortamı kullanılarak farklı BAP konsantrasyonlarında yapılan denemeler ile 0.75 mg/L BAP, 0.01 mg/L IBA ve 0.2 mg/L GA<sub>3</sub>'ün, tomurcukların sürmesinde etkili olan dozlar olduğu saptandı. Ortamda kullanılan 0.75 mg/L BAP'ın sürme oranı, sürgün uzunluğu, sürgün sayısı ve nodyum sayısı ile önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.1). BAP konsantrasyonunun artması sürgünlerin daha kısa olmasına neden olurken yaprak alanını artırdığı gözlenmiştir. En kısa sürgünler 3 mg/L BAP içeren besi ortamında çoğaltılan eksplantlarda ölçülmüştür. Benzer olarak *M. alba*'nın nodal tomurcukları ile yapılan bir araştırmada, besi ortamında BAP konsantrasyonu arttıkça sürgün uzunluğunda azalma olduğu bildirilmiştir (Balakrishnan vd., 2009). Farklı dut genotiplerinden (*Morus* spp.) alınan nodal eksplantların sürme oranı, en yüksek M-5 genotipinde %83 ile 1 mg/L BAP ve 1 mg/L NAA dozlarını içeren MS besi ortamında bulunmuştur. En düşük sürme oranı ise %56 ile Mysore genotipinde 0.5 mg/L BAP ve 1 mg/L NAA dozlarını içeren ortamda bulunmuştur. Tomurcukların sürme oranının genotipik farklılığa ve bitki büyüme düzenleyicilerin konsantrasyonuna bağlı olduğu bildirilmektedir (Ahalya vd., 2020). Yaptığımız araştırmada bu sonuçları desteklemektedir.

*M. nigra*'da sürgün çoğaltımı için MS besi ortamına 1 mg/L BAP, 0.01 mg/L IBA, 0.2 mg/L GA<sub>3</sub> eklenmesinin en uygun dozlar olduğu saptanmıştır. Besi ortamına eklenen BAP konsantrasyonunun artması vitrifikasyon oranını artırmıştır. En yüksek vitrifikasyon oranı %9.67, en düşük sürgün uzunluğu 22.6 mm ve en düşük nodyum sayısı ortalama 2.33

adet ile 3 mg/L BAP uygulamasında bulunmuştur. Sürgün çoğaltımı için uygun konsantrasyonun en uzun sürgün uzunluğu (30.87 mm ) ve en fazla nodyum sayısı (ortalama 5.3 adet) ile 1 mg/L BAP olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Gogoi vd. (2017) *M. indica*'nın çoğaltımında nodal eksplant kullanmışlardır. Bu çalışmada, sürgün çoğaltımı için MS besi yerine 0.5, 1, 1.5, 2 ve 2.5 mg/L BAP eklenmiştir. Bizim çalışmamıza benzer olarak BAP konsantrasyonunun artması ile sürgün uzunluğunda azalma olduğu rapor edilmiştir. En uzun sürgün 2 cm ile 0.5 mg/L BAP dozunda, en kısa sürgün ise 1.2 cm ile 2.5 mg/L BAP ilavesinde saptanmıştır. İnternodyum sayısı en fazla 4.2 adet ile 1.5 mg/L BAP konsantrasyonunda, en az ise 3.3 adet ile 2.5 mg/L BAP konsantrasyonunda bulunmuştur (Gogoi vd., 2017). *M. nigra* bitkisinin mikroçoğaltımının araştırıldığı bir çalışmada 0.5 mg/L ve 1.5 mg/L dozlarında BAP kullandıkları ortamlardan elde ettikleri sürgün proliferasyon oranlarını sırası ile %80 ve %90 olarak belirlenmiştir (Zaki vd., 2011). Odunsu bitkilerin *in vitro* koşullardaki çoğaltımında BAP konsantrasyonunun yanı sıra bitkilerin besi ortamına tutunmasını sağlayan agar gibi jel yapıcı maddeler de vitrifikasyona neden olabilmektedir. Nodyum sayısı değişimi, en yüksek 1 mg/L BAP grubunda ortalama 5.33 adet olup, en düşük ise 3 mg/L BAP grubunda ortalama 2.33 adet ölçülmüştür (Çizelge 4.2). *M. nigra*'da sürgün proliferasyonunun araştırıldığı başka bir çalışmada en iyi sonuç MS besi ortamına eklenen 0.5 mg/L BAP ve 0.1 mg/L IBA kombinasyonunda olduğu; Mn1 genotipinde 5.3 adet/sürgün ve Mn2 genotipinde 6.9 adet/sürgün elde ettiklerini bildirilmiştir (Đurkovič vd., 2012). Benzer olarak *M. nigra*'nın doku kültürü ile çoğaltımının araştırıldığı bir çalışmada, MS besi ortamına 5 mg/L kinetin ilavesi ile eksplant başına en fazla sürgün 4.1 adet saptanmıştır (Yıldız ve Yılmaz, 1999). Kalkışım ve arkadaşları (2013), *M. nigra*'nın çoğaltımı için MS besi ortamına 1.0 ve 2.0 mg/L BAP eklenmesinin rejenerasyonu, sürgün sayısını, sürgün uzunluğunu ve yaprak sayısını artırdığını bildirmişlerdir. Çeşitli dut türleri ile yapılan çalışmalarda sürgün gelişimi ve çoğaltımı için diğer sitokininlerle karşılaştırıldığında BAP'ın daha etkili olduğu belirlenmiştir (Yadav vd., 1990; Pattnaik ve Chand 1997). Bununla birlikte yüksek BAP konsantrasyonu sürgün çoğaltımını engellediği, düşük konsantrasyonlarda daha başarılı sonuçların elde edildiği belirtilmektedir (Tabachnik ve Kester 1977; Rugini ve Verma 1983; Bhau ve Wakhlu 2003; Channuntapipat vd., 2003). *M. nigra*'nın sürgün ucu ve koltuk tomurcuğu eksplantlarında en iyi sürgün gelişiminin, 1 mg/L BAP uygulamasında elde edildiğini belirtmektedir (Yadav vd., 1990). Myrobolan anacının mikroçoğaltımında 1 mg/L BAP içeren MS besi ortamı kullanılmıştır. Sürgün sayısı 5.25 adet/ bitki, sürgün boyu 2.25 cm ölçülmüştür (Dagman, 2019). *M. nigra*

bitkisinde sürgün çoğaltımı için elde ettiğimiz sonuçlar mevcut araştırmalar ile paralellik göstermektedir.

*In vitro*'da bitkicikler 3-4 haftada köklenmişlerdir. En iyi köklenme oranı, %95 köklenme ile 1.5 mg/L IBA uygulamasında tespit edilmiştir. Bu konsantrasyonda sürgün uzunluğu, kök sayısı ve kök uzunluğu parametreleri de önemli bulunmuştur. Kök uzunluğu değişiminde en düşük değer 52.8 mm ile 0.75 mg/L IBA grubunda olup, en yüksek değer 66.6 mm ile 1.5 mg/L IBA grubunda ölçülmüştür. Sürgün uzunluğu değişiminde en yüksek değer 52.5 mm ile 1.5 mg/L IBA grubunda olup, en düşük değer ise 34.37 mm ile 2.5 mg/L IBA grubunda ölçülmüştür. Kök sayısı/sürgün değişiminde en düşük değer, 2.5 mg/L IBA grubunda 4.67 adet iken en yüksek değer 1.5 mg/L IBA grubunda 6.67 adet olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.3). Urnu dutunun (*M.nigra*) çoğaltımında, %84 köklenme oranı ile 1 mg/L IBA'nın köklenme için en uygun doz olduğu bildirilmiştir (Özkul, 2014). *Morus alba* L. için uygun bir protokolün geliştirilmesinin amaçlandığı bir çalışmada, en yüksek köklenme MS ortamında 0.5 mg/L IBA ile elde edilmiştir (Habib vd., 2003). *M. nigra*'nın *in vitro* ortamda köklendirme çalışmalarında MS besisi ortamına eklenen 0.5 mg/L IBA ile %29.6 başarı sağlarken 1 mg/L IBA'da oran %25'e düşmüştür. Uygulamada 0.5 mg/L IBA'nın kullanıldığı grupta, 3.8 adet kök sayısı, 67.2 mm kök uzunluğu ve 24.8 mm sürgün uzunluğu ile daha başarılı sonuç alındığı belirtilmiştir (Şengül, 2012). *Prunus domestica*'nın köklendirilmesinde, IBA konsantrasyonunun kök sayısı üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada; 0.3 mg/L IBA uygulamasında 1.25 adet, 1 mg/L IBA uygulamasında, 2.5 adet ve 2 mg/L IBA uygulamasında 2 adet olarak sayılmıştır (Gökdere, 2019).

Bu araştırmada, *M. nigra*'nın *in vitro* ortamda çoğaltımında eksplant olarak nodal tomurcukların kullanılması, eksplantların alınması için Haziran ayının uygun olduğu, kültür başlatma için 0.75 mg/L BAP, sürgün çoğaltımı için 1 mg/L BAP ve köklenme için 1.5 mg/L IBA konsantrasyonlarının uygun olduğu belirlenmiştir. Doku kültüründe nodal eksplanttan bu mikroçoğaltım protokolü kullanılarak 20-25 haftada tam bir bitki elde edilmiştir.

## **5.2 *M. nigra*'da Büyüme Kriterleri Üzerine Kuraklık Stresinin Etkileri**

Doku kültüründe yetiştirilen *M. nigra* bitkisine *in vitro* koşullarda -1.5 MPa'lık kuraklık stresi uygulanmıştır. Ayrıca, MEL'in strese cevapta rolünü aydınlatmak için de kontrol ve stres gruplarına ayrıca 20 µM MEL uygulaması yapılmıştır.

Farklı stres tipleri ile ilgili yapılan araştırmalarda, pigment sisteminin stres faktörlerine göre önemli değişimler gösterdiği saptanmıştır. Örneğin; kuraklık stresinin biber genotiplerindeki Kl a, Kl b, toplam klorofil içeriklerinde meydana getirdiği değişimlerin incelendiği bir araştırmada, kuraklığa toleransı olan genotiplerde kuraklığa hassas olan genotiplere göre daha fazla değişim saptanmıştır. Stres koşullarında, Kl a miktarlarındaki en az düşüş %12'lik bir değişimle Gölpınar genotipinde, en fazla ise %52'lik bir kayıpla İnan 3363 çeşidinde olduğu rapor edilmiştir. Kl b içeriğinde ise en az etkilenen %22'lik kayıpla Gölpınar genotipi olurken en çok etkilenen %41'lik kayıpla Osmanbey genotipi olduğu ifade edilmiştir. Toplam klorofil içeriğinin değişim oranının %18.79 ile %38.81 arasında olduğu bildirilmiştir (Yaban ve Kabay, 2019). Bir başka araştırmada, kuraklık stresi koşullarında iki buğday çeşidinde; sürgün gelişim kriterleri, yaprak alanı, yaprak sayısı, sürgünlerin yaş ve kuru ağırlıkları, yaprak oransal su içeriğinde kademeli düşüşlerin olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, her iki çeşidin kök ile sürgünlerinde Kl a, Kl b ve toplam klorofil, polisakkarit değerleri, toplam şeker, bazı element içerikleri (fosfor, potasyum, magnezyum ve kalsiyum) ve CAT aktivitesinde önemli azalışlar tespit etmişlerdir (Abdalla ve El-Khoshiban, 2007). Yapılan bir araştırmada, PEG 6000'e bağlı şiddetli ve orta şiddetli kuraklık stresi koşullarındaki domates (cv Nikita) bitkilerinde de kuraklık uygulamasıyla beraber, Kl a ve Kl b miktarında anlamlı bir düşüş başlamış, stresin şiddetlenmesi ile bu düşüşün daha da arttığı rapor edilmiştir. Toplam klorofil miktarı ve klorofil a/b oranı da kuraklıktan etkilenerek azaldığı saptanmıştır (Zgalli vd., 2006). Santos (2004), bitkilerde klorofil içeriğindeki azalmanın klorofil biyosentezinin azalmasından ya da klorofil yıkımının artmasından kaynaklanabileceğini bildirmiştir. Yine yapılan bir araştırmada, pendimetalinin ve kuraklık stresinin uygulandığı biberlerde (*Capsicum annuum*) karotenoid miktarı ve toplam klorofil içeriğinin azaldığını rapor etmişlerdir. Bu araştırmada, 50 µM MEL uygulanan bitkilerde, MEL uygulanmayan bitkilere göre klorofil ve karotenoid içeriklerinin arttığını saptamışlardır (Kaya ve Doğanlar, 2019). Farklı bir araştırmada kuraklık stresi koşullarında *Carya cathayensis* (Çin hickory) bitkilerine MEL uygulamasının fenilpropanoid, klorofil ve karotenoid biyosentezi ile karbon fiksasyonu gibi metabolik yolları düzenlediğini saptanmıştır (Sharma vd., 2020). Farklı bir araştırmada ise; kuraklık ve tuzluluk stresine maruz kalan tütünde (*Nicotiana tabacum* L.) klorofil içeriğinin azaldığını, karotenoid içeriğinin arttığını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte MEL uygulanan bitkilerde pigment ve karotenoid içeriklerinin arttığını rapor etmişlerdir (Kaya ve İnan, 2018).

Araştırmamızda kuraklık stresi uyguladığımız *M. nigra* yapraklarında Kl a değişimi incelendiğinde, tüm günlerde kontrole göre daha düşük miktarda olduğu saptanmıştır. Kuraklık grubunda en düşük Kl a değeri 3.45 µg/g olarak 15. günde belirlenirken, en yüksek Kl a değeri 5.36 µg/g olarak 5. günde saptanmıştır. MEL uygulanan gruplarda ise Kl a miktarında sadece kuraklık uygulanan gruplara göre belirgin bir artış vardır. Kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta en düşük Kl a değeri 4.93 µg/g olarak 15. günde, en yüksek ise 6.8 µg/g olarak 5. günde belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Kuraklık ve MEL grubu, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında Kl a miktarının en fazla 15. günde 1.43 kat arttığı saptanmıştır.

Aynı bitki grubunda Kl b değişimi incelendiğinde, kuraklık uygulanan gruplarda kontrole göre tüm günlerde Kl b değeri düşük miktarda olduğu saptanmıştır. Kuraklık grubunda en düşük Kl b değeri 1.08 µg/g olarak 15. günde belirlenirken, en yüksek Kl b değeri 1.78 µg/g olarak 10. günde saptanmıştır. Bitkilere MEL uygulanmasının, kuraklık ve kontrol gruplarında Kl b değerini değerini artırdığı saptanmıştır. Kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta, en düşük Kl b değeri 1.96 µg/g olarak 5. günde, en yüksek ise 2.05 µg/g olarak 10. günde belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Kuraklık ve MEL uygulaması değerlendirildiğinde, kuraklık grubuna göre Kl b miktarının 5. günde 1.6 kat, 10. günde 1.2 kat ve en fazla 15. günde 1.8 kat arttığı saptanmıştır.

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında toplam klorofil içeriği değerlendirildiğinde, kontrole kıyasla uygulama süresince daha düşük miktarda olduğu saptanmıştır. Kuraklık grubunda en düşük toplam klorofil içeriği 4.54 µg/g olarak 15. günde belirlenirken, en yüksek toplam klorofil içeriği 6.94 µg/g olarak 10. günde saptanmıştır. Bitkilere kuraklık ve MEL'in birlikte uygulanması, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında toplam klorofil içeriği daha yüksek bulunmuştur. Kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta en düşük klorofil içeriği 6.92 µg/g olarak 15. günde en yüksek ise 8.84 µg/g olarak 5. günde belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Kuraklık ve MEL grubu kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında toplam klorofil miktarının en fazla 15. günde 1.5 kat arttığı saptanmıştır.

Günlere bağlı bu değişim, kuraklık stresinin *M. nigra*'da pigment sistemi üzerine olumsuz etkisinin olduğunu göstermektedir. MEL ve kuraklığın birlikte uygulandığı grupta Kl b miktarındaki artış MEL'in koruyucu etkisi olabileceğini düşündürmektedir (Çizelge 4.4, 4.5, 4.6).

*M. nigra* yapraklarında karotenoid içeriğindeki değişimler incelendiğinde, kuraklık uygulanan gruplarda kontrolden daha düşük çıkmıştır. Kuraklık grubunda en düşük karotenoid içeriği 1.56 µg/g olarak 15. günde belirlenirken, en yüksek karotenoid içeriği 2.06 µg/g olarak 10. günde saptandı. Kontrol grubunda MEL uygulamasının 15. gününde karotenoid içeriği diğer günlere göre artış göstererek 2.57 µg/g olarak belirlenmiştir. Kuraklık grubunda bitkilere MEL uygulanması, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında karotenoid içeriği daha düşük miktarda bulunmuştur. Kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta en düşük karotenoid içeriği 1.46 µg/g olarak 15. günde, en yüksek ise 1.9 µg/g olarak 5. günde belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karotenoid içeriği en fazla 15. günde 1.1 kat artmıştır. Kuraklık ve MEL grubu kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında karotenoid içeriğinde artış saptanmamıştır.

Fracheboud vd. (2004) kuraklığın etkisi ile klorofil ve karotenoid içeriğinde düşüş olabileceğini belirtmişlerdir. Bunun da nedeninin karbon değişimi oranı ile yakından ilgili olduğu bildirilmiştir. Smirnoff (1993) tarafından kuraklığın fotosentezin engellenmesinde, ışık yakalama kompleksinin kullanımı arasındaki uyumsuzluk nedeni ile oksidatif stresi tetiklediği rapor edilmiştir. Araştırmamızdaki bulgularımız, bu sonuçlar ile uyumlu olup PEG uygulaması ile PEG ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı gruplarda karotenoid içeriğinde belirgin azalış gözlenmiştir (Çizelge 4.7).

Tuzluluk stresine maruz kalan dut genotiplerinde (*Morus alba* L.), karotenoid ve toplam klorofil içeriğinin tuzluluk ile önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (Agastian vd., 2000). Guha vd. (2010) tarafından yapılan araştırmada dört dut çeşidinde (*Morus indica* L. cvs.V-1, MR-2, S-36 ve K-2), kuraklığa tolerans bakımından yapılan değerlendirmede, çeşitler arasında karotenoid miktarının farklı şekilde etkilendiği bildirilmiştir. V-1 çeşidinin yaprak ekstraktlarında karotenoid miktarı daha yüksek bulunmuşken K-2 ve S-36 çeşitlerinde bu metabolitlerin birikiminin minimum olduğunu saptamışlardır. Literatürde de belirtildiği gibi kuraklık stresi koşullarındaki *M. nigra* bitkilerinde karotenoid içeriğinde görülen azalışın genotipik farklılıktan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bulgularımız ile paralellik göstermektedir (Çizelge 4.7).

Yüksek MEL içeriğine sahip olan bitkilerde ya da dışarıdan MEL uygulanmış bitkilerde klorofil miktarının yüksek olduğu, klorofil kaybının yavaşladığı ya da engellendiği daha önceki çalışmalar sonucu ortaya konmuştur. Örneğin, daha fazla MEL üretmek amacıyla genetik olarak değiştirilmiş pirinç fidelerinin düşük sıcaklıkta (12 °C)

normal fidelere kıyasla çok daha fazla klorofil içerdikleri belirtilmiştir (Kang vd., 2010). Yine dışarıdan 1 mM MEL uygulanmış arpa fidelerinde klorofil kaybının azaldığı ve dolayısıyla da senesensin yavaşladığı saptanmıştır (Arnao ve Hernandez-Ruiz, 2009a). Kuraklık stresi koşullarındaki *M. nigra* bitkilerine MEL uygulamasının klorofil içeriklerini yükselttiği görülmüş ve bu sonuç yukarıda bahsedilen önceki araştırmaların sonuçları ile uyumludur. Bulgularımıza dayanarak MEL'in pigment sistemi üzerinde koruyucu rolü olduğunu söyleyebiliriz.

Literatür araştırmalarımızda, birçok araştırmacı tarafından uygulanan kuraklık stresinde, patlıcan, domates, biber, bakla, soya fasülyesi, erik, mısır ve karpuzda klorofil miktarlarının azaldığının rapor edildiği görülmüştür (Kırnak, 2002; Zgalli vd. 2005; Zgalli 2006; El-Tayeb, 2006; Ohashi vd., 2006; Köşkeröglü, 2006; Özmen, 2009; Karipçin, 2009; Altunlu, 2011; İpek, 2015; Kaya ve Doğanlar 2019, Yaban ve Kabay, 2019).

Devamlı solma noktasında, toprağın su potansiyeli ortalama olarak -1,5 MPa'dır. Topraktaki su potansiyeli daimi solma noktasına geldiğinde (-1,5 MPa) yaprakların su potansiyeli kökün ve toprağın su potansiyelinden daha düşüktür. Toprakta yeterli su bulunmaz ve bitki transpirasyon ile su kaybetmeye devam ederken tolerans mekanizmalarını çalıştıramazsa su stresi başlar. Yani bitki su alamaz ve solmaya başlar. Bu, uzun süre devam ederse bitki kuruyarak ölür. Toprakta su çok azaldığında, toprak kolloidlerinde daha fazla çekildiğinden, köklerin emme gücü kolloidlerin emme gücünü yenemez ve su alımı olmaz. Böylece yaprak ve köklerde daimi solma noktasında, solma gerçekleşmiş olur (Kocaçalışkan, 2008).

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında, oransal su içeriğinin kontrole kıyasla uygulama süresince düşüş gösterdiği saptanmıştır. Kuraklık grubunda en düşük oransal su içeriği %21.11 olarak 15. günde belirlenirken, en yüksek oransal su içeriği ise %38.78 olarak 5. günde saptanmıştır. Kuraklık grubunda günler arasında oransal su içeriğinde anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Kontrol grubunda MEL uygulanan grupta, oransal su içeriği kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Kuraklık grubunda bitkilere MEL uygulanması, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında oransal su içeriği 5. günde %48.27 ile en yüksek bulunmuştur. Oransal su içeriği 10. günde belirgin bir düşüş göstermiş ve 15. günde bu içeriği korumuştur. Kuraklık ve MEL uygulaması değerlendirildiğinde, kuraklık grubuna göre oransal su içeriğinin 5. günde 1.2 kat ve 15. günde ise 1.6 kat arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.8).



Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* bitkilerinin yapraklarındaki oransal su içeriğinde oluşan azalma, MEL uygulamasıyla önemli oranda kuraklık uygulanan gruba göre daha yüksek bulunmuştur. Kuraklığa maruz bırakılan *M. nigra*'da, MEL'in kısmen su içeriğinin korunmasında etkili olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.8).

Kaya ve Doğanlar (2019) tarafından, pendimetalinin ve kuraklık stresine maruz bıraktıkları biberlere (*Capsicum annuum*) eksojen MEL uygulaması yapılmıştır. PEG uygulanan biberlerde bağıl su içeriğinin azaldığı, MEL uygulamasının bitkilerde bağıl su içeriğini artırdığı rapor edilmiştir. Cui ve ark. (2017) tarafından kuraklık stresi koşullarındaki buğday filizlerine eksojen MEL uygulamasının su dengesini düzenlediği ve bitki hücrelerinde turgoru koruduğu bildirilmiştir. Jahan vd. (2020) tarafından yapılan araştırmada 14 günlük Nikel stresli domates fidelerinin oransal su içeriği kontrol fidelerine kıyasla %30.8 oranında azaldığı saptanmıştır. Bitkilere MEL uygulamasının, Nikel stresli bitkilere göre oransal su içeriğini %28.8 oranında artırdığı rapor edilmiştir. Korkmaz vd. (2016) tarafından soğuk stresinin biber fidelerinin yapraklarında oransal su içeriğinin azalmasına neden olduğu bitkilere MEL uygulamasının oransal su içeriğini artırdığı bildirilmiştir. Araştırmamızın bulgularına göre de MEL kuraklık stresi koşullarındaki *M.nigra*'da oransal su içeriğini kuraklık grubuna göre artırmıştır (Çizelge 4.8).

Yaprak su içeriği, bitki yapraklarının su dengesini sürdürme kabiliyetini yansıtmaktadır. Bitkilerin yapraklarındaki oransal su içeriği toprak nemi azaldıkça azalır (Chen vd., 2012; Marshall vd., 2000). Çeşitli stres koşullarının farklı bitkilerde yaprak oransal su içeriğini azalttığı ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Choluj vd., 2004; Türkan vd., 2005; Shen vd., 2010; Denaxa vd., 2012; Kaya ve Yiğit, 2014; Pıtır, 2015; Hozman, 2016; Devenci ve Tuğrul, 2017; Yıldız, 2018).

### **5.3 *M. nigra*'da Oksidatif Sistem Üzerine Kuraklık Stresinin Etkileri**

Atomlar, bir çekirdek ve etrafında değişik sayıda elektronlara sahiptir. Elektronlar orbitallerde enerji seviyelerine uygun, belirli bir düzende yerleşmiş olarak hareket ederler. Her orbitalde zıt spinli iki elektron vardır. Bu halleri ile elektronlar stabil durumdadır. Eşlenmemiş elektronlar atom ya da molekülün kimyasal reaktifliğini artırır; daha aktif, kısa ömürlü, kararsız ve daha az stabil durumda olmasını sağlar (Halliwell, 1984).

Serbest radikaller, dış yörüngesinde eşleşmemiş elektrona sahip moleküllerdir. Hücre içinde yüksek miktarlarda serbest radikal bulunması lipid peroksidasyonuna ve DNA

hasarına neden olur. Organizmalarda serbest radikal reaksiyonları antioksidan sistemler ile denetlenir. ROT ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengenin bozulmasına oksidatif stres denir (He vd., 2017).

Bitkilerin antioksidan sistemleri, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemi içerir (Bozin vd., 2008; Cheng vd., 2018; Soares vd., 2018). Enzimatik olmayan antioksidan sistem; glutasyon, askorbik asit, fenoller, flavonoidler gibi bazı sekonder metabolitleri içerir (Mittler, 2017; Carvalho vd., 2018). Enzimatik antioksidan sistem, bitkileri oksidatif hasardan korumak için ROT süpürücü görevi gören SOD, POD, CAT, APX ve GR'yi içerir (Fang ve Xiong 2015; Helaly vd., 2017). Kuraklığa toleranslı bitkiler, kuraklık stresi koşullarında ROT'ların dinamik dengesini korumalarını sağlayan daha güçlü bir antioksidan sistemine sahiptir (Pang vd. 2013).

Kuraklık stresi sırasında antioksidan enzimlerin aktivitelerinin ve antioksidan seviyesinin, bitki türleri arasında hatta aynı türdeki iki çeşit arasında oldukça değişken olduğu rapor edilmiştir (Reddy vd., 2004).

POD, hem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin uzaklaştırılmasında hem de büyüme ve gelişme ile ilgili bazı süreçlerde de rol oynamaktadır (Dionisio-Sese ve Tobita, 1998). POD, hidrojen akseptörü olarak oksijeni kullanan, substrattan hidrojen ayrılması reaksiyonlarını katalizleyen enzimdir. Ürün genellikle ya H<sub>2</sub>O ya da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'dir (Türkan, 2002). Kuraklık stresi koşullarında POD aktivitesindeki artışın bitkinin kuraklık toleransı ile bağlantılı olduğu ve yüksek POD aktivitesinin kuraklık stresine toleransa yardımcı olacağı belirtilmiştir (Gillham ve Dodge, 1987; Sairam ve Saxena, 2000).

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında POD aktivitesinde tüm günlerde kontrol grubuna göre artış belirlenmiştir. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında 5. ve 10. günlerde 1.5 kat, en fazla 15. günde 1.9 kat arttığı saptanmıştır. Bitkilere MEL uygulanması POD aktivitesini kontrol grubunda azaltırken stres grubunda artırmıştır. MEL'in kullanıldığı stres grubunda günlere bağlı olarak POD aktivitesindeki artış MEL'in bitki savunmasında etkili olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.9)

Cunhua vd. (2010), kazayağı bitkisinde POD enzim aktivitesinin en yüksek değere tolere edilebilir kuraklık uygulamasında ulaştığını, su stresinin en şiddetli olduğu uygulamada ise 15. günden itibaren POD aktivitesinde azalmalar olduğunu tespit etmişlerdir.

İpek (2015), kuraklık stresine maruz kalan Garnem ve Myrobolan 29C anaçlarında POD enzim aktivitesini araştırmıştır. Garnem anacında POD aktivitesinin stres süresince arttığını, Myrobolan 29C anacında ise 11. güne kadar enzim aktivitesi artış gösterirken 11. günden sonra azalmaya başladığını bildirmektedir. Bu çalışmaların dışında, kuraklık stresi ile ilgili yürütülen araştırmalarda Li-Ping vd., (2006) mısırdaki, Cunhua vd., (2010) kazayağı bitkisinde, Patel vd., (2011) nohutta, Bolat vd., (2014) elma ve armutta POD aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. *M. nigra* bitkisinden elde ettiğimiz sonuçlar, bu araştırmacıların buldukları sonuçlar ile paraleldir. MEL'in su stresine maruz kalan *M. nigra*'da POD aktivitesini artırdığı görülmektedir (Çizelge 4.9). Bu da MEL'in ROT savunmasında önemli bir rolü olduğunu göstermektedir.

APX, elektron donörü olarak askorbatı kullanarak stres süresince kloroplast ve sitozolde üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin H<sub>2</sub>O dönüşümünü sağlayan AsA-GSH döngüsünün kilit enzimidir (Karuppanapandian vd., 2011; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Bir araştırmada *in vitro*'da yetiştirilen iki muz (*Musa cavendishii*) çeşidine (Berangan ve Mas) %40 PEG uygulanarak kuraklık stresi oluşturulmuştur. Stresli bitkilerde yapılan analizler sonucu, bitkilerin membran stabilitesi ve SOD aktivitesinde azalma saptarken CAT, APX, MDA ve GR aktivitelerinde kuraklığın ilerleyen aşamalarında artış olduğunu rapor etmişlerdir (Chai vd., 2005). Asmada (*Vitis vinifera*) White Seedless ve Khoshnav üzüm çeşitlerinde yürütülen bir araştırmada, kuraklık stresinden bitkileri korumak için üç farklı AsA uygulaması yapılmıştır. Araştırma sonucuna göre, kuraklık uygulaması süresince, MDA ve protein miktarlarının ayrıca APX aktivitesinin en yüksek değerlere ulaştığı bildirilmiştir (Zonouri vd., 2014),.

Çelik vd. (2017), iki farklı ticari domates (*Lycopersicon esculentum*) çeşidinde 7 günlük kuraklık stresi uygulamasının oksidatif strese neden olduğunu ve birçok metabolik yolu etkilediğini tespit etmişlerdir. Ayrıca stres koşullarının MDA, SOD, CAT ve APX gibi antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı saptamışlardır.

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında APX aktivitesinde tüm günlerde kontrol grubuna göre artış belirlenmiştir. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında 10. ve 15. günlerde 1.8 kat arttığı saptanmıştır. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5. günde 1.4 kat ve 10. günde 1.2 kat artarken, 15. günde 0.9 kat azaldığı bulunmuştur (Çizelge 4.10). APX aktivitesinde gözlenen bu artış MEL'in kuraklık stresine karşı bitki savunmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Birçok araştırmacı tarafından yapılan araştırmalar sonucu kuraklık stresi koşullarında; tütün, avdar, yonca, turunçgil, hıyar, nohut, bodur kiraz, mandarin, mürdümük, muz, mısırdada; tuzluluk stresi koşullarında eltik ve turunçgilde; ağır metal stresi koşullarında da su sümbülü, domates, buğday ve siyah mercimekte APX aktivitesinde artışların olduğu bildirilmiştir (Arbona vd., 2003; Badawi vd., 2004; Chai vd., 2005; Nayyar vd., 2006; Zlatev vd., 2006; Khan vd., 2007; Cervilla vd., 2007; Singh vd., 2008; Perez-Clemente vd., 2012; Hasanuzzaman vd., 2014; Malar vd., 2014; Fan vd., 2014; Ren vd., 2016; Hasanuzzaman vd., 2017; Zandalinas vd., 2017; Neves vd., 2018; Pan vd., 2018; Zhang ve Shi, 2018). Çalışmamız kapsamında APX aktivitesine yönelik elde edilen sonuçlarımız, diğer araştırmacıların bulguları ile de desteklenmektedir (izelge 4.10).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, SOD aracılığıyla ya da kendiliğinden meydana gelmektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CAT ve APX enzimleri ile H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub> dönüşmektedir (El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Yapılan bir araştırmada, NaCl stresine maruz bırakılan dut (*Morus alba* L.) fidanlarının yapraklarında SOD ve CAT aktivitesinin arttığı, O<sub>2</sub><sup>-</sup> birikimi gözlenmediği rapor edilmiştir (Huihui vd., 2020).

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında CAT aktivitesinin tüm günlerde kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında 10. günde 1.4 kat ve en fazla 15. günde 1.6 kat arttığı saptanmıştır. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5. günde 1.2 kat ve 10. günde 1.4 kat artış göstermiştir (izelge 4.11). Bu da daha önce belirttiğimiz gibi, MEL'in strese karşı cevapta önemli rolü olduğunu göstermektedir.

Dutta (Reddy vd., 2004), muzda (Chai vd., 2005), domateste (Ünyayar ve eki 2005), mısırdada (Moussa ve Abdel-Aziz, 2008), erikte (İpek, 2015), biberde (Yaban ve Kabay, 2019) yapılan benzer çalışmalarda da kuraklık stresi koşullarında CAT enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızın sonuçları da mevcut çalışmalarla benzerlik göstermektedir (izelge 4.11).

Zhao vd. (2011) yaptıkları bir araştırmada, kuraklık stresi koşullarında domatesin (*Lycopersicum esculentum*) köklerine 0,1 µM MEL uygulamasının CAT, SOD, POD enzim aktivitelerini ve AsA seviyesini arttırdığını rapor etmişlerdir. Bunun nedeni olarak; membranlardaki zararın indirgenmesi ve dolayısı ile kuraklığa karşı toleransın artması gösterilmiştir. Bulgularımız bu araştırmacıların yaptıkları çalışmayı desteklemektedir

(Çizelge 4.11). Bu araştırmada da MEL'in kuraklığa karşı toleransın artmasında önemli etkiye sahip olduğu görülmüştür.

SOD,  $O_2^-$  radikalinin bir dismutasyon reaksiyonu ile  $H_2O_2$  ve moleküler  $O_2$ 'i dönüştüren tepkimeyi katalizlemektedir. Stres koşullarında meydana gelen oksidatif hasarlara bağlı olarak SOD enziminin hem hücrel zararları hem de koruyucu yanıtları indüklediği ve stres esnasında aktivitesinde değişimler olduğu bildirilmektedir (Karuppanapandian vd., 2011). SOD'un; oksidatif stres süresince bitkilerin antioksidan savunma mekanizmasında görev aldığı ve bitkilerinde strese yanıt olarak bu enzimin aktivitesini artırdığı bildirilmektedir (Jacoby vd., 2010; Ozgur vd., 2014).

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında SOD aktivitesinin tüm günlerde kontrol grubuna göre yüksek çıkmıştır. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında 10. günde 2 kat ve 15. günde 1.9 kat arttığı saptanmıştır. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 10. günde 1.5 kat ve 15. günde 4.9 kat artış göstermiştir (Çizelge 4.12). Burada da MEL'in yine strese karşı bitki savunmasında önemli bir cevap oluşturduğu görülmektedir.

MEL stres altındaki bitkilerde,  $O_2^-$  oluşumunu sınırlayarak iç mitokondriyal zardan elektron sızıntısını azalttığı, elektron taşıma zincirini uyardığı rapor edilmiştir (Reiter vd., 2001). Ayrıca MEL'in POD, GR, CAT ve SOD enzimlerinin aktivitelerini artırdığı belirtilmiştir (Cardinali ve Pevet, 1998; Allegra vd., 2003; Teixeira vd., 2003; Rodriguez vd., 2004; Reiter vd., 2007). *M. nigra* bitkisine kuraklık stresi koşullarında MEL uygulanması POD, GR, CAT ve SOD enzim aktivitelerini artırmıştır. Bulgularımıza göre de MEL stres sırasında genellikle antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırarak stresin zararlı etkilerine karşı bitkiyi savunmada önemli bir rol üstlendiği gösterilmiştir.

Xu (2010), yüksek sıcaklık stresi koşullarında büyütülen hıyar bitkilerine dışarıdan uygulanan MEL'in, serbest radikallerin miktarında azalmaya neden olurken; SOD, CAT, POD enzimlerinin aktivitelerini artırdığını rapor etmiştir.

Bitki GST'leri, değişik stresler nedeni ile oluşan ROT'ları detoksifiye eder. GST'ler GSH'nın desteği ile peroksitleri indirgeyebilmekte, sitotoksik ve genotoksik etki yapan bileşiklerin radikal süpürücülerini meydana getirebilmektedir (Gill ve Tuteja, 2010).

Kuraklık stresinin *M. nigra* yapraklarında kontrol grubuna göre GST aktivitesini 5., 10. ve 15. günlerde artırdığı saptanmıştır. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında GST aktivitesinde en fazla artış 15. günde 2,2

kat olarak bulunmuştur. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5. günde 1.2 kat ve 10. günde 1.4 kat artış göstermiştir. Bitkilere MEL uygulamasının hem kontrol hem de kuraklık gruplarında enzim aktivitesini artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.13). Özellikle 15. günde MEL uygulanan grupta görülen artış MEL'in savunmada önemli bir cevap oluşturduğunu göstermektedir.

GR, NADPH'a bağımlı bir enzimdir. Katalitik döngüsü iki aşamadan meydana gelir. Birincisi NADPH'yı indirgeyerek NADP<sup>+</sup>'ye dönüştürdüğü yarı reaksiyon aşaması ve ikincisi GSSG'yi indirgeyerek GSH'a dönüştürdüğü aktif aşamadır (Trivedi vd., 2013).

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında GR aktivitesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm günlerde yüksek çıkmıştır. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında 5. günde 0.8 kat azalış, 10. günde 1.3 kat ve 15. günde 1.6 kat artış saptanmıştır. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5. günde 2.5 kat ve 15. günde 1.4 kat artış göstermiştir (Çizelge 4.14). MEL'in strese cevaptaki önemli rolü GR aktivitesinde de görülmektedir.

Kaya ve Doğanlar (2019), pendimetalinin ve kuraklık stresine maruz bırakılan biberlerde (*Capsicum annuum*) prolin, GSH, endojen MEL ve MDA içeriğinin, APX, GST, GR aktivitelerinin arttığını rapor etmişlerdir. MEL ile uygulanan bitkilerde MDA içeriği MEL uygulanmayanlara göre azalırken; prolin, GSH ve endojen MEL içerikleri ile mRNA seviyesinin yanı sıra antioksidan enzimlerin (APX, GST ve GR) aktivitelerinin arttığını saptamışlardır. Araştırma sonuçlarına göre, hem Pend hem de PEG'in biber üzerinde bazı fitotoksik tepkiler yarattığını ve çoklu stres uygulamasının bu yanıtları uyardığını belirtmektedirler. Ekzojen MEL uygulaması, biberin antioksidan savunma yanıtlarını artırarak, herbisit ve kuraklık streslerinin olumsuz etkilerini hafiflettiğini bildirmektedirler. MEL uygulanan bitkilerde prolin, GSH içerikleri, APX, GST ve GR aktivitelerinin artması *M. nigra*'da elde ettiğimiz bulgularımızla paralellik göstermektedir (Çizelge 4.10, 4.13, 4.14, 4.15, 4.18). Bulgularımıza dayanarak MEL'in bitki savunmasında önemli rolü olduğunu söyleyebiliriz.

Farklı araştırmacılar farklı stres koşullarında; buğday, mısır, dut, biber, çim, *Arabidopsis thaliana*, domates, bamya, kavak ve çeltik bitkilerinde yürüttükleri araştırmalarda GR aktivitesinin arttığını saptamışlardır (Sairam ve Saxena, 2000; Leon vd., 2002; Jung, 2004; Skorzynska-Polit vd., 2004; Reddy vd., 2004; Ünyayar ve Çekiç, 2005; Cervilla vd., 2007; Shehab vd., 2010; Kuşvuran vd., 2012; Shi vd., 2012; Hasanuzzaman

vd., 2014; Yu vd., 2017; Kaya ve Doğanlar, 2019; Haskırlı, 2019). Gerek kuraklık gerekse kuraklık ve MEL uygulanan gruplarda gözlenen GR artışı araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir.

Guha vd. (2010) tarafından yapılan araştırmada dört dut çeşidinde (*Morus indica* L. cv V-1, MR-2, S-36 ve K-2), kuraklığa tolerans açısından yapılan değerlendirmelerde V-1 çeşidinin yaprak ekstraktlarında karotenoid, AsA, GSH, a-tokoferol ve prolin konsantrasyonları daha yüksek gözleendiği, K-2 ve S-36 çeşitlerinde bu metabolitlerin birikiminin minimum olduğu rapor edilmektedir. K-2, S-36 ve MR-2'de endojen  $\alpha$ -tokoferol kaybı ve daha yüksek lipid peroksidasyonu ile karşılaşırken, V-1'de su eksikliği koşulları altında lipid peroksidasyonunun en az olduğu bildirilmiştir. Araştırmamızda kuraklık stresi koşullarında *M. nigra* bitkisinde de benzer olarak GSH ve prolin içeriğinin arttığı arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.15, 4.18).

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında GSH içeriği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm günlerde yüksek olarak saptanmıştır. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında 10. günde 1.4 kat ve en fazla 15. günde 1.9 kat arttığı bulunmuştur. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GSH içeriğinde gruplar arasında fark bulunmamıştır (Çizelge 4.15). Kuraklık uygulanan gruplardaki GSH içeriği yükselişi, dolaylı olarak GST ve GR aktivitelerinde artışa katkıda bulunmuştur. MEL uygulamasına bağlı GSH artışı, MEL'in savunmadaki rolünün önemli olduğunu ortaya koymuştur.

Lipid membranlarının serbest radikal kaynaklı peroksidasyonu, hücresele düzeyde stres kaynaklı hasarın hem yansıması hem de ölçümüdür (Jain vd. 2001). Bir ROT olarak, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bitki membran lipidleri, proteinleri ve DNA'sına farklı derecelerde hasar verir (Foyer ve Noctor, 2009; Ju vd., 2018; Zhang vd., 2018) MDA, membran lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve birikimi bitki hücrelerinin yüksek düzeyde lipit peroksitlere sahip olduğu anlamına gelir (Zhao ve Tan, 2005; Upadhyaya vd., 2006; Liu vd., 2014b; Ju vd., 2018). MDA içeriği ölçülerek bitki direnci değerlendirilebilir (Gao vd. 2020). Membran lipid peroksidasyonu, membranların geçirgenliğini kırarak iyon sızıntısına neden olur (Chai vd., 2011). *Achillea* türleri (Gharibi vd., 2016), *Vitis vinifera* L. (Ju vd., 2018), *Amaranthus tricolor* L. (Sarker ve Oba, 2018), *Scutellaria baicalensis* Georgi (Cheng vd., 2018) ve *Cucumis sativus* L. (Nie vd., 2018)'nin kuraklık stresi altında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA içerikleri arttırdığı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir.

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında MDA içeriği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5., 10. ve 15. günlerde arttığı saptanmıştır. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında en fazla 5. günde 0.9 kat, 10. ve 15. günlerde ise 0.8 kat azaldığı bulunmuştur. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA içeriğinde gruplar arasında fark bulunmamıştır (Çizelge 4.16).

Kuraklık stresi altında asma, tütün, muz, buğday, maş fasulyesi, kavak, kahve, yonca, tütün, şifene, misvak ağacı, çavdar, mürdümük, biber, mısır, turunçgil, erik, nohut ve çim gibi farklı bitkilerde; tuz stresi ve sıcaklık stresi altında çeltik, lahana domates, mısır gibi bitkilerde MDA miktarlarında artışların olduğu rapor edilmiştir (Chai vd., 2005; Cai vd., 2005; Filippou vd., 2011; Patel vd., 2011; Kumar-Patel vd., 2011; Shi vd., 2012; Filek vd., 2012; Zonouri vd., 2014; Carrasco ve Pinto, 2014; Hasanuzzaman vd., 2014; İpek, 2015; Dutta vd., 2016; Cai Xiong vd., 2016; Yu vd., 2017; Anjum vd., 2017; Su vd., 2017; Soengas vd., 2018; Shakir vd., 2018; Rangani vd., 2018; Pan vd., 2018; Kaya ve İnan, 2018). Yaptığımız araştırmanın bulgularına dayanarak, kuraklık stresinin MDA içeriğini artırdığı, MEL ve kuraklık stresinin aynı anda uygulanmasının MDA içeriğini azalttığı ve MEL'in membran lipid peroksidasyonunu kısmen önlediği saptanmıştır. Burada da yine MEL'in membran lipid peroksidasyonunu azaltması nedeni ile bitki savunmasına önemli bir katkı sağladığı görülmektedir.

Jahan vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, nikel stresi koşullarındaki domates bitkilerine yapılan MEL uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerini artırdığını bildirmişlerdir. Stresli bitkiye MEL uygulamasının, AsA-GSH havuzlarını modüle ederek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile SOD üretimini kısıtladığı, sekonder metabolitlerin (fenoller, flavonoidler ve antosiyanin) içeriklerini artırdığı ve daha az MDA birikimi sağladığı rapor edilmiştir. Kuraklık stresi ve MEL'in birlikte uygulandığı *M. nigra* bitkileri kuraklık stresi koşullarındaki bitkiler ile karşılaştırıldığında toplam fenolik madde içeriğinde artış, MDA içeriğinde ise azalış saptanmıştır. Bundan başka bitkilerde MEL'in güçlü antioksidan özellikleri olduğu ve yüksek antioksidan koruma sağlayabildiği ile ilgili birçok veri vardır (Manchester vd., 2000; Terrón vd., 2001; Reiter ve Tan, 2002; Reiter vd., 2005; Maldonado vd., 2007). Bulgularımızda bu sonuçları desteklemektedir (Çizelge 4.16).

Wei vd. (2018) MEL uygulamasının, oksidatif stresli elma yaprağında antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırmanın yanı sıra membran hasarı ve lipid peroksidasyon kaybını geciktirerek oksidatif stresin zararlı etkisini azalttığını bildirmektedirler. Campos vd. (2019) tarafından, MEL uygulamasının (300 µM), su stresi altındaki kahve bitkilerinde enzimatik



ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivitesini yükselttiği, lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir. Sharma vd. (2020) tarafından yapılan araştırmada, Çin hickory bitkilerine MEL uygulamasının kuraklık stresine karşı toleransın artmasına neden olduğu ve antioksidan savunma enzimlerinin (SOD, CAT, APX ve POD) aktivitelerini artırdığı rapor edilmiştir. Xia vd. (2020) tarafından yapılan araştırmada, kuraklık stresi altında büyütülen fidelere MEL uygulaması yapılması askorbik asit-glutatyon (AsA-GSH) döngüsünün, karotenoid biyosentezinin ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinin geliştirilmesine neden olduğu bildirilmektedir. Araştırmadaki sonuçlarımız da, MEL ile antioksidan sistem arasında dinamik bir ilişki olduğunu ve farklı olumsuz çevresel koşullara toleransın geliştirilmesinde önemli bir katkı sağladığını göstermektedir.

Hormon sinyallerinin sekonder metabolitlerin düzenlenmesinde de rol oynadığı saptanmıştır. Flavonoidler, fenolikler ve antosiyaninler, antioksidan kapasitenin artmasına neden olarak bitkilerde stresin zararlı etkilerinden korunmasına katkıda bulunan bitkiye ait doğal ürünlerdir. Sekonder metabolitlerin serbest radikallerin üretimini kısıtlayabildiği ve ROT seviyesini azaltabildiğini ortaya koyan araştırmalar mevcuttur. Flavonoidler ve fenolik asitler, sadece serbest radikallerin temizleyicileri olarak işlev görmez, aynı zamanda Fenton reaksiyonu ile ROT üreten metallerin şelatlaştırılmasında da rol oynar (Zhang vd., 2016).

Dutta vd. (2016) tarafından kuraklık stresine karşı tolerans seviyeleri farklı iki maş fasülyesi genotipi arasında yürütülen bir araştırmada, stres süresince fenolik madde miktarında artış olduğu, fakat bu artışın toleranslı genotipte daha fazla olduğu rapor edilmiştir. Benzer olarak mısırdaki yapılan bir araştırmada, fenolik madde miktarının strese bağlı olarak artış gösterdiği ve bu artışın toleranslı genotipte daha fazla olduğu bildirilmiştir (Anjum vd., 2017).

Su stresi altında, flavonoid ve toplam fenol ne kadar yüksekse bitkinin fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları kuraklığa o kadar adapte olabilir. Gao vd. (2020) tarafından yapılan araştırmada, kuraklık stresine maruz kalan iki süs bitkisinin (*Adonis amurensis* ve *A. pseudoamurensis*) flavonoid ve toplam fenol içeriği önemli ölçüde arttığı bildirilmektedir. Araştırmacılar, *A. amurensis* ve *A. pseudoamurensis*'in çözünür protein ve çözünür şeker içeriğini sırasıyla 10. ve 20. günde maksimuma ulaştığı, ardından azaldığını saptamıştır. Bu durum bitkilerin çözünür şeker ve prolin birikimi yoluyla kuraklık stresinin neden olduğu hasarı hafiflettiği şeklinde yorumlanmıştır. Li vd. (2015) tarafından sürekli su kıtlığının, bitkilerin fizyolojik fonksiyonlarını ciddi şekilde etkilediği, bitkilerin yapısını tahrip ettiği, proteinlerin ve şekerlerin sentezini etkilediği rapor edilmiştir.

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında toplam fenolik madde içeriği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm günlerde arttığı saptanmıştır. Kuraklık ve MEL'in aynı zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında 5. günde 1.2 kat, 10. günde 1.1 kat ve en fazla 15. günde 1.5 kat artış göstermiştir. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam fenolik madde içeriğinde gruplar arasında fark bulunmamıştır (Çizelge 4.17).

Fenoller, oksidatif stresin azaltılmasında önemli bir rol oynamaktadır (Wang vd., 2011; Okunlola vd., 2017). *Achillea* türleri (Gharibi vd., 2016), *Gapsicum* türleri (Okunlola vd. 2017), *Citrus* türleri (Dos Santos vd., 2017) ve *Chrysanthemum morifolium* L. (Hodaei vd., 2018) ile yapılan araştırmada, bitkilerin toprak neminin azalması ile flavonoidler ve fenollerin artabileceği gösterilmiştir. Araştırmacılar tarafından kuraklık stresi altındaki bitkilerde yüksek fenol ve flavonoid seviyelerinin, bitkilerin kuraklık ortamına uyum sağlamasına katkı sağladığı belirtilmiştir (Liu vd., 2011). Bulgularımıza göre de *M. nigra*'da kuraklık stresi koşullarında toplam fenolik madde içeriği artmıştır. Bitkilere MEL uygulaması stres koşullarında fenolik birikimini artırarak stresin zararlarından bitkiyi korumuştur. Toplam fenolik madde içeriğinde 15. günde belirgin bir artış olmuştur. Artan strese paralel MEL'in fenolik madde içeriğini artırarak olumlu bir cevap oluşturduğu düşünülmektedir.

Prolin, antioksidan aktiviteye sahip olan redoks dengesini koruyarak hücre homeostazisini artıran önemli bir aminoasittir. Böylece lipid peroksidasyonunu azaltır. Ayrıca prolin, stres kaynaklı cevap genlerinin ekspresyonunu indükler ve antioksidan enzimleri aktive eder (Magdy vd., 2017).

Bitkilerin kuraklık stresine ilk fizyolojik tepkisi, ozmotik ayarlama ve stoma kapanmasıdır. Prolin, bitki hücrelerinin su potansiyelini azaltarak bitkilerin normal fizyolojik işlevlerini yerine getirmelerini sağlamak için doku nemini koruyabilen önemli osmotik düzenleyicidir (Hoque vd. 2007). Bitkiler prolin biriktirerek doku içindeki nemi korur, aynı zamanda ortamdan suyun emilmesini sağlar, hücrelerin normal fizyolojik ve biyokimyasal aktivitelerini sürdürür. Kuraklık stresi koşullarında yapılan çalışmalar, bitkilerin stresin zararlarından kendilerini korumak için prolin, çözünür şeker ve çözünür protein biriktirdiklerini göstermiştir (Cheng vd., 2018; Ju vd., 2018; Sarker ve Oba, 2018).

Kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* yapraklarında toplam prolin miktarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında stres süresince arttığı saptanmıştır. Kuraklık ve MEL'in aynı

zamanda uygulandığı grup, kuraklık grubu ile karşılaştırıldığında 5. günde 1.3 kat, 10. ve 15. günlerde ise 1.2 kat artış bulunmuştur. Kontrol ve MEL grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5. ve 10. günlerde 1.4 kat, 15. günde ise 1.7 kat arttığı görülmüştür (Çizelge 4.18). Bitkilere MEL uygulamasının hem kontrol hem de stres durumunda prolin birikimini artırdığı saptanmıştır. Tüm gruplarda prolin miktarı 15. günde en yüksek değerde tespit edilmiştir. MEL'in kuraklık stresine cevapta prolin içeriğini artırması, bitki savunmasında önemli olduğunun kanıtıdır.

Bitkilerde farklı abiyotik stres koşullarında MEL uygulamalarının ROT miktarını azalttığı; aminoasit, organik asit ve şeker miktarlarını artırdığı görülmüştür (Shi vd., 2015). Ding vd. (2017)'nin yaptığı araştırmada, domates fidelerinin yapraklarına dışarıdan uygulanan MEL'in şeker, prolin ve antioksidan enzim aktivitesinin artırdığı rapor edilmiştir.

Kuraklık stresi koşullarında farklı bitkilerde prolin miktarının arttığını gösteren birçok çalışma vardır (Ismail vd., 2004; Bertamini vd., 2006; Keyvan, 2010; Ghaderi ve Siosemardeh, 2011; Alizadeh vd., 2011; Patel vd., 2011; Abbaspour vd., 2012; Karimi vd., 2012; Sayyari ve Ghanbari, 2012; Zanjani vd., 2012; Rostami ve Rahami, 2013; Bolat vd., 2014; İpek, 2015; Kaya ve İnan, 2019; Kaya ve Doğanlar, 2019). *M. nigra* bitkisinde elde ettiğimiz sonuçlar mevcut araştırmalar ile uyum göstermektedir. MEL uygulaması ile alınan cevapta; MEL'in stresin etkisini azaltmada katkıda bulunması nedeni ile önemli bulunmuştur.

#### **5.4 *M. nigra*'da Melatonin ve Kuraklık Stresi İlişkisi**

Tüm oksijene bağlı organizmalarda, ROT üretim mekanizması ile ROT detoksifikasyonu arasında denge vardır. Bu dengeyi koruyan en önemli moleküller antioksidan enzim ve bileşiklerdir. Bunların arasındaki koordinasyon çok iyi düzenlenmiştir. MEL, ROT süpürmede yüksek yetenek ve verimliliğe sahip olan güçlü bir antioksidan olarak kabul edilmiştir (Arnao ve Hernandez-Ruiz, 2019). MEL'in ROT üzerindeki etkisi; ROT birikimini azaltmasına, serbest radikal oluşumunu azaltmasına, ROT'un doğrudan süpürülmesine ve stresli koşullar altında antioksidan aktiviteyi iyileştirerek hücre zarlarının stabilizasyonunu sağlamasına bağlanabilir (Liang vd., 2018; Liu vd., 2018; Campos vd., 2019; Xalxo ve Keshavkant, 2019).

MEL, bitkilerin çeşitli stres etmenlerine toleransında, serbest radikallerin süpürülmesinde önemli ve etkili bir rol oynar (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2015). Ayrıca,

MEL'in antioksidan başarısı hücrelerde homeostazisi koruyan antioksidan enzimler ve çözünebilir maddeleri içeren bitki antioksidan sistemini düzenlediği gösterilmiştir (Liu vd., 2018; Xalxo ve Keshavkant, 2019).

MEL uygulamalarının, antioksidan enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonunu arttırdığı, aktivitelerini önemli ölçüde geliştirdiği, böylece oksidatif hasarı hafiflettiği ve stres toleransını arttırdığı belirlenmiştir (Zhang vd., 2016). Etkili bir antioksidan olarak MEL'in amacı sadece ROT'u doğrudan ortadan kaldırmak ve antioksidan enzim aktivitelerini artırmak değil, aynı zamanda aşırı derecede etkili bir serbest radikal süpürme kaskadı oluşturmaktır (Xalxo ve Keshavkant, 2019). Bu kaskad sayesinde MEL tanımlanmış ve doğrulanmış antioksidan potansiyele sahip çeşitli ek maddelerden daha etkili bir antioksidan olarak kabul edilir (Tan vd., 2015).

Kaya ve Doğanlar (2019) tarafından, pendimetalinin ve kuraklık stresine maruz bırakılan biberlere (*Capsicum annuum*) 50 µM MEL uygulaması yapılmıştır. Strese maruz kalan tüm gruplarda endojen MEL içeriğinin arttığı bildirilmiştir. En yüksek MEL içeriği, MEL uygulanan 32 mM Pend ve % 10 PEG stresine maruz kalan grupta 2.58 ng/g yaş ağırlık olarak saptanırken en düşük ise MEL uygulanmayan kontrol grubunda 0.51 ng/g yaş ağırlık olarak bulunduğu rapor edilmiştir.

Pothinuch ve Tongchitpakdee (2011) tarafından, üç dut çeşidinin (*Morus spp. cv* Buriram 60, Sakonnakhon ve Khunphai) yapraklarında, MEL içeriği araştırılmıştır. En yüksek MEL içeriği, Buriram 60 çeşidinde 279.6 ng/g kuru ağırlık olarak belirlenirken Sakonnakhon çeşidinde 100.5 ng/g kuru ağırlık ve Khunphai çeşidinde 40.7 ng/g kuru ağırlık olarak bulunmuşlardır. Bitkide MEL içeriğinin en yüksek yaprakların uçlarında olduğu bunu genç yaprakların takip ettiği ve yaşlı yapraklarda en düşük olduğu rapor edilmiştir. Aynı türün farklı genotiplerinde hatta aynı bitkinin farklı kısımlarında MEL miktarı farklılık gösterebildiği rapor edilmiştir.

Korkmaz vd. (2016) tarafından, soğuk stresli biber fidelerinde içsel MEL miktarının önemli seviyede arttığı, bunun nedeninin MEL'in antioksidan madde olması nedeni ile bitki dokularında strese verilen bir cevap olduğu ifade edilmektedir. İçsel MEL miktarının kontrol grubunda 8.59 ng/g yaş ağırlık iken stresli bitkilerde 28.81 ng/g yaş ağırlık olduğu, en yüksek ise stresli ve 25 µM MEL uygulanan grupta 45.85 ng/g yaş ağırlık bulunduğu rapor edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada hem kontrol hem de kuraklık stresi uygulanan *M. nigra* bitkilerine 20 µM MEL uygulanmıştır. Tüm uygulama gruplarında bitkilerin yapraklarında içsel MEL miktarı 5., 10. ve 15. günlerde ölçülmüştür. İçsel MEL miktarı en düşük 5. günde 1.66 ng/g yaş ağırlık olarak en yüksek ise 10. günde 13.74 ng/g yaş ağırlık olarak kontrol grubunda bulunmuştur. Kontrol grubunda, MEL uygulanan ve uygulanmayan bitkiler karşılaştırıldığında her iki grupta da içsel MEL miktarının 10. günde arttığı, 15. günde ise azaldığı tespit edilmiştir. 15. günde içsel MEL miktarındaki azalma, MEL uygulanmayan kontrol grubunda belirgin bir şekilde daha fazladır. İçsel MEL miktarı, 10. ve 15. günlerde kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta (4.11 ve 3.84 ng/g yaş ağırlık) kuraklık stresi uygulanan gruba (2.5 ve 1.55 ng/g yaş ağırlık) göre daha yüksek tespit edilmiştir. Kuraklık ve MEL'in birlikte uygulandığı grupta günler arasında istatistiksel olarak fark gözlenmemiştir (Çizelge 4.19). Kuraklık ve MEL uygulanan grupta, kuraklık uygulanan gruba göre 10. ve 15. günlerde istatistiksel olarak da önemli bulunan artış, antioksidan enzimlerle ilgili verilen cevaplarda dikkate alındığında, bitki savunmasında dışardan uygulanan MEL'in önemli katkısı olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak;

*M. nigra*'nın *in vitro* ortamda çoğaltımında eksplantların alınması için Haziran ayının uygun olduğu saptanmıştır. Kültür başlatma için 0.75 mg/L BAP, sürgün çoğaltımı için 1 mg/L BAP, köklenme için 1.5 mg/L IBA konsantrasyonlarının uygun olduğu belirlenmiştir. Doku kültüründe nodal eksplanttan bu mikroçoğaltım protokolü kullanılarak 20-25 haftada tam bir bitki elde edilmiştir.

Bu araştırma için yapılan literatür taramalarımızda *M. nigra*'da kuraklık stresine karşı MEL etkisinin araştırılmadığı saptanmıştır. Bu nedenle stres toleransının artırılmasında biyostimülatör olarak MEL'in etkisinin saptanması hedeflenmiştir.

Kuraklık stresi koşullarında yaprak oransal su içeriği azalmıştır. Kuraklık stresi koşullarında MEL uygulamasının yapılması oransal su içeriğini artırmıştır.

Kuraklık stresine maruz kalan *M. nigra* yapraklarında klorofil ve karotenoid miktarının azaldığı saptanmıştır. Stresli bitkilere MEL uygulaması klorofil miktarını artırırken karotenoid üzerinde bir etkisi olmadığı belirlenmiştir. Bulgularımıza dayanarak MEL'in pigment sistemi üzerinde kısmen koruyucu bir rolü olduğunu söyleyebiliriz.

Kuraklık stresi koşullarında *M. nigra* bitkisine eksojen MEL uygulamasının antioksidan kapasite üzerinde etkili olduğu ve antioksidan enzimleri düzenleyerek bitki

savunmasına önemli katkı sağladığı saptanmıştır. MEL ve stresin uygulandığı gruplarda GSH içeriği, toplam fenol ve prolin birikiminin artmasına neden olmuştur. İçsel MEL miktarının gruplar arasındaki değişimi kuraklık stresine cevapta MEL'in uygulandığı grupta 10. ve 15. günde daha yüksek gözlenmiştir.

*M. nigra*'nın strese toleransının saptanmasında; MEL'in kullanıldığı ve kullanılmadığı stres gruplarında değerlendirilen bazı fizyolojik ve biyokimyasal yanıtlar karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Kuraklık stresi uygulanmış MEL'li ve MEL'siz ortamlar arasında MEL'in stres toleransındaki rolünün önemli olduğu bulgularımız ile desteklenmektedir. Bu araştırmada elde edilen sonuçlara dayanarak *M. nigra* ve kuraklık stresi konusunda yapılacak bundan sonraki çalışmalara referans sağlamanın yanı sıra karadut yetiştiriciliğinin gelişmesine de katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abbaspour, H., Saeidi-Sar, S., Afshari, H., & Abdel-Wahhab, M. A.** (2012). Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions. *Journal of plant physiology*, 169(7), 704-709.
- Abdalla, M. M., & El-Khoshiban, N. H.** (2007). The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(12), 2062-2074.
- Aberoumand, A., & Deokule, S. S.** (2008). Comparison of phenolic compounds of some edible plants of Iran and India. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(4), 582-585.
- Agastian, P., Kingsley, S. J., & Vivekanandan, M.** (2000). Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, 38(2), 287-290.
- Ahalya, B.N.** (2020). Varietal response for in vitro shoot development in mulberry (*Morus* spp.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(4), 1405-1407.
- Ahammed, G. J., Wang, Y., Mao, Q., Wu, M., Yan, Y., Ren, J., Wang, X., Liu, A., & Chen, S.** (2020a). Dopamine alleviates bisphenol A-induced phytotoxicity by enhancing antioxidant and detoxification potential in cucumber. *Environmental Pollution*, 259, 113957.
- Ahammed, G. J., Mao, Q., Yan, Y., Wu, M., Wang, Y., Ren, J., Guo, P., Liu, A., & Chen, S.** (2020b). Role of melatonin in arbuscular mycorrhizal fungi-induced resistance to *Fusarium* wilt in cucumber. *Phytopathology*, 110(5), 999-1009.
- Ahammed, G. J., Wu, M., Wang, Y., Yan, Y., Mao, Q., Ren, J., Ma, R., Liu, A., & Chen, S.** (2020c). Melatonin alleviates iron stress by improving iron homeostasis, antioxidant defense and secondary metabolism in cucumber. *Scientia Horticulturae*, 265, 109205.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., & Sharma, S.** (2010). Antioxidant defense system, lipid peroxidation, proline-metabolizing enzymes, and biochemical activities in two *Morus alba* genotypes subjected to NaCl stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57(4), 509-517.
- Akerboom, T. P., & Sies, H.** (1981). Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *In Methods in enzymology*, 77, 373-382. Academic Press.
- Alia, P., & Saradhi, P. P.** (1991). Proline accumulation under heavy metal stress. *Journal of Plant Physiology*, 138(5), 554-558.
- Alizadeh, A., Alizade, V., Nassery, L., & Eivazi, A.** (2011). Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks. *Technical Journal of Engineering and Applied Science*, 1(3), 86-94.

- Allegra, M., Reiter, R. J., Tan, D. X., Gentile, C., Tesoriere, L., & Livrea, M. A.** (2003). The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *Journal of Pineal Research*, 34(1), 1-10.
- Al-Omar, M. A., Beedham, C., & Alsarra, I. A.** (2004). Pathological roles of reactive oxygen species and their defence mechanisms. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 12(1), 01-18.
- Altunlu, H.** (2011). *Aşılamanın Domateste Kuraklık Stresine Etkileri*. Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Anbar, A. D.** (2008). Elements and evolution. *Science*, 1481-1483.
- Andrews, C. J., Cummins, I., Skipsey, M., Grundy, N. M., Jepson, I., Townson, J., & Edwards, R.** (2005). Purification and characterisation of a family of glutathione transferases with roles in herbicide detoxification in soybean (*Glycine max* L.); selective enhancement by herbicides and herbicide safeners. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 82(3), 205-219.
- Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W.** (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9), 2026-2032.
- Anjum, S. A., Ashraf, U., Tanveer, M., Khan, I., Hussain, S., Shahzad, B., Zohaib, A., Abbas, F., Saleem, M.F., Ali, I., & Wang, L. C.** (2017). Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Antony, P., Schrama, J. W., & Kaushik, S. J.** (2016). Mineral requirements of fish: a systematic review. *Reviews in Aquaculture*, 8(2), 172-219.
- Apel, K., & Hirt, H.** (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- Arbona, V., Flors, V., Jacas, J., García-Agustín, P., & Gómez-Cadenas, A.** (2003). Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Responses of Carrizo Citrange, a Salt-Sensitive Citrus Rootstock, to Different Levels of Salinity. *Plant and Cell Physiology*, 44, 388-394.
- Arıcı, E.Ş. & Eraslan, F.** (2012). *In vitro Koşullarda Kültüre Alınan Colt (Prunus avium X Prunus pseudocerasus) Kiraz Anacına Tuz Stresinin Etkisi*. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7 (2):41-48.
- Armstrong, R. N.** (1997). Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases. *Chemical Research in Toxicology*, 10(1), 2-18.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J.** (2007). Melatonin promotes adventitious-and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research*, 42(2), 147-152.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J.** (2009a). Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. *Journal of Pineal Research*, 46(1), 58-63.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J.** (2009b). Assessment of different sample processing procedures applied to the determination of melatonin in plants. *Phytochemical Analysis*, 20(1), 14-18.



- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J.** (2013). Growth conditions determine different melatonin levels in *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research*, 55(2), 149-155.
- Arnao, M. B.** (2014). Phytomelatonin: discovery, content, and role in plants. *Advances in Botany*, 11.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J.** (2015). Functions of melatonin in plants: a review. *Journal of Pineal Research*, 59(2), 133-150.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J.** (2019). Melatonin: a new plant hormone and/or a plant master regulator?. *Trends in Plant Science*, 24(1), 38-48.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J.** (2020). Is phytomelatonin a new plant hormone?. *Agronomy*, 10(1), 95.
- Arora, A., Sairam, R. K., & Srivastava, G. C.** (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, 1227-1238.
- Arslan, B.** (2019). *Üç Turunçgil Anacının Kuraklık Stresi Strasında Antioksidan Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Isparta.
- Arteel, G. E., & Sies, H.** (2001). The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10(4), 153-158.
- Asada, K.** (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Biology*, 50(1), 601-639.
- Asada, K.** (2000). The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 355(1402), 1419-1431.
- Ashraf, M.** (1994). Organic substances responsible for salt tolerance in *Eruca sativa*. *Biologia Plantarum*, 36(2), 255-259.
- Ashraf, M.** (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*, 27(1), 84-93.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., Savran, E., & Yılmaz, B.** (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü- Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutasyon peroksidaz (GPX). *Medical Journal of Suleyman Demirel University*, 26(3), 362-369.
- Atak, E., & Uslu, M.E.** (2018). Fenolik bileşikler, ekstraksiyon metotları ve analiz yöntemleri. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 3(27), 39-48.
- Awika, J. M., Rooney, L. W., Wu, X., Prior, R. L., & Cisneros-Zevallos, L.** (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6657-6662.
- Aydın, O., Ünalı, Ü. E., Duman, N., Çiçek, İ., & Türkoğlu, N.** (2017). Türkiye’de su kıtlığının mekânsal ölçekte değerlendirilmesi. *Türk Coğrafya Dergisi*, (68), 11-18.

- Babaoğlu, S., Yorgancıoğlu, M., & Akbudak, M. A.** (2002). *Doku Kültürü: temel laboratuvar teknikleri: Bitki Biyoteknolojisi-I*, doku kültürü ve uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374.
- Back, K., Tan, D. X., & Reiter, R. J.** (2016). Melatonin biosynthesis in plants: multiple pathways catalyze tryptophan to melatonin in the cytoplasm or chloroplasts. *Journal of Pineal Research*, 61(4), 426-437.
- Badawi, G. H., Kawano, N., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, R., & Kubo, A.** (2004). Over-Expression of Ascorbate Peroxidase in Tobacco Chloroplasts Enhances the Tolerance to Salt Stress and Water Deficit. *Physiology Plant*, 121, 231-238.
- Bajwa, V. S., Shukla, M. R., Sherif, S. M., Murch, S. J., & Saxena, P. K.** (2014). Role of melatonin in alleviating cold stress in *A. rabidopsis thaliana*. *Journal of Pineal Research*, 56(3), 238-245.
- Balakrishnan, V., Latha, M.R., Ravindran, K.C. & Robinson, J.P.** (2009). Clonal propagation of *Morus alba* L. through nodal and axillary bud explants. *Botany Research International*, 2(1), 42-49.
- Ban, S. G., Selak, G. V., & Leskovar, D. I.** (2017). Short- and long-term responses of pepper seedlings to ABA exposure. *Sci. Hortic.*, 225, 243–251.
- Bankapalli, K., Saladi, S., Awadia, S. S., Goswami, A. V., Samaddar, M., & D'Silva, P.** (2015). Robust glyoxalase activity of Hsp31, a ThiJ/DJ-1/PfpI family member protein, is critical for oxidative stress resistance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Chemistry*, 290(44), 26491-26507.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D.** (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
- Bela, K., Horváth, E., Gallé, Á., Szabados, L., Tari, I., & Csiszár, J.** (2015). Plant glutathione peroxidases: emerging role of the antioxidant enzymes in plant development and stress responses. *Journal of Plant Physiology*, 176, 192-201.
- Benedetta, C., Germana, P., & Germana, M. A.** (2007). In vitro response of two Sicilian genotypes of *Morus* (L.) through axillary bud culture. *Caryologia*, 60(1-2), 178-181.
- Bertamini, M., Zulini, L., Muthuchelian, K. & Nedunchezian, N.** (2006). Effect of water deficit on photosynthetic and other physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) plants. *Photosynthetica*, 44(1), 151-154.
- Bhargava, S., & Sawant, K.** (2013). Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. *Plant Breeding*, 132(1), 21-32.
- Bhau, B.S., & Wakhlu, A.K.** (2003). Rapid micropropagation of five cultivars of mulberry. *Biologia Plantarum*, 46(3), 349-355.
- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V.** (2002). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91(2), 179-194.
- Boccalandro, H. E., González, C. V., Wunderlin, D. A., & Silva, M. F.** (2011). Melatonin levels, determined by LC-ESI-MS/MS, fluctuate during the day/night cycle

in *Vitis vinifera* cv Malbec: evidence of its antioxidant role in fruits. *Journal of Pineal Research*, 51(2), 226-232.

- Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., İkinci, A., & Tonkaz, T.** (2014). The effect of water stress on some morphological, physiological, and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Boyd, E. S., Thomas, K. M., Dai, Y., Boyd, J. M., & Outten, F. W.** (2014). Interplay between oxygen and Fe-S cluster biogenesis: insights from the Suf pathway. *Biochemistry*, 53(37), 5834-5847.
- Bozcuk, S.** (1997). *Bitki Fizyolojisi*. Hatiboğlu Yayınları, 2. Baskı, Ankara.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igić, R.** (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*, 111(4), 925-929.
- Bradford, M. M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bray, E. A.** (1997). Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science*, 2(2), 48-54.
- Briviba, K., Klotz, L. O., & Sies, H.** (1997). Toxic and signaling effects of photochemically or chemically generated singlet oxygen in biological systems. *Biological Chemistry*, 378(11), 1259-1265.
- Burkhardt, S., Tan, D. X., Manchester, L. C., Hardeland, R., & Reiter, R. J.** (2001). Detection and quantification of the antioxidant melatonin in Montmorency and Balaton tart cherries (*Prunus cerasus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4898-4902.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S., & Aras, S.** (2012). Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 69(2), 97-110.
- Büyükuslu, N., & Yiğitbaşı, T.** (2015). Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(3), 197-203.
- Byeon, Y., Lee, H. Y., Lee, K., Park, S., & Back, K.** (2014). Cellular localization and kinetics of the rice melatonin biosynthetic enzymes SNAT and ASMT. *Journal of Pineal Research*, 56(1), 107-114.
- Cai, Z. Q., Chen, Y. J., Guo, Y. H., & Cao, K. F.** (2005). Responses of two field-grown coffee species to drought and re-hydration. *Photosynthetica*, 43(2), 187-193.
- Cai Xiong, Y., Mei Xing, X., Mei Gong, C., Min Li, F., Ming Wang, S., Xiao Li, Z., & Fu Wang, Y.** (2016). Dual Role of Abscisic Acid on Antioxidative Defense in Grass Pea Seedling (*Lathyrus sativus* L.). *Pakistan Journal Botany*, 38, 999-1014.
- Campbell, M. K.** (1991). *Biochemistry*. Harcourt Brace Jovanovich College Publishers, Fort Worth, USA, 1.
- Campos, C. N., Ávila, R. G., de Souza, K. R. D., Azevedo, L. M., & Alves, J. D.** (2019). Melatonin reduces oxidative stress and promotes drought tolerance in young *Coffea arabica* L. plants. *Agricultural water management*, 211, 37-47.

- Cao, Y. Y., Qi, C. D., Li, S., Wang, Z., Wang, X., Wang, J., Ren, S., Li, X., & Guo, Y. D.** (2018). Melatonin alleviates copper toxicity via improving copper sequestration and ROS scavenging in cucumber. *Plant and Cell Physiology*, 60(3), 562-574.
- Cardinali, D. P., & Pévet, P.** (1998). Basic aspects of melatonin action. *Sleep Medicine Reviews*, 2(3), 175-190.
- Carlberg, I., & Mannervik, B.** (1985). Glutathione reductase. In *Methods in Enzymology*, 113, 484-490. Academic press.
- Carrasco, L., & Pinto, M.** (2014). Effect of salt stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in leaves in two contrasting corn, 'Lluteño' and 'Jubilee'. *Chilean journal of Agricultural Research*, 74, 89-95.
- Caruso, A., Chedfor, F., Carpin, S., Depierreux, C., Delmotte, F. M., Kahlem, G., & Morabito, D.** (2008). Physiological characterization and identification of genes differentially expressed in response to drought induced by PEG 6000 in *Populus canadensis* leaves. *Journal of Plant Physiology*, 165(9), 932-941.
- Carvalho, M. E. A., Piotto, F. A., Franco, M. R., Borges, K. L. R., Gaziola, S. A., Castro, P. R. C., & Azevedo, R. A.** (2018). Cadmium toxicity degree on tomato development is associated with disbalances in B and Mn status at early stages of plant exposure. *Ecotoxicology*, 27(10), 1293-1302.
- Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Romero, L., & Ruíz, J.M.** (2007). Oxidative Stress and antioxidants in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Plants Subjected to Boron Toxicity. *Annals of Botany*, 100, 747-756.
- Ceylan, H., Demir, Y., & Beydemir, Ş.** (2019). Inhibitory effects of usnic and carnosic acid on some metabolic enzymes: an in vitro study. *Protein and Peptide Letters*, 26(5), 364-370.
- Chai, T.T., Fadzillah, N.M., Kusnan, M., & Mahmood, M.** (2005). Water stress induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. *Biologia Plantarum*, 49, 153-156.
- Chai, Y., Zhang, S., & Yao, C.** (2011). Effects of drought stress and rewatering on photosynthetic physiological characteristics of sorghum. In *2011 International Conference on Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering*, 6799-6805. IEEE.
- Chandler, S. F., & Dodds, J. H.** (1983). The effect of phosphate, nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasodine in callus cultures of *Solanum laciniatum*. *Plant Cell Reports*, 2(4), 105-108.
- Channuntapipat, C., Wirthensohn, M., Ramesh, S.A., Batlle, I., Arús, P., Sedgley, M., & Collins, G.** (2003). Identification of incompatibility genotypes in almond (*Prunus dulcis* Mill.) using specific primers based on the introns of the S-alleles. *Plant Breeding*, 122(2), 164-168.
- Cheeseman, J. M.** (2006). Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions. *Journal of Experimental Botany*, 57(10), 2435-2444.
- Chen, J., Wu, W., Zheng, Y., Hou, K., Xu, Y., & Zai, J.** (2010). Drought resistance of *Angelica dahurica* during seedling stage under polyethylene glycol (PEG-

- 6000)-simulated drought stress. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 35(2), 149-153.
- Chen, Y., Chen, F.; Liu, L & Zhu, S.** (2012). Physiological responses of *Leucaena leucocephala* seedlings to drought stress. *Procedia Engineering*, 28, 110-116.
- Cheng, L., Han, M., Yang, L. M., Li, Y., Sun, Z., & Zhang, T.** (2018). Changes in the physiological characteristics and baicalin biosynthesis metabolism of *Scutellaria baicalensis* Georgi under drought stress. *Industrial Crops and Products*, 122, 473-482.
- Choluj, D., Karwowska, R., Jasinska, M., & Haber, G.** (2004). Growth and dry matter partitioning in sugar beet plants (*Beta vulgaris* L.) under moderate drought. *Plant Soil and Environment.*, 50(6), 265-272.
- Claustrat, B., Brun, J., & Chazot, G.** (2005). The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Medicine Reviews*, 9(1), 11-24.
- Cnubben, N. H., Rietjens, I. M., Wortelboer, H., van Zanden, J., & van Bladeren, P. J.** (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental toxicology and Pharmacology*, 10(4), 141-152.
- Collins, A. R.** (2001). Carotenoids and genomic stability. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 475(1-2), 21-28.
- Costa-França, M. G., Pham-Thi, C. A. T., Pimentel, R. O. P., Rossiello, Y., Fodil, Z., & Laffray, D.** (2000). Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 43(3), 227-237.
- Cui, G., Zhao, X., Liu, S., Sun, F., Zhang, C. & Xi, Y.** (2017). Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 118, 138–149.
- Cunhua, S., Wei, D., Xiangling, C., Xinna, X., Yahong, Z., Dong, S., & Jianjie, S.** (2010). The effects of drought stress on the activity of acid phosphatase and its protective enzymes in pigweed leaves. *African Journal of Biotechnology*, 9(6), 825-833.
- Çakmak, I.** (1994). Activity of ascorbate-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium-and potassium-deficient leaves, but not in phosphorus-deficient leaves. *Journal of Experimental Botany*, 45(9), 1259-1266.
- Çarpıcı, E. B., & Erdel, B.** (2015). Bazı yonca çeşitlerinde (*Medicago sativa* L.) kuraklık stresinin çimlenme özellikleri üzerine etkisi. *Derim*, 32(2), 201-210.
- Çaylak, E.** (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 73-83.
- Çelik, Ö., Atak, Ç., & Ayan A.** (2017). Enzymatic and non-enzymatic comparison of two different industrial tomato (*Solanum lycopersicum*) varieties against drought stress. *Botanical Studies*, 58, 32–45.
- Çırak, C., & Esendal, E.** (2006). Soyada kuraklık stresi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(2), 231-237.

- Dagman, F. H. A.** (2019). *Bazı Meyve Anaçlarının Klasik Doku Kültürü ve Yeni Nesil Geçici Daldırma Biyoreaktör Sistemi ile Mikroçoğaltımı*. Yüksek Lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Dai, A.** (2013). Increasing drought under global warming in observations and models. *Nat. Clim. Change*, 3, 52. <https://doi.org/10.1038/NCLIMATE1633>.
- Danial, G. H., Ibrahim, D. A., Khalil, B. M., & Musa, V. M.** (2014). In vitro drought tolerant of rootstock apple (*Malus domestica* Borkh.) and pear (*Pyrus calleryana*). *Journal of Zankoy Sulaimani*, 16, 109-116.
- Das, K., & Roychoudhury, A.** (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- Dat, J., Vandenaabeele, S., Vranova, E. V. M. M., Van Montagu, M., Inzé, D., & Van Breusegem, F.** (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57(5), 779-795.
- Datta, R. K.** (2002). Mulberry cultivation and utilization in India. Mulberry for animal production. *FAO Animal Production and Health Paper*, 147, 45-62.
- De Kok, L. J., & Graham, M.** (1980). Levels of pigments, soluble proteins, amino acids and sulhydryl compounds in foliar tissue of *Arabidopsis thaliana* during dark-induced and natural senescence. *Plant Physiology and Biochemistry* (Paris), 27(2), 133-142.
- Deaton, C. M., & Marlin, D. J.** (2003). Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2(3), 278-291.
- Debergh, P. C., & Read, P. E.** (1993). Debergh PC, Zimmerman RH (Eds.), *Micropropagation–Technology and application*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Hollanda, S: 1–15.
- Deeba, F., Pandey, A. K., Ranjan, S., Mishra, A., Singh, R., Sharma, Y. K., Shirke, P.A., & Pandey, V.** (2012). Physiological and proteomic responses of cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 53, 6-18.
- Demir, Y.** (2019). Purification of Glutathione Reductase from Human Erythrocytes: Inhibition Profile of Some Anti-Epileptic Drugs. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(4), 2140-2147.
- Demiral, T., & Türkan, I.** (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53(3), 247-257.
- Denaxa, N. K., Roussos, P. A., Damvakaris, T., & Stournaras, V.** (2012). Comparative effects of exogenous glycine betaine, kaolin clay particles and Ambiol on photosynthesis, leaf sclerophylly indexes and heat load of olive cv. Chondrolia Chalkidikis under drought. *Scientia Horticulturae*, 137, 87-94.
- Deveci, M., & Tuğrul, B.** (2017). Ispanakta tuz stresinin yaprak fizyolojik özelliklerine etkisi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 6, 89-98.
- Ding, F., Liu, B., & Zhang, S.** (2017). Exogenous melatonin ameliorates cold-induced damage in tomato plants. *Scientia Horticulturae*, 219, 264-271.

- Dionisio-Sese, M. L., & Tobita, S.** (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135(1), 1-9.
- Dixon, D. P., Skipsey, M., & Edwards, R.** (2010). Roles for glutathione transferases in plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 71(4), 338-350.
- Dolferus, R.** (2014). To grow or not to grow: a stressful decision for plants. *Plant Science*, 229, 247-261.
- Dos Santos, I. C., de Almeida, A. A. F., Pirovani, C. P., Costa, M. G. C., Bellete, B. S., Freschi, L., Soares Filho, W., Coelho Filho, M. A & da Silva Gesteira, A.** (2017). Differential accumulation of flavonoids and phytohormones resulting from the canopy/rootstock interaction of citrus plants subjected to dehydration/rehydration. *Plant Physiology and Biochemistry*, 119, 147-158.
- Dubey, R. S.** (1994). *Handbook of Plant and Crop Stress*. New York: Marcel Dekker, 227.
- Dubbels, R., Reiter, R. J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., & Schloot, W.** (1995). Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pineal Research*, 18(1), 28-31.
- Duncan, D. B.** (1955) Multiple range and multiple F tests biometrics. *International Biometric Society*, 11(1), 1-42.
- Đurković, J., Kaňuchová, A., Kačík, F., Solár, R., & Lengyelová, A.** (2012). Genotype- and age-dependent patterns of lignin and cellulose in regenerants derived from 80-year-old trees of black mulberry (*Morus nigra* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 108(3), 359-370.
- Dutta, P., Bandopadhyay, P., & Bera, A.K.** (2016). Identification of Leaf Based Physiological Markers for Drought Susceptibility During Early Seedling Development of Mungbean. *American Journal of Plant Sciences*, 7, 1921-1936.
- Eden, P.** (2005). Post-Genome Era. *Journal of College Science Teaching*, 34 (7), 32, 74-35.
- El-Beltagi, H. S., & Mohamed, H. I.** (2013). Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 44-57.
- El-Tayeb, M. A.** (2006). Differential response of two *Vicia faba* cultivars to drought: growth, pigments, lipid peroxidation, organic solutes, catalase and peroxidase activity. *Acta Agronomica Hungarica*, 54(1), 25-37.
- Emiroğlu, Ü., & Gürel E.** (2005). Bitki Islahında Doku Kültürü Tekniklerinin Kullanımı Tohum Bilimi ve Teknolojisi. *Tohum Bilimi ve Teknolojisi. Ege Üniversitesi Tohum Teknolojisi Uygulama ve Araştırma Merkezi (TOTEM), Yayın, (3), 91-155.*
- Ercan, O.** (2008). *Effect of Drought and Salt Stresses on Antioxidant Defense System and Physiology of Lentil (Lens Culinaris M.) Seedlings*. Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Erzi, N.** (2019). *Karotenoid Üreten Mayaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

- Fan, H. F., Ding, L., Du, C. X., & Wu, X.** (2014). Effect of short-term water deficit stress on antioxidative systems in cucumber seedling roots. *Botanical Studies*, 55(1), 46.
- Fang, Y., & Xiong, L.** (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(4), 673-689.
- Farouk, S., & Al-Amri, S. M.** (2019). Exogenous melatonin-mediated modulation of arsenic tolerance with improved accretion of secondary metabolite production, activating antioxidant capacity and improved chloroplast ultrastructure in rosemary herb. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 180, 333-347.
- Ferreira, R. R., Fornazier, R. F., Vitória, A. P., Lea, P. J., & Azevedo, R. A.** (2002). Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress. *Journal of Plant Nutrition*, 25(2), 327-342.
- Filek, M., Walas, S., Mrowiec, H., Rudolphy-Skórska, E., Sieprawska, A., & Biesaga-Kościelniak, J.** (2012). 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*, 34(3), 985-995.
- Filippou, P., Antoniou, C., & Fotopoulos, V.** (2011). Effect of Drought and Rewatering on the Cellular Status and Antioxidant Response of *Medicago truncatula* Plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6, 270-277.
- Foti, M. C., & Amorati, R.** (2016). ROS and phenolic compounds. In *Reactive Oxygen Species in Biology and Human Health*, 49-65. CRC Press.
- Foyer, C. H., & Halliwell, B.** (1976). The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133(1), 21-25.
- Foyer, C. H.** (1993). Ascorbic acid. *Antioxidants in Higher Plants.*, 31-58.
- Foyer, C. H., & Noctor, G.** (2009). Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(4), 861-905.
- Foyer, C. H., & Noctor, G.** (2013). Redox signaling in plants. *Antioxid. Redox Signal.* 18, 2087-2090.
- Fracheboud, Y., Jompuk, C., Ribaut, J. M., Stamp, J., & Leipner, P.** (2004). Genetic analysis of cold-tolerance of photosynthesis in maize. *Plant Molecular Biology*, 56(2), 241-253.
- Gao, S., Wang, Y., Yu, S., Huang, Y., Liu, H., Chen, W., & He, X.** (2020). Effects of drought stress on growth, physiology and secondary metabolites of two Adonis species in Northeast China. *Scientia Horticulturae*, 259, 108795.
- Garg, N., & Manchanda, G.** (2009). ROS generation in plants: boon or bane?. *Plant Biosystems*, 143(1), 81-96.
- Ghaderi, N., & Siosemardeh, A.** (2011). Response to drought stress of two strawberry cultivars (cv. Kurdistan and Selva). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52(1), 6-12.



- Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G., & Goli, S. A. H.** (2016). Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of *Achillea* species. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(4), 796-809.
- Gill, S. S., & Tuteja, N.** (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gillham, D. J., & Dodge, A. D.** (1987). Chloroplast superoxide and hydrogen peroxide scavenging systems from pea leaves: seasonal variations. *Plant Science*, 50(2), 105-109.
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M., & Toulmin, C.** (2010). Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science*, 327(5967), 812-818.
- Gogoi, G., Borua, P.K., & Al-Khayri, J.M.** (2017). Improved micropropagation and in vitro fruiting of *Morus indica* L. (K-2 cultivar). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(1), 249-256.
- Golldack, D., Lüking, I., & Yang, O.** (2011). Plant tolerance to drought and salinity: stress regulating transcription factors and their functional significance in the cellular transcriptional network. *Plant Cell Reports*, 30(8), 1383-1391.
- Gopal, J., & Iwama, K.** (2007). In vitro screening of potato against water-stress mediated through sorbitol and polyethylene glycol. *Plant Cell Reports*, 26(5), 693-700.
- Gökdere, S.** (2019). *In vitro Sürgün Ucu Yöntemiyle Erik (Prunus domestica L.) Anacının Klonal çoğaltımı*. Yüksek lisans tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Gökmen, H.** (1973). *Kapalı Tohumlular*. Şark Matbaası. Ankara, 1, 186-190.
- Greenway, H., & Munns, R.** (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31(1), 149-190.
- Guha, A., Sengupta, D., Rasineni, G. K., & Reddy, A. R.** (2010). An integrated diagnostic approach to understand drought tolerance in mulberry (*Morus indica* L.). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205(2), 144-151.
- Güller, P., Karaman, M., Güller, U., Aksoy, M., & Küfrevioğlu, Ö. İ.** (2020). A study on the effects of inhibition mechanism of curcumin, quercetin, and resveratrol on human glutathione reductase through in vitro and in silico approaches. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-10.
- Habib, A., Ali, MR., Amin, M.N., & Arman, M.M.** (2003). Clonal propagation of white mulberry (*Morus alba* L.) using in vitro technique. *Journal of Biological Sciences.-Ivyspring International Publisher*, 3, 1181-1187.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B.** (1974) The first enzymatic step in mercapturic acid formation Glutathion S-Transferases. *J. Biol. Chem*, 249, 7130-7139.
- Halford, N. G., Curtis, T. Y., Chen, Z., & Huang, J.** (2015). Effects of abiotic stress and crop management on cereal grain composition: implications for food quality and safety. *Journal of Experimental Botany*, 66(5), 1145-1156.

- Halliwell, B.** (1984). Oxygen radicals: a commonsense look at their nature and medical importance. *Medical biology*, 62(2), 71.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C.** (1999). *Free radicals in biology and medicine*: Oxford University Press. Inc, New York.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M.** (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K., & Charoensataporn, R.** (2003). Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Science Asia*, 29(2), 109-113.
- Hartman, H. T. & Kester, D. E.** (1975). *Plant propagation principles and practices*, 3rd ed. Prentice-Hall. INC. U.S.A.
- Hasan, M., Ahammed, G. J., Yin, L., Shi, K., Xia, X., Zhou, Y., Yu, J., & Zhou, J.** (2015). Melatonin mitigates cadmium phytotoxicity through modulation of phytochelatin biosynthesis, vacuolar sequestration, and antioxidant potential in *Solanum lycopersicum* L. *Frontiers in Plant Science*, 6, 601.
- Hasan, M. K., Ahammed, G. J., Sun, S., Li, M., Yin, H., & Zhou, J.** (2019). Melatonin inhibits cadmium translocation and enhances plant tolerance by regulating sulfur uptake and assimilation in *Solanum lycopersicum* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(38), 10563-10576.
- Hasanuzzaman, M., Alam, M.M., Rahman, A., Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Masayuki Fujita, M.** (2014). Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *BioMed Research International*, 1-17.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Rahman, A., Al Mahmud, J., Hossain, S., Alam, K., Oku, H., & Fujita, M.** (2017). Actions of biological trace elements in plant abiotic stress tolerance. In *Essential Plant Nutrients*, 213-274. Springer, Cham.
- Haskırh, H.** (2019). *Arabidopsis thaliana' da Melatoninin UV Stresini İyileştirici Etkisinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Hassan, M.S., & Elnemr, K.F.** (2013). Plant response to drought stress simulated by ABA application: changes in chemical composition of cuticular waxes. *Environ. Exp. Bot.* 86, 70–75.
- Hatipoğlu, R.** (2018). *Bitki biyoteknolojisi*. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No: 190. Ders kitapları yayın no: A-58.
- Hattori, A., Migitaka, H., Iigo, M., Itoh, M., Yamamoto, K., Ohtani-Kaneko, R., Hara, M., Suzuki, T., & Reiter, R. J.** (1995). Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 35(3), 627–634.
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X.** (2017). Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(2), 532-553.

- Heath, R. L., & Packer, L.** (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198.
- Helaly, M. N., El-Hoseiny, H., El-Sheery, N. I., Rastogi, A., & Kalaji, H. M.** (2017). Regulation and physiological role of silicon in alleviating drought stress of mango. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 31-44.
- Higgins, L. G., & Hayes, J. D.** (2011). Mechanisms of induction of cytosolic and microsomal glutathione transferase (GST) genes by xenobiotics and pro-inflammatory agents. *Drug Metabolism Reviews*, 43(2), 92-137.
- Hodaei, M., Rahimmalek, M., Arzani, A., & Talebi, M.** (2018). The effect of water stress on phytochemical accumulation, bioactive compounds and expression of key genes involved in flavonoid biosynthesis in *Chrysanthemum morifolium* L. *Industrial Crops and Products*, 120, 295-304.
- Hoque, M. A., Okuma, E., Banu, M. N. A., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., & Murata, Y.** (2007). Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 553-561.
- Horemans, N., Foyer, C. H., & Asard, H.** (2000). Transport and action of ascorbate at the plant plasma membrane. *Trends in Plant Science*, 5(6), 263-267.
- Howitt, C. A., & Pogson, B. J.** (2006). Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. *Plant, Cell & Environment*, 29(3), 435-445.
- Hozman, S.** (2016). *Su Stresi Ve Osmoprotektan Uygulamalarının Kestane Fidanlarında Fizyolojik ve Morfolojik Özellikler Üzerine Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Huihui, Z., Xin, L., Yupeng, G., Mabo, L., Yue, W., Meijun, A., Yuehui, Z., Guanjun, L., Nan, X., & Guangyu, S.** (2020). Physiological and proteomic responses of reactive oxygen species metabolism and antioxidant machinery in mulberry (*Morus alba* L.) seedling leaves to NaCl and NaHCO<sub>3</sub> stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 193, 110259.
- Ismail, M. R., Yusoff, M. K., & Mahmood, M.** (2004). Growth, water relations, stomatal conductance and proline concentration in water stressed banana (*Musa* spp.) plants. *Asian Journal of Plant Sciences*.
- İpek, M.** (2015). *In vitro Şartlarda Garnem ve Myrobolan 29C Anaçlarının Kurak Stresine Karşı Tepkilerinin Belirlenmesi*. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Jacoby, R. P., Millar, A. H., & Taylor, N. L.** (2010). Wheat mitochondrial proteomes provide new links between antioxidant defense and plant salinity tolerance. *Journal of Proteome Research*, 9(12), 6595-6604.
- Jacomini, E., Bertani, A., & Mapelli, S.** (1988). Accumulation of polyethylene glycol 6000 and its effects on water content and carbohydrate level in water-stressed tomato plants. *Canadian Journal of Botany*, 66(5), 970-973.
- Jahan, M. S., Shu, S., Wang, Y., Chen, Z., He, M., Tao, M., Sun, J., & Guo, S.** (2019). Melatonin alleviates heat-induced damage of tomato seedlings by balancing

redox homeostasis and modulating polyamine and nitric oxide biosynthesis. *BMC plant biology*, 19(1), 1-16.

- Jahan, M. S., Guo, S., Baloch, A. R., Sun, J., Shu, S., Wang, Y., Ahammed, G. J., Kabir, K., & Roy, R.** (2020). Melatonin alleviates nickel phytotoxicity by improving photosynthesis, secondary metabolism and oxidative stress tolerance in tomato seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 110593.
- Jain, M., Mathur, G., Koul, S., & Sarin, N.** (2001). Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Plant Cell Reports*, 20(5), 463-468.
- Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Somasundaram, R. & Panneerselvam, R.** (2009). Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol*, 11(1), 100-105.
- Jenks, M. A., & Hasegawa, P. M.** (2005). *Plant abiotic stress*. Blackwell Pub.
- Jozefczak, M., Remans, T., Vangronsveld, J., & Cuypers, A.** (2012). Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3), 3145-3175.
- Ju, Y. L., Yue, X. F., Zhao, X. F., Zhao, H., & Fang, Y. L.** (2018). Physiological, micro-morphological and metabolomic analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf of plants under water stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 130, 501-510.
- Jung, S.** (2004). Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Science*, 166(2), 459-466.
- Kabay, T.** (2018). Effects of low temperatures on enzyme activity, chlorophyll and ion contents in common bean genotypes. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(5), 7271-7287.
- Kabay, T.** (2019). Effects of different potassium doses on development of high temperature-sensitive bean plants. *Feb-Fresenius Environmental Bulletin*, 28(1):320-325.
- Kaçar, B., Katkat, V., & Öztürk Ş.** (2013). *Bitki Fizyolojisi*, Nobel Akademik Yayıncılık, 488-491.
- Kadioğlu, M.** (2008). Kuraklık risk yönetimi. *Konya Kapalı Havzası Yeraltı Suyu ve Kuraklık Konferansı. Bildiriler Kitabı*, 11-12.
- Kadioğlu, A.** (2011). *Bitki Fizyolojisi*. Gündüz ofset matbaacılık yayıncılık, 5. Baskı, Trabzon.
- Kalefetoğlu, T., & Ekmekci, Y.** (2005). The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. *Gazi University Journal of Science*, 18(4), 723-740.
- Kalinina, E. V., Chernov, N. N., & Novichkova, M. D.** (2014). Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Moscow)*, 79(13), 1562-1583.
- Kalkışım, Ö., Turan, A., Azeri, F. N., & Özdeş, D.** (2013). Kara Dut (*Morus nigra* L.) Bitkisinin In Vitro Çoğaltımı. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 77-84.

- Kang, K., Lee, K., Park, S., Kim, Y. S., & Back, K.** (2010). Enhanced production of melatonin by ectopic overexpression of human serotonin N-acetyltransferase plays a role in cold resistance in transgenic rice seedlings. *Journal of Pineal Research*, 49(2), 176-182.
- Kang, K., Lee, K., Park, S., Byeon, Y., & Back, K.** (2013). Molecular cloning of rice serotonin N-acetyltransferase, the penultimate gene in plant melatonin biosynthesis. *Journal of Pineal Research*, 55(1), 7-13.
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş.** (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1).
- Karaca, A.** (2013). *Dışarıdan Yapılan Melatonin Uygulamaları İle Biberde Çimlenme Sırasında Üşüme Stresine Karşı Toleransın Arttırılması*. Yüksek lisans tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Karahan, G., Erşahin, S., & Öztürk, H. S.** (2014). Toprak koşullarına bağlı olarak tarla kapasitesi dinamiği. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University (JAFAG)*, 31, 1-1.
- Karimi, S., Yadollahi, A., Nazari-Moghadam, R., Imani, A., & Arzani, K.** (2012). In vitro screening of almond (*Prunus dulcis* (Mill.)) genotypes for drought tolerance. *J Biol Environ Sci*, 6(18), 263-270.
- Karipçin, Z. M.** (2009). *Yerli ve yabani karpuz genotiplerinde kuraklığa toleransın belirlenmesi*. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Ents., Adana.
- Karuppanapandian, T., Moon, J. C., Kim, C., Manoharan, K., & Kim, W.** (2011). Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), 709.
- Kaya, A., & Yigit, E.** (2014). The physiological and biochemical effects of salicylic acid on sunflowers (*Helianthus annuus*) exposed to flurochloridone. *Ecotoxicology and environmental safety*, 106, 232-238.
- Kaya, A., & İnan, M.** (2018). Kuraklık ve Tuz Streslerine Maruz Kalan Tütün (*Nicotiana tabacum* L.) Bitkisinde Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Melatoninin Etkileri. *Tarım ve Doga Dergisi*, 21(4), 559.
- Kaya, A., & Doganlar, Z. B.** (2019). Melatonin improves the multiple stress tolerance in pepper (*Capsicum annuum*). *Scientia Horticulturae*, 256, 108509.
- Kaya, C., Okant, M., Ugurlar, F., Alyemeni, M. N., Ashraf, M., & Ahmad, P.** (2019). Melatonin-mediated nitric oxide improves tolerance to cadmium toxicity by reducing oxidative stress in wheat plants. *Chemosphere*, 225, 627-638.
- Keyvan, S.** (2010). The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *J. Anim. Plant Sci*, 8(3), 1051-1060.
- Khalid, A. K.** (2014). *The effects of activated charcoal and physical state of culture medium on micropropagation of Morus nigra L.* Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Khan, N. A., Samiullah, S., & Singh, R.** (2007). Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum*

*aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agricultural Crop Science*, 193 435-444.

- Kırnak, H., Tas, I., Kaya, C., & Higgs, D.** (2002). Effects of deficit irrigation on growth, yield and fruit quality of eggplant under semi-arid conditions. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53(12), 1367-1373.
- Kidd, P., Llugany, M., Poschenrieder, C., Gunse, B., & Barcelo, J.** (2001). The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Bot.* 52, 1339-1352.
- Kladna, A., Aboul-Enein, H. Y., & Kruk, I.** (2003). Enhancing effect of melatonin on chemiluminescence accompanying decomposition of hydrogen peroxide in the presence of copper. *Free Radical Biology and Medicine*, 34(12), 1544-1554.
- Kobayashi, M. & Sakamoto, Y.** (1999). Singlet oxygen quenching ability of astaxanthin esters from the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Biotechnology Letters*, 21(4), 265-269.
- Kocaçalışkan, İ.** (2008). *Bitki Fizyolojisi*. Nobel Yayın Dağıtım, Fen ve Biyoloji Yayınları Dizisi, 316.
- Kocsy, G., Tari, I., Vanková, R., Zechmann, B., Gulyás, Z., Poór, P., & Galiba, G.** (2013). Redox control of plant growth and development. *Plant Science*, 211, 77-91.
- Koffler, B. E., Luschin-Ebengreuth, N., Stabentheiner, E., Müller, M., & Zechmann, B.** (2014). Compartment specific response of antioxidants to drought stress in *Arabidopsis*. *Plant Science*, 227, 133-144.
- Kohen, R., & Nyska, A.** (2002). Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6), 620-650.
- Kolár, J., Macháčková, I., Eder, J., Prinsen, E., Van Dongen, W., Van Onckelen, H., & Illnerová, H.** (1997). Melatonin: occurrence and daily rhythm in *Chenopodium rubrum*. *Phytochemistry*, 44(8), 1407-1413.
- Kolodziejczyk, I., Dzitko, K., Szewczyk, R., & Posmyk, M. M.** (2016). Exogenous melatonin improves corn (*Zea mays* L.) embryo proteome in seeds subjected to chilling stress. *Journal of Plant Physiology* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2016.01.012>
- Konig, J., Muthuramalingam, M., & Dietz, K. J.** (2012). Mechanisms and dynamics in the thiol/disulfide redox regulatory network: transmitters, sensors and targets. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(3), 261-268.
- Kopáni, M., Celec, P., Danišovič, L., Michalka, P., & Biró, C.** (2006). Oxidative stress and electron spin resonance. *Clinica Chimica Acta*, 364(1-2), 61-66.
- Korkmaz, A., Değer, Ö., & Cuci, Y.** (2014). Profiling the melatonin content in organs of the pepper plant during different growth stages. *Scientia Horticulturae*, 172, 242-247.

- Korkmaz, A., Demir, Ö., Kocaçınar, F., & Cuci, Y.** (2016). Biber fidelerinde yaprakтан yapılan melatonin uygulamalarıyla üşüme stresine karşı toleransın artırılması. *Tarım ve Doga Dergisi*, 19(3), 348-354.
- Korkmaz, H., & Durmaz, A.** (2017). Bitkilerin abiyotik stres faktörlerine karşı geliştirilen cevaplar. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 192-207.
- Kostopoulou, Z., Therios, I., Roumeliotis, E., Kanellis, A. K., & Molassiotis, A.** (2015). Melatonin combined with ascorbic acid provides salt adaptation in *Citrus aurantium* L. seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 155-165.
- Kowitcharoen, L., Wongs-Aree, C., Setha, S., Komkhuntod, R., Srilaong, V., & Kondo, S.** (2015). Changes in abscisic acid and antioxidant activity in sugar apples under drought conditions. *Scientia Horticulturae*, 193, 1-6.
- Koyuncu, F., & Vural, E.** (2003). Karadut (*Morus nigra* L.) Ağacının Bazı Organ ve Dokularının Morfolojik Özellikleri. *Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu*, Ordu, 418-423.
- Köşkeroğlu, S.** (2006). *Tuz ve Su Stresi Altındaki Mısır (Zea mays L.) Bitkisinde Prolin Birikim Düzeyleri ve Stres Parametrelerinin Arastırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Muğla.
- Krinsky, N. I.** (1998). The Antioxidant and Biological Properties of the Carotenoids a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 854(1), 443-447.
- Kumar-Patel, P., A. Hemantaranjan, A., Sarma, B.K., & Singh, R.** (2011). Cicer arietinum L.) as Sustained by Salicylic Acid. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7, 130-144.
- Kuşvuran, Ş.** (2012). Effects of Drought and Salt Stresses on Growth, Stomatal Conductance, Leaf Water and Osmotic Potentials of Melon Genotypes (*Cucumis melo* L.). *African Journal of Agricultural Research*, 7, 775-781.
- Kutlu, İ.** (2010). Tahıllarda Kuraklık Stresi. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 3(1), 35-41.
- Leon, A.M., Palma, J.M., Corpas, F.J., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C., Chatterjee, D., Mateos, R.M., del Rio, L.A., & Sandalio, L.M.** (2002). Antioxidant Enzymes in Cultivars of pepper Plants with Different Sensitivity to Cadmium. *Plant Physiology Biochemicals*, 40, 813-820.
- Leon, J., Acuña-Castroviejo, D., Escames, G., Tan, D. X., & Reiter, R. J.** (2005). Melatonin mitigates mitochondrial malfunction. *Journal of Pineal Research*, 38(1), 1-9.
- Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., & Mori, W.** (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. *Journal of the American Chemical Society*, 80(10), 2587-2587.
- Levitt, J.** (1980). *Responses of Plants to Environmental Stress*, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. Academic Press.
- Li, C., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., Jia, D., Fu, M., & Ma, F.** (2012). The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. *Journal of Pineal Research*, 53(3), 298-306.

- Li, L., Liu, Y., Liu, Y., He, B., Wang, M., Yu, C., & Weng, M.** (2015). Physiological response and resistance of three cultivars of *Acer rubrum* L. to continuous drought stress. *Acta Ecologica Sinica*, 35(6), 196-202.
- Liang, D., Shen, Y., Ni, Z., Wang, Q., Lei, Z., Xu, N., Deng, Q., Lin, L., Wang, J., Lv, X., & Xia, H.** (2018). Exogenous melatonin application delays senescence of kiwifruit leaves by regulating the antioxidant capacity and biosynthesis of flavonoids. *Frontiers in Plant Science*, 9, 426.
- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R.** (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Botanisches Institut der Universität, Kaiserstrasse 12, Postfach, 591-592*.
- Lin, Y., Fan, L., Xia, X., Wang, Z., Yin, Y., Cheng, Y., & Li, Z.** (2019). Melatonin decreases resistance to postharvest green mold on citrus fruit by scavenging defense-related reactive oxygen species. *Postharvest Biology and Technology*, 153, 21-30.
- Li-Ping, B. A. I., Fang-Gong, S. U. I., Ti-Da, G. E., Zhao-Hui, S. U. N., Yin-Yan, L. U., & Guang-Sheng, Z. H. O. U.** (2006). Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. *Pedosphere*, 16(3), 326-332.
- Liu, F., & Stützel, H.** (2004). Biomass partitioning, specific leaf area, and water use efficiency of vegetable amaranth (*Amaranthus* spp.) in response to drought stress. *Scientia Horticulturae*, 102(1), 15-27.
- Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z., & Liang, Z.** (2011). Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 84-88.
- Liu, C., Wang, Y., Pan, K., Li, W., Zhang, L., & Shen X.** (2014a). Responses of antioxidant defense system to drought stress in the leaves of *Fargesia denudata* seedlings, the staple food on the Giant Panda. *Russ. J. Plant Physiol.* 3 374–383.
- Liu, R., Shi, H., Wang, Y., Chen, S., Deng, J., Liu, Y., Li, S. & Chan, Z.** (2014b). Comparative physiological analysis of lotus (*Nelumbo nucifera*) cultivars in response to salt stress and cloning of NnCIPK genes. *Scientia Horticulturae*, 173, 29-36.
- Liu, N., Jin, Z., Wang, S., Gong, B., Wen, D., Wang, X., Wei, M., & Shi, Q.** (2015). Sodic alkaline stress mitigation with exogenous melatonin involves reactive oxygen metabolism and ion homeostasis in tomato. *Scientia Horticulturae*, 181, 18-25.
- Liu, X., Feng, H. Y., Fu, J. W., Chen, Y., Liu, Y., & Ma, L. Q.** (2018). Arsenic-induced nutrient uptake in As-hyperaccumulator *Pteris vittata* and their potential role to enhance plant growth. *Chemosphere*, 198, 425-431.
- Luck, H.** (1963). *Catalase: In: Methods of Enzymatic Analysis* edited by HU.
- Lukitaningsih, E., Rohman, A., Rafi, M., Nurrulhidayah, A.F., & Windarsih, A.** (2019). In vivo antioxidant activities of *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza*: a review. *Food Research*, 2550-2166



- Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J.** (1996). Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regulation*, 19(3), 207-218.
- MacAdam, J. W., Nelson, C. J., & Sharp, R. E.** (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872-878.
- Machii, H. Koyama, A., Yamanouchi, H., Matsumoto, K., Kobayashi, S., & Katagiri, K.** (2001). A list of morphological and agronomical traits of mulberry genetic resources. Misc. Publ. of the Natl. Inst. of Seric. *Entomol. Sci.*, 29, 70-185.
- Magdy, M., Mansour, M., & Farouk, E.** (2017). Evaluation of proline functions in saline conditions. *Phytochemistry* 140, 52–68.
- Malar, S., Vikram, S.S., Favas, P.J.C., & Perumal, V.** (2014). lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. *Botany Student*, 8, 55-54.
- Maldonado, M. D., Murillo-Cabezas, F., Terron, M. P., Flores, L. J., Tan, D. X., Manchester, L. C., & Reiter, R. J.** (2007). The potential of melatonin in reducing morbidity–mortality after craniocerebral trauma. *Journal of Pineal Research*, 42(1), 1-11.
- Manchester, L. C., Tan, D. X., Reiter, R. J., Park, W., Monis, K., & Qi, W.** (2000). High levels of melatonin in the seeds of edible plants: possible function in germ tissue protection. *Life Sciences*, 67(25), 3023-3029.
- Mancosu, N., Snyder, R. L., Kyriakakis, G., & Spano, D.** (2015). Water scarcity and future challenges for food production. *Water*, 7(3), 975-992.
- Mansuroğlu, S., & Gürel E.** (2002). Mikroçoğaltım. (Edt.) M. Babaoğlu, E.Gürel, S. Özcan. *Bitki Biyoteknolojisi I – Doku Kültürü ve Uygulamaları*. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 374.
- Marshall, J. G., Rutledge, R. G., Blumwald, E., & Dumbroff, E. B.** (2000). Reduction in turgid water volume in jack pine, white spruce and black spruce in response to drought and paclobutrazol. *Tree Physiology*, 20(10), 701-707.
- Mateo, A., Funck, D., Mühlenbock, P., Kular, B., Mullineaux, P. M., & Karpinski, S.** (2006). Controlled levels of salicylic acid are required for optimal photosynthesis and redox homeostasis. *Journal of Experimental Botany*, 57(8), 1795-1807.
- McCord, J.M., & Fridovich, I.** (1969). Superoxide Dismutase: An Enzymic Function for Erythrocyte (Hemocyte). *J. Biol. Chem.*, 244: 22 6049– 6055.
- McKersie, B. D., & Lesheim, Y.** (1994). *Stress and stress coping in cultivated plants*. Springer Science & Business Media.
- Mengü, G. P., Anaç, S., & Özçakal, E.** (2011). Kuraklık yönetim stratejileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48(2), 175-181.
- Meyer, A. J.** (2008). The integration of glutathione homeostasis and redox signaling. *Journal of Plant Physiology*, 165(13), 1390-1403.

- Mhamdi, A., & Van Breusegem, F.** (2018). Reactive oxygen species in plant development. *Development*, 145(15).
- Miao, L., & Clair, D. K. S.** (2009). Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(4), 344-356.
- Michalak, A.** (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Pol. J. Environ. Stud.* 15, 523-530.
- Michel F. B.** (1983). Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes. *Plant Physiol.*, 72: 66-70.
- Mignolet-Spruyt, L., Xu, E., Idänheimo, N., Hoeberichts, F. A., Mühlenbock, P., Brosché, M., Van Breusegem, M., & Kangasjärvi, J.** (2016). Spreading the news: subcellular and organellar reactive oxygen species production and signalling. *Journal of Experimental Botany*, 67(13), 3831-3844.
- Millar, A. H., Mittova, V., Kiddle, G., Heazlewood, J. L., Bartoli, C. G., Theodoulou, F. L., & Foyer, C. H.** (2003). Control of ascorbate synthesis by respiration and its implications for stress responses. *Plant Physiology*, 133(2), 443-447.
- Miller, A. F.** (2012). Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS letters*, 586(5), 585-595.
- Mills, G. C.** (1957). Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J Biol Chem.*, 229(1):189-197.
- Mithofer, A., Schulze, B., & Boland, W.** (2004). Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. *FEBS Lett.* 566, 1-5.
- Mittler, R., & Zilinskas, B. A.** (1992). Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 267(30), 21802-21807.
- Mittler, R.** (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F.** (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10), 490-498.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G. A. D., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V., & Van Breusegem, F.** (2011). ROS signaling: the new wave?. *Trends in Plant Science*, 16(6), 300-309.
- Mittler, R., & Blumwald, E.** (2015). The roles of ROS and ABA in systemic acquired acclimation. *The Plant Cell*, 27(1), 64-70.
- Mittler, R.** (2017). ROS are good. *Trends in Plant Science*, 22(1), 11-19.
- Monneveux, P., Ramírez, D. A., & Pino, M. T.** (2013). Drought tolerance in potato (*S. tuberosum* L.): Can we learn from drought tolerance research in cereals?. *Plant Science*, 205, 76-86.

- Moussa, H. R., & Abdel-Aziz, S. M.** (2008). Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crop Science*, 1(1), 31-36.
- Moustafa-Farag, M., Almoneafy, A., Mahmoud, A., Elkelish, A., Arnao, M. B., Li, L., & Ai, S.** (2020). Melatonin and its protective role against biotic stress impacts on plants. *Biomolecules*, 10(1), 54.
- Mueller, A., Volmer, K., Mishra-Knyrim, M., & Polle, A.** (2013). Growing poplars for research with and without mycorrhizas. *Front. Plant Sci.* 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00332>.
- Murashige, T., & Skoog, F.** (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-479.
- Murch, S. J., & Simmons, C. B.** (1997). Melatonin in feverfew and other medicinal plants. *The Lancet*, 350(9091), 1598-1599.
- Murch, S. J., & Saxena, P. K.** (2002). Melatonin: a potential regulator of plant growth and development?. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 38(6), 531-536.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., & Radwell, V.W.** (1993). *Harper'in Biyokimyası*.
- Mytilineou, C., Kramer, B. C., & Yabut, J. A.** (2002). Glutathione depletion and oxidative stress. *Parkinsonism & Related Disorders*, 8(6), 385-387.
- Nabaei, M., & Amooaghaie, R.** (2019a). Melatonin and nitric oxide enhance cadmium tolerance and phytoremediation efficiency in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(7), 6981-6994.
- Nabaei, M., & Amooaghaie, R.** (2019b). Nitric oxide is involved in the regulation of melatonin-induced antioxidant responses in *Catharanthus roseus* roots under cadmium stress. *Botany*, 97(12), 681-690.
- Nakano, Y., & Asada, K.** (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Namitha, K.K., & Negi, P.S.** (2010). Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(8), 728-760.
- Nas, M. N., & Read, P.E.** (2004). Hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. *Sci. Hortic.* 101: 189-200.
- Nawaz, M. A., Jiao, Y., Chen, C., Shireen, F., Zheng, Z., Imtiaz, M., Bie, Z., & Huang, Y.** (2018). Melatonin pretreatment improves vanadium stress tolerance of watermelon seedlings by reducing vanadium concentration in the leaves and regulating melatonin biosynthesis and antioxidant-related gene expression. *Journal of Plant Physiology*, 220, 115-127.
- Nayyar, H., & Gupta, D.** (2006). Differential Sensitivity of C3 and C4 Plants to Water Deficit Stress: Association with Oxidative Stress and Antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 106-113.

- Neves, D.M., Santana-Vieira, D.D.S., Doria, M.S., Freschi, L., Ferreira, C.F., Soares-Filho, W.D.S., Costa, M.G.C., Coelho-Filho, M.A., Micheli, F., & Gesteria, A.D.S.** (2018). Recurrent Water Deficit Causes Alterations in the Profile of Redox Proteins in Citrus Plants. *Plant Physiology Biochemicals*, 132, 497-507.
- Nie, W., Gong, B., Chen, Y., Wang, J., Wei, M., & Shi, Q.** (2018). Photosynthetic capacity, ion homeostasis and reactive oxygen metabolism were involved in exogenous salicylic acid increasing cucumber seedlings tolerance to alkaline stress. *Scientia Horticulturae*, 235, 413-423.
- Nistor, A., Cioloca, M., Chiru, N., & Popa, M.** (2014). In vitro response to drought tolerance for different potato varieties. *Analele Universității din Oradea, Fascicula: Protecția Mediului*, 23, 257-262.
- Noctor, G., & Foyer, C. H.** (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Biology*, 49(1), 249-279.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Driscoll, S., Novitskaya, L., & Foyer, C. H.** (2002). Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration?. *Annals of Botany*, 89(7), 841-850.
- Noctor, G., Mhamdi, A., & Foyer, C. H.** (2014). The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiology*, 164(4), 1636-1648.
- Noctor, G., & Foyer, C. H.** (2016). Intracellular redox compartmentation and ROS-related communication in regulation and signaling. *Plant Physiology*, 171(3), 1581-1592.
- Noriega, G. O., Balestrasse, K. B., Batlle, A., & Tomaro, M. L.** (2007). Cadmium induced oxidative stress in soybean plants also by the accumulation of  $\delta$ -aminolevulinic acid. *Biometals*, 20(6), 841-851.
- Obata, T., Witt, S., Lisec, J., Palacios-Rojas, N., Florez-Sarasa, I., Yousfi, S., Araus, J.L., Cairns, J.E., & Fernie, A. R.** (2015). Metabolite profiles of maize leaves in drought, heat, and combined stress field trials reveal the relationship between metabolism and grain yield. *Plant Physiology*, 169(4), 2665-2683.
- Ohashi, Y., Nakayama, N., Saneoka, H., & Fujita, K.** (2006). Effects of drought stress on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and stem diameter of soybean plants. *Biologia Plantarum*, 50(1), 138-141.
- Oki, T., & Kanae, S.** (2006). Global hydrological cycles and world water resources. *Science*, 313(5790), 1068-1072.
- Okunlola, G. O., Olatunji, O. A., Akinwale, R. O., Tariq, A., & Adelus, A. A.** (2017). Physiological response of the three most cultivated pepper species (*Capsicum* spp.) in Africa to drought stress imposed at three stages of growth and development. *Scientia Horticulturae*, 224, 198-205.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., & Tran, L. S. P.** (2014). Response of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science*, 5, 86.
- Ozgun, R., Turkan, I., Uzilday, B., & Sekmen, A. H.** (2014). Endoplasmic reticulum stress triggers ROS signalling, changes the redox state, and regulates the antioxidant defence of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 1377-1390.

- Ozyigit, I. I., Filiz, E., Vatansever, R., Kurtoglu, K. Y., Koc, I., Öztürk, M. X., & Anjum, N. A.** (2016). Identification and comparative analysis of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-scavenging enzymes (ascorbate peroxidase and glutathione peroxidase) in selected plants employing bioinformatics approaches. *Frontiers in Plant Science*, 7, 301.
- Özaslan, M. S., Demir, Y., Aksoy, M., Küfrevioğlu, Ö. I., & Beydemir, Ş.** (2018). Inhibition effects of pesticides on glutathione-S-transferase enzyme activity of Van Lake fish liver. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(9), e22196.
- Özfidaner, M., Şapolyo, D., & Topaloğlu, F.** (2018). Seyhan havzası akım verilerinin hidrolojik kuraklık analizi. *Toprak Su Dergisi*, 7(1), 57-64.
- Özkaynak, E., & Şimşek, T.** (2018). İleri Patates Hatlarının Kuraklık Toleransının *In Vitro* Koşullarda Belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 55(2), 237-243.
- Özkul, M.** (2014). *Urmu Dutunun (Morus nigra L.) İn Vitro Mikroçoğaltımı*. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Özmen, S.** (2009). *Çukurova koşullarında aşılı ve aşısız karpuzlarda farklı su düzeylerinin bitki gelişmesi, verim ve kalite üzerine etkileri*. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Ents., Adana.
- Öztürk, A. M., & Seçmen, Ö.** (1992). *Bitki Ekolojisi*, Ege Üniv. Fen Fak. Yay, (142).
- Pan, L., Meng, C., Wang, J., Ma, X., Fan, X., Yang, Z., Zhou, M., & Zhang, X.** (2018). Integrated Omics Data of Two Annual Ryegrass (*Lolium Multiflorum* L.) Genotypes Reveals Core Metabolic Processes under Drought Stress. *Plant Biology*, 18, 1-18.
- Pandey, V., Ranjan, S., Deeba, F., Pandey, A. K., Singh, R., Shirke, P. A., & Pathre, U. V.** (2010). Desiccation-induced physiological and biochemical changes in resurrection plant, *Selaginella bryopteris*. *Journal of Plant Physiology*, 167(16), 1351-1359.
- Pandey, N., Iqbal, Z., Pandey, B. K., & Sawant, S. V.** (2017). *Phytohormones and drought stress: plant responses to transcriptional regulation. Mechanism of plant hormone signaling under stress*, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, United States, 477–504.
- Pang, J., Zhang, F. L., Hao, L. Z., Yang, Z. R., & Zhao, P.** (2013). The response of active oxygen species and ascorbic acid in *Pugionium cornutum* (L.) Gaertn. leaves to drought stress. *Plant Physiol. J.*, 49, 57–62.
- Papalia, T., Panuccio, M. R., Sidari, M., & Muscolo, A.** (2018). *Reactive oxygen species and antioxidant enzymatic systems in plants: role and methods*. In *Advances in Plant Ecophysiology Techniques* (177-193). Springer, Cham.
- Paredes, S. D., Korkmaz, A., Manchester, L. C., Tan, D. X., & Reiter, R. J.** (2009). Phyto-melatonin: a review. *Journal of Experimental Botany*, 60(1), 57-69.
- Patel, P. K., Hemantaranjan, A., Sarma, B. K., & Radha, S.** (2011). Growth and antioxidant system under drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) as

sustained by salicylic acid. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(4).

- Pattnaik, S.K., & Chand, P. K.** (1997). Rapid clonal propagation of three mulberries, *Morus cathayana* HemsL, *M. lhou* Koiz. and *M. serrata* Roxb., through *in vitro* culture of apical shoot buds and nodal explants from mature trees. *Plant Cell Reports*, 16(7), 503-508.
- Perez-Clemente, R.M., Montoliu, A., Zandalinas, S.I., de Ollas, C., & GómezCadenas, A.** (2012). Carrizo Citrange Plants do not Require The Presence of Roots to Modulate the Response to Osmotic Stress. *Scientific World Journal*, 795396, 1-13.
- Peters, J. L., Castillo, F. J., & Heath, R. L.** (1989). Alteration of extracellular enzymes in pinto bean leaves upon exposure to air pollutants, ozone and sulfur dioxide. *Plant Physiology*, 89(1), 159-164.
- Pıtır, M.** (2015). *Biber Yetiştiriciliğinde Farklı Su Kısıtlarının Meydana Getirdiği Fizyolojik, Morfolojik Ve Kimyasal Değişikliklerin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Namm Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Poeggeler, B., & Hardeland, R.** (1994). Detection and quantification of melatonin in a dinoflagellate, *Gonyaulax polyedra*: Solutions to the problem of methoxyindole destruction in non-vertebrate material. *Journal of Pineal Research*, 17(1), 1-10.
- Poeggeler, B., Thuermann, S., Dose, A., Schoenke, M., Burkhardt, S., & Hardeland, R.** (2002). Melatonin's unique radical scavenging properties—roles of its functional substituents as revealed by a comparison with its structural analogs. *Journal of Pineal Research*, 33(1), 20-30.
- Pool, R. J.** (1966). Handbook of Nebraska Trees. *Nebraska Conservation Bulletin*, 32, p. 179, Lincoln.
- Posmyk, M. M., Kuran, H., Marciniak, K., & Janas, K. M.** (2008). Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. *Journal of Pineal Research*, 45(1), 24-31.
- Posmyk, M. M., Balabusta, M., Wiczorek, M., Sliwiska, E., & Janas, K. M.** (2009). Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research*, 46(2), 214-223.
- Posmyk, M. M., & Janas, K. M.** (2009). Melatonin in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(1), 1.
- Pothinuch, P., & Tongchitpakdee, S.** (2011). Melatonin contents in mulberry (*Morus* spp.) leaves: Effects of sample preparation, cultivar, leaf age and tea processing. *Food Chemistry* 128, 415–419.
- Price, A., Lucas, P. W., & Lea, P. J.** (1990). Age dependent damage and glutathione metabolism in ozone fumigated barley: a leaf section approach. *Journal of Experimental Botany*, 41(10), 1309-1317.
- Qiao, Y., Yin, L., Wang, B., Ke, Q., Deng, X., & Wang, S.** (2019). Melatonin promotes plant growth by increasing nitrogen uptake and assimilation under nitrogen

deficient condition in winter wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 342-349.

- Qiu, Z., Guo, J., Zhu, A., Zhang, L., & Zhang, M.** (2014). Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicology and environmental safety*, 104, 202-208.
- Raman, V., & Ravi, S.** (2011). Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on antioxidant systems of *Haematococcus pluvialis*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 1043-1049.
- Ramanjulu, S., & Sudhakar, C.** (2000). Proline metabolism during dehydration in two mulberry genotypes with contrasting drought tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 157(1), 81-85.
- Rangani, J., Panda, A., Patel, M., & Parida, A.K.** (2018). Regulation of ROS through Proficient Modulations of Antioxidative Defense System Maintains the Structural and Functional Integrity of Photosynthetic Apparatus and Confers Drought Tolerance in the Facultative Halophyte *Salvadora persica* L. *Journal of Photochemistry & Photobiology*, 189, 214-233.
- Rasool, S., Ahmad, A., Siddiqi, T. O., & Ahmad, P.** (2013). Changes in growth, lipid peroxidation and some key antioxidant enzymes in chickpea genotypes under salt stress. *Acta physiologiae plantarum*, 35(4), 1039-1050.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., & Sundar, D.** (2000). Water stress-mediated changes in antioxidant enzyme activities of mulberry (*Morus alba* L.). *The Journal of Sericultural Science of Japan*, 69(3), 169-175.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V., Jutur, P. P., & Sumithra, K.** (2004). Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 52(1), 33-42.
- Reiter, R. J.** (1991). Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine reviews*, 12(2), 151-180.
- Reiter, R. J.** (1999). Phytochemicals: melatonin. *Encyclopedia of food science and technology*, 1918-1922.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Burkhardt, S., & Manchester, L. C.** (2001). Melatonin in plants. *Nutrition Reviews*, 59(9), 286-290.
- Reiter, R. J., & Tan, D. X.** (2002). Melatonin: an antioxidant in edible plants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957(1), 341-344.
- Reiter, R. J., Manchester, L. C., & Tan, D. X.** (2005). Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition*, 21(9), 920-924.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Manchester, L. C., Simopoulos, A. P., Maldonado, M. D., Flores, L. J., & Terron, M. P.** (2007). Melatonin in edible plants (phytomelatonin): identification, concentrations, bioavailability and proposed functions. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 97, 211-230.
- Reiter, R. J., Tan, D. X., Zhou, Z., Cruz, M. H. C., Fuentes-Broto, L., & Galano, A.** (2015). Phytomelatonin: assisting plants to survive and thrive. *Molecules*, 20(4), 7396-7437.

- Ren, J., Sun, L.N., Zhang, Q. Y., & Song, X.S.** (2016). Drought tolerance is correlated with the activity of antioxidant enzymes in *Cerasus humilis* seedlings. *Biomed Research International*, 9, 1-17.
- Rhodes, E. R., Jalloh, A., & Diouf, A.** (2014). Review of research and policies for climate change adaptation in the agriculture sector in West Africa. *Future Agricultures Working Paper*, 90.
- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G.** (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152-159.
- Robinson, J. M., & Bunce, J. A.** (2000). Influence of drought-induced water stress on soybean and spinach leaf ascorbate-dehydroascorbate level and redox status. *International Journal of Plant Sciences*, 161(2), 271-279.
- Rocha, S., Gomes, D., Lima, M., Bronze-da-Rocha, E., & Santos-Silva, A.** (2015). Peroxiredoxin 2, glutathione peroxidase, and catalase in the cytosol and membrane of erythrocytes under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress. *Free Radical Research*, 49(8), 990-1003.
- Rodriguez, C., Mayo, J. C., Sainz, R. M., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., & Reiter, R. J.** (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36(1), 1-9.
- Roger, J. P.** (2002). *Description of Mulberry Tree*, Conservatoire Botanique National Méditerranéen de Porquerolles-France. 5 p.
- Ronald, P.** (2011). Plant genetics, sustainable agriculture and global food security. *Genetics*, 188(1), 11-20.
- Rostami, A. A., & Rahemi, M.** (2013). Responses of caprifig genotypes to water stress and recovery. *Journal of Biological & Environmental Sciences*, 7(21), 131-139.
- Rougemont, G. M. D.** (1989). *Field guide to the crops of Britain and Europe*. Collins.
- Rouhi, V., Samson, R., Van Damme, P., & Lemeur, R.** (2004). Effects of drought stress induced by PEG 6000 on leaf water status of one domestic (*Amygdalus dulcis*) and two wild almond (*A. lycioides* and *A. scoparia*) species. *Commun Agric. Appl. Biol. Sci.*, 69(2): 239-41.
- Rouhi, V., Samson, R., Lemeur, R., & Van Damme, P.** (2006). Stomatal resistance under drought stress conditions induced by PEG 6000 on wild almond. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 71(1), 269.
- Rugini, E., & Verma, D.C.** (1983). Micropropagation of difficult-to-propagate almond (*Prunus amygdalus*, Batsch) cultivar. *Plant Science Letters*, 28(3), 273-281.
- Sairam, R. K., & Saxena, D. C.** (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184(1), 55-61.
- Salisbury, F. B., & Ross, C. W.** (1992). *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Co. Inc. California.
- Sanchez, F. J., De Andres, E. F., Tenorio, J. L., & Ayerbe, L.** (2004). Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress. *Field Crops Research*, 86(1), 81-90.



- Sandalio, L. M., & Romero-Puertas, M. C.** (2015). Peroxisomes sense and respond to environmental cues by regulating ROS and RNS signalling networks. *Annals of Botany*, 116(4), 475-485.
- Sandermann, H.** (2004). Scaling up from molecular to ecological processes. In *Molecular Ecotoxicology of Plants*, 207-226. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Santos, C. V.** (2004). Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae*, 103(1), 93-99.
- Sarafi, E., Tsouvaltzis, P., Chatzissavvidis, C., Siomos, A., & Therios, I.** (2017). Melatonin and resveratrol reverse the toxic effect of high boron (B) and modulate biochemical parameters in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 112, 173-182.
- Sarker, U., & Oba, S.** (2018). Drought stress effects on growth, ROS markers, compatible solutes, phenolics, flavonoids, and antioxidant activity in *Amaranthus tricolor*. *Applied Biochemistry and biotechnology*, 186(4), 999-1016.
- Sarropoulou, V., Dimassi-Theriou, K., Therios, I., & Koukourikou-Petridou, M.** (2012). Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium*×*Prunus cerasus*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 61, 162-168.
- Sayyari, M., & Ghanbari, F.** (2012). Effects of super absorbent polymer A200 on the growth, yield and some physiological responses in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) under various irrigation regimes. *International Journal of Agricultural and Food Research*, 1(1).
- Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., & Rice-Evans, C.** (2002). MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiology of Aging*, 23(5), 861-880.
- Sekhar, K. M., Reddy, K. S., & Reddy, A. R.** (2017). Amelioration of drought-induced negative responses by elevated CO<sub>2</sub> in field grown short rotation coppice mulberry (*Morus* spp.), a potential bio-energy tree crop. *Photosynthesis Research*, 132(2), 151-164.
- Shakir, S.K., İrfan, S., Akhtar, B., Rehman, S.U., Daud, M.K., Nadia Taimur, N., & Azizullah, A.** (2018). Pesticide-Induced Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Seedlings. *Ecotoxicology*, 27, 919–935.
- Shan, C., & Liang, Z.** (2010). Jasmonic acid regulates ascorbate and glutathione metabolism in *Agropyron cristatum* leaves under water stress. *Plant Science*, 178(2), 130-139.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M.** (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany*, 2012.
- Sharma, A., Wang, J., Xu, D., Tao, S., Chong, S., Yan, D., Li, Z., Yuan, H., & Zheng, B.** (2020). Melatonin regulates the functional components of photosynthesis, antioxidant system, gene expression, and metabolic pathways to induce drought resistance in grafted *Carya cathayensis* plants. *Science of The Total Environment*, 713, 136675.

- Shehab, G. M. G., Ahmed, O. K., & El-Beltagi, H. S.** (2010). Nitric oxide treatment alleviates drought stress in rice plants (*Oryza sativa*). *Not Bot Horti Agrobo*, 38(1), 139-148.
- Shen, X., Zhou, Y., Duan, L., Li, Z., Eneji, A. E., & Li, J.** (2010). Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and ultraviolet-B radiation. *Journal of Plant Physiology*, 167(15), 1248-1252.
- Shereefa, L. A. H., & Kumaraswamy, M.** (2016). Reactive oxygen species and ascorbate–glutathione interplay in signaling and stress responses in *Sesamum orientale* L. against *Alternaria sesami* (Kawamura) Mohanty and Behera. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15(1), 48-56.
- Sherwood, S. C., Alexander, M. J., Brown, A. R., McFarlane, N. A., Gerber, E. P., Feingold, G., Scaife, A. A., & Grabowski, W. W.** (2013). *Climate processes: clouds, aerosols and dynamics*. In *Climate Science for Serving Society*, 73-103. Springer, Dordrecht.
- Shi, H., Wang, Y., Cheng, Z., Ye, T., & Chan, Z.** (2012). Analysis of Natural Variation in Bermudagrass (*Cynodon dactylon*) Reveals Physiological Responses Underlying Drought Tolerance. *Plos One*, 7, 1-12.
- Shi, H., Jiang, C., Ye, T., Tan, D. X., Reiter, R. J., Zhang, H., Liu, R., & Chan, Z.** (2015). Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L). Pers.] by exogenous melatonin. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 681-694.
- Siefermann-Harms, D.** (1987). The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiologia Plantarum*, 69(3), 561-568.
- Singh, S., Anjum, N.A., Khan, N.A., & Nazar, R.** (2008). *Metal-Binding Peptides and Antioxidant Defence System in Plants: Significance in Cadmium Tolerance. Abiotic Stress and Plant Responses*, 159-189. Springer.
- Sivritepe, N., Erturk, U., Yerlikaya, C., Turkan, I., Bor, M., & Ozdemir, F.** (2008). Response of the cherry rootstock to water stress induced in vitro. *Biologia Plantarum*, 52(3), 573.
- Skorzynska-Polit, E., Drazkiewicz, M., & Krupa, Z.** (2004). The activity of the antioxidative system in cadmium-treated *Arabidopsis thaliana*. *Biol Plant* 47: 71–78.
- Slatyer, R. O.** (1967). *Plant water relationships*. London and New York.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L.** (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
- Śliwinski, T., Rozej, W., Morawiec-Bajda, A., Morawiec, Z., Reiter, R., & Blasiak, J.** (2007). Protective action of melatonin against oxidative DNA damage—chemical inactivation versus base-excision repair. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 634(1-2), 220-227.

- Smirnoff, N., & Cumbes, Q. J.** (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28(4), 1057-1060.
- Smirnoff, N.** (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125(1), 27-58
- Smirnoff, N.** (2000). Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology*, 3(3), 229-235.
- Soares, C., Carvalho, M. E., Azevedo, R. A., & Fidalgo, F.** (2018). Plants facing oxidative challenges—A little help from the antioxidant networks. *Environmental and Experimental Botany*, 161, 4-25.
- Soengas, P., Rodríguez, V. M., Velasco, P., & Cartea, M. E.** (2018). Effect of temperature stress on antioxidant defenses in *Brassica oleracea*. *ACS omega*, 3(5), 5237-5243.
- Stewart, N.** (2016). *Bitki Biyoteknolojisi ve Genetik İlkeler, Teknikler ve Uygulamalar* (Çev. H.A. Öktem, M.Yücel). Nobel Akademik Yayıncılık. (orijinal yayın tarihi 2008).
- Strange, R.N., & Scott P.R.** (2005). Plant disease: a threat to global food security, *Annu. Rev. Phytopathol.* 43 83–116.
- Su, X., We, F., Huo, Y., & Xia, Z.** (2017). Comparative Physiological and Molecular Analyses of Two Contrasting Flue-Cured Tobacco Genotypes under Progressive drought Stress. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-13.
- Szabados, L., & Savoure, A.** (2009). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, 15(2), 89-97.
- Şahin B.** (2016) *Küresel Bir Sorun, Su kıtlığı ve Sanal Su Ticareti*. Yüksek Lisans Tezi, Çorum Hitit Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Çorum.
- Şengül, E.** (2012). *Karadutun (Morus nigra L.) in vitro çoğaltımı*. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Şirin, E.** (2014). *Kaman 1 Ve Kaman 5 Ceviz Çeşitlerinin (Juglans regia L.) Mikroçoğaltımı*. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Üniversitesi, Tokat.
- Tabachnik, L., & Kester, D.E.** (1977). Shoot culture for almond and almond-peach hybrid clones in vitro. *HortScience* 12, 545–547.
- Tábori, K.M., Hanász, A., Drienyovszki, N. M., Zsombik, L., & Dobránszki, J.** (2017). Study of osmotic stress tolerance of potato breeding clones in vitro shoot cultures. *20th EAPR Triennial Conference*. 9-14 July 2017, Paris, France, p.98.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. S.** (2019). *Bitki fizyolojisi ve gelişimi* (Çev. İ. Türkan). Palme yayınevi. (orijinal yayın tarihi 2015).
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Di Mascio, P., Martinez, G. R., Prado, F. M., & Reiter, R. J.** (2007a). Novel rhythms of N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine and its precursor melatonin in water hyacinth: importance for phytoremediation. *The FASEB Journal*, 21(8), 1724-1729.
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Terron, M. P., Flores, L. J., & Reiter, R. J.** (2007b). One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with

reactive oxygen and nitrogen species?. *Journal of Pineal Research*, 42(1), 28-42.

- Tan, D. X., Hardeland, R., Manchester, L. C., Korkmaz, A., Ma, S., Rosales-Corral, S., & Reiter, R. J.** (2012). Functional roles of melatonin in plants, and perspectives in nutritional and agricultural science. *Journal of Experimental Botany*, 63(2), 577-597.
- Tan, D. X., Manchester, L. C., Esteban-Zubero, E., Zhou, Z., & Reiter, R. J.** (2015). Melatonin as a potent and inducible endogenous antioxidant: synthesis and metabolism. *Molecules*, 20(10), 18886-18906.
- Tas, S., & Tas, B.** (2007). Some physiological responses of drought stress in wheat genotypes with different ploidity in Turkiye. *World J. Agric. Sci*, 3(2), 178-183.
- Tausz, M., Šircelj, H., & Grill, D.** (2004). The glutathione system as a stress marker in plant ecophysiology: is a stress-response concept valid?. *Journal of Experimental Botany*, 55(404), 1955-1962.
- Teixeira, A., Morfim, M. P., de Cordova, C. A., Charão, C. C., de Lima, V. R., & Crezynski-Pasa, T. B.** (2003). Melatonin protects against pro-oxidant enzymes and reduces lipid peroxidation in distinct membranes induced by the hydroxyl and ascorbyl radicals and by peroxyxynitrite. *Journal of Pineal Research*, 35(4), 262-268.
- Terrón, M. P., Marchena, J. M., Shadi, F., Harvey, S., Lea, R. W., & Rodríguez, A. B.** (2001). Melatonin: an antioxidant at physiological concentrations. *Journal of Pineal Research*, 31(1), 95-96.
- Tettamanti, C., Cerabolini, B., Gerola, P., & Conti, A.** (2000). Melatonin identification in medicinal plants. *Acta Phytotherapeutica*, 3(3), 137-144.
- Tewari, R. K., Kumar, P., & Sharma, P. N.** (2006). Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants. *Planta*, 223(6), 1145-1153.
- Tiryaki, İ.** (2016). Yoncada (*Medicago sativa* L.) Kuraklık Stresi ve Tolerantlık Mekanizması. *Tarım ve Doga Dergisi*, 19(3), 296.
- Trivedi, D., Gill, S. S., Yadav, S., & Tuteja, N.** (2013). Genome-wide analysis of glutathione reductase (GR) genes from rice and Arabidopsis. *Plant Signal Behav* 8: e23021.
- Turkan, F., Huyut, Z., Demir, Y., Ertaş, F., & Beydemir, Ş.** (2019). The effects of some cephalosporins on acetylcholinesterase and glutathione S-transferase: an in vivo and in vitro study. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 125(3), 235-243.
- Türk, H., & Genisel, M.** (2020). Melatonin-related mitochondrial respiration responses are associated with growth promotion and cold tolerance in plants. *Cryobiology*, 92, 76-85.
- Türkan, İ.** (2002). *Oksidatif Stres ve Bitkilerde Antioksidant Savunma Sistemleri. Biyolojik Bilimlerde Araştırma Yöntemleri*. Ege Üniversitesi Ege Üniversitesi Basımevi: 193.

- Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F., & Koca, H.** (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168(1), 223-231.
- Upadhyaya, H., Khan, M. H., & Panda, S. K.** (2007). Hydrogen peroxide induces oxidative stress in detached leaves of *Oryza sativa* L. *Gen Appl Plant Physiol*, 33(1-2), 83-95.
- USİAD.** (2010). *Su Kaynakları Bakanlığı Kuruluş Kanunu Tasarı Taslağı Önerisi*. Ulusal Sanayici ve İşadamları Derneği (USİAD), Ada Strateji, Ankara, 124s.
- Ünyayar, S., & Çekiç, F. Ö.** (2005). Changes in antioxidative enzymes of young and mature leaves of tomato seedlings under drought stress. *Turkish Journal of Biology*, 29(4), 211-216.
- Vaahtera, L., Brosché, M., Wrzaczek, M., & Kangasjärvi, J.** (2014). Specificity in ROS signaling and transcript signatures. *Antioxidants & redox signaling*, 21(9), 1422-1441.
- Van Tassel, D. L., Roberts, N., Lewy, A., & O'Neill, S. D.** (2001). Melatonin in plant organs. *Journal of Pineal Research*, 31(1), 8-15.
- Vandenabeele, S., Vanderauwera, S., Vuylsteke, M., Rombauts, S., Langebartels, C., Seidlitz, H. K., Zabeau, M., Van Montagu, M., Inze, D., & Van Breusegem, F.** (2004). Catalase deficiency drastically affects gene expression induced by high light in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 39(1), 45-58.
- Verdan, A. M., Wang, H.C., García, C. R., Henry, W. P., & Brumaghim, J. L.** (2011). Iron binding of 3-hydroxychromone, 5-hydroxychromone, and sulfonated morin: implications for the antioxidant activity of flavonols with competing metal binding sites. *J. Inorg. Biochem.* 105, 1314–1322.
- Vijayan, K., Tikader, A., Weiguo, Z., Nair, C. V., Ercisli, S., & Tsou, C. H.** (2011). *Morus*. In *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*, 75-95. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Vijayan, K., Srivastava, P. P., Raju, P .J., & Saratchandra, B.** (2012). Breeding for higher productivity in mulberry, *Czech J. Genet. Plant Breed.* 48:147-156.
- Wang, J., Zhang, H., & Allen, R. D.** (1999). Overexpression of an Arabidopsis peroxisomal ascorbate peroxidase gene in tobacco increases protection against oxidative stress. *Plant and Cell Physiology*, 40(7), 725-732.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., & Altman, A.** (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science*, 9(5), 244-252.
- Wang, C., Lu, J., Zhang, S., Wang, P., Hou, J., & Qian, J.** (2011). Effects of Pb stress on nutrient uptake and secondary metabolism in submerged macrophyte *Vallisneria natans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(5), 1297-1303.
- Wang, Y., Reiter, R. J., & Chan, Z.** (2017). Phytomelatonin: a universal abiotic stress regulator. *Journal of Experimental Botany*, 69(5), 963-974.

- Wang, Y., Gao, S., He, X., Li, Y., Li, P., Zhang, Y., & Chen, W. (2019). Growth, secondary metabolites and enzyme activity responses of two edible fern species to drought stress and rehydration in Northeast China. *Agronomy*, 9(3), 137.
- Wei, Z., Gao, T., Liang, B., Zhao, Q., Ma, F., & Li, C. (2018). Effects of exogenous melatonin on methyl viologen-mediated oxidative stress in apple leaf. *International journal of Molecular Sciences*, 19(1), 316.
- Wolf, K., Kolář, J., Witters, E., van Dongen, W., van Onckelen, H., & Macháčková, I. (2001). Daily profile of melatonin levels in *Chenopodium rubrum* L. depends on photoperiod. *Journal of Plant Physiology*, 158(11), 1491-1493.
- Xalxo, R., & Keshavkant, S. (2019). Melatonin, glutathione and thiourea attenuates lead and acid rain-induced deleterious responses by regulating gene expression of antioxidants in *Trigonella foenum graecum* L. *Chemosphere*, 221, 1-10.
- Xia, H., Shen, Y., Shen, T., Wang, X., Zhang, X., Hu, P., & Deng, Q. (2020). Melatonin accumulation in sweet cherry and its influence on fruit quality and antioxidant properties. *Molecules*, 25(3), 753.
- Xiang, C., Werner, B. L., E'Lise, M. C., & Oliver, D. J. (2001). The biological functions of glutathione revisited in *Arabidopsis* transgenic plants with altered glutathione levels. *Plant Physiology*, 126(2), 564-574.
- Xu, X. D., Sun, Y., Guao, X., Sun, B., & Zhang, J. (2010). Effects of exogenous melatonin on ascorbate metabolism system in cucumber seedlings under high temperature stress. *Yingyong Shengtai Xuebao*, 21(10), 2580–2586.
- Yaban, İ., & Kabay, T. (2009). Kuraklık Stresinin Urfa Biberinde İyon Klorofil ve Enzim İçerikleri Üzerine Etkisi. *Toprak Su Dergisi*, 8(1), 11-17.
- Yadav, U., Lal, M., & Jaiswal, V. S. (1990). Micropropagation of *Morus nigra* L. from shoot tip and nodal explants of mature trees. *Scientia Horticulturae*, 44(1-2), 61-67.
- Yang, Y., Guan, H., Batelaan, O., McVicar, T. R., Long, D., Piao, S., Liang, W., Liu, B., Jin, Z., & Simmons, C. T. (2016). Contrasting responses of water use efficiency to drought across global terrestrial ecosystems. *Scientific reports*, 6(1), 1-8.
- Yang, T., Qiu, L., Huang, W., Xu, Q., Zou, J., Peng, Q., Ln, H., & Xi, D. (2020). Chilli veinal mottle virus HCPro interacts with catalase to facilitate virus infection in *Nicotiana tabacum*. *Journal of Experimental Botany*, 71(18), 5656-5668.
- Yaniv, Z., & Werker, E. (1983). Absorption and secretion of polyethylene glycol by Solanaceous plants. *Journal of Experimental Botany*, 34(11), 1577-1584.
- Yıldız, K., & Yılmaz, H. (1999). *In vitro* kültüre alınan karadut (*Morus nigra* L.) eksplantlarında farklı hormon ve dozlarının sürgün oluşumuna etkileri üzerinde bir araştırma. 11. Kükem-Biyoteknoloji Kongresi Özel Sayısı-23 (2), 211-216.
- Yıldız, Ş. (2018). *Kuraklık Stresi Altındaki Arpa Bitkilerinin Yapraklarına SiO<sub>2</sub> Nanopartikül Uygulamasının Etkilerinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin.

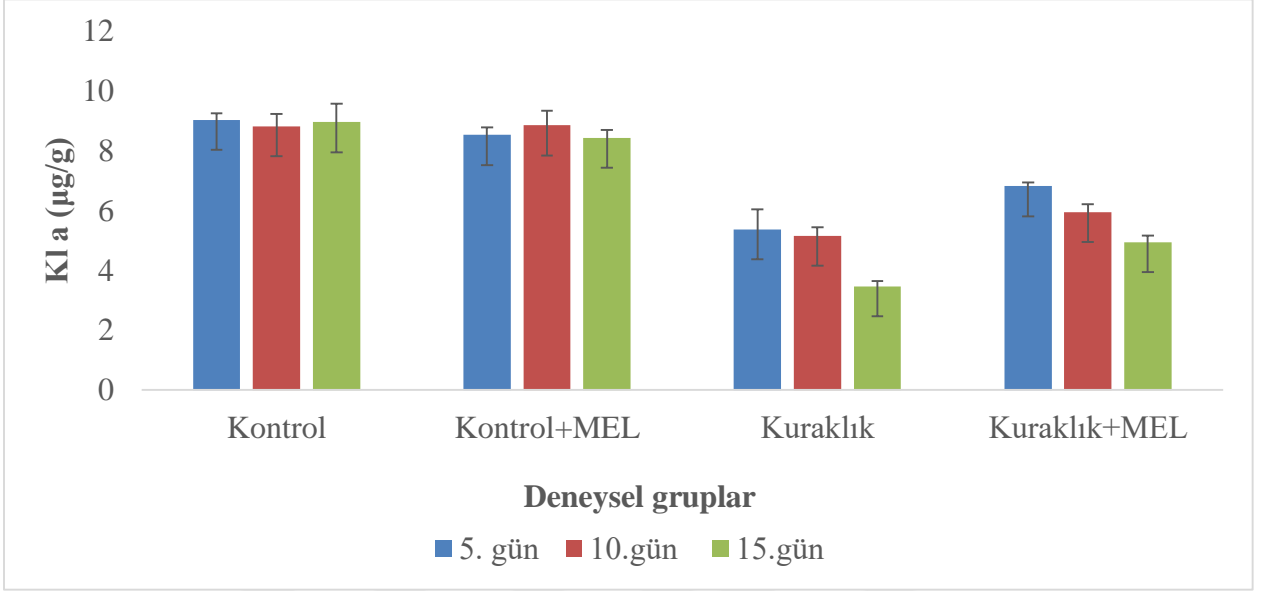
- Yost, F. J., & Fridovich, I.** (1973). An iron-containing superoxide dismutase from *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 248(14), 4905-4908.
- Young, I. S., & Woodside, J. V.** (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176-186.
- Yu, J., Jin, X., Sun, X., Gao, T., Chen, X., She, Y., Jiang, T., Chen, S., & Dai, S.** (2017). Hydrogen Peroxide Response in Leaves of Poplar (*Populus simonii* × *Populus nigra*) Revealed from Physiological and Proteomic Analyses. *International Journal Molecular Science*, 18, 1-26.
- Yüksel, B., & Aksoy, Ö.** (2017). Su stresi koşullarında bitkilerde gözlenen değişimler. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 10(2), 01-05.
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Abadía, J., & Marjani, M.** (2020). Melatonin foliar sprays elicit salinity stress tolerance and enhance fruit yield and quality in strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 313-323.
- Zaki, M., Kaloo, Z. A., & Sofi, M. S.** (2011). Micropropagation of *Morus nigra* L. from nodal segments with axillary buds. *World Journal of Agricultural Sciences*, 7(4), 496-503.
- Zandalinas, S. I., Balfagón, D., Arbona, V., & Gómez-Cadenas, A.** (2017). Modulation of antioxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in citrus. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1- 9.
- Zanjani, K. E., Rad, A. H. S., Naeemi, M., Aghdam, A. M., & Taherkhani, T.** (2012). Effects of zeolite and selenium application on some physiological traits and oil yield of medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) under drought stress. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 4(4): 462-470.
- Zariç, Y.** (2018). *Glutatyon S-transferaz enziminin Van Gölü inci kefalı balığı (Chalcalburnus tarichi) solungacından saflaştırılması, karakterizasyonu, bazı metal ve pestisitlerin enzim aktivitesi üzerine etkilerinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Zeng, L., Cai, J., Li, J., Lu, G., Li, C., Fu, G., Zhang, X, Ma, H., Liu, Q., Zou, X., & Cheng, Y.** (2018). Exogenous application of a low concentration of melatonin enhances salt tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(2), 328-335.
- Zgalli, H., Steppe, K., & Lemeur, R.** (2005). Photosynthetic, physiological and biochemical responses of tomato plants to polyethylene glycol-induced water deficit. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47(12), 1470-1478.
- Zgalli, H., Steppe, K., & Lemeur, R.** (2006). Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti-oxidative enzymes in tomato plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(6), 679-685.
- Zhang, X., Ervin, E. H., Evanylo, G. K., & Haering, K. C.** (2009). Impact of biosolids on hormone metabolism in drought-stressed tall fescue. *Crop science*, 49(5), 1893-1901.
- Zhang, L., Jia, J., Xu, Y., Wang, Y., Hao, J., & Li, T.** (2012). Production of transgenic *Nicotiana sylvestris* plants expressing melatonin synthetase genes and their

effect on UV-B-induced DNA damage. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 48(3), 275-282.

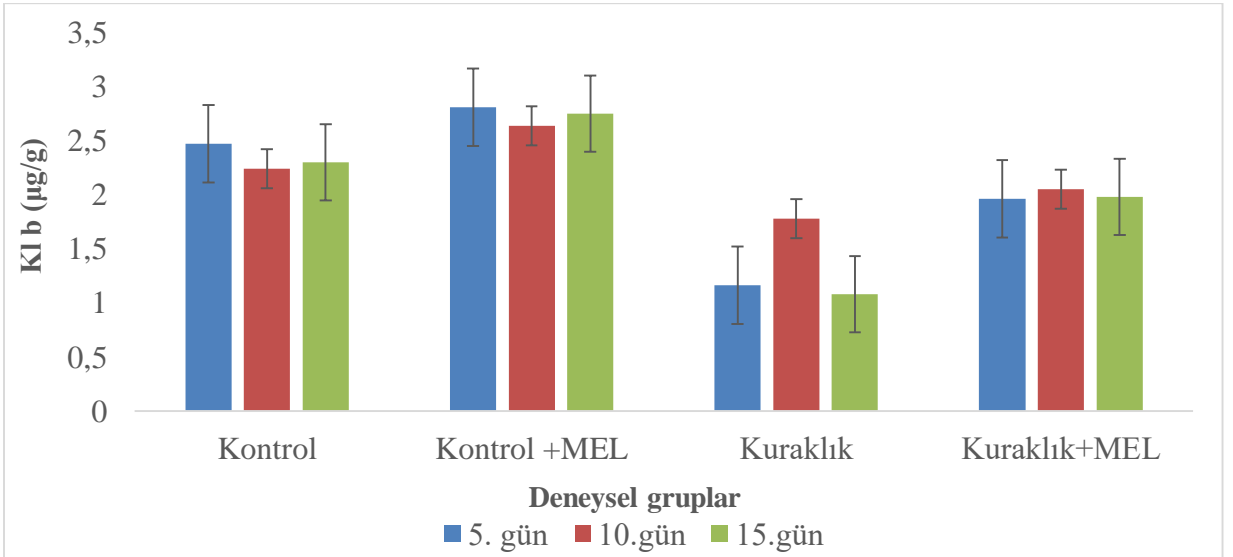
- Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H. J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z. C., Ren, S., & Guo, Y. D.** (2013). Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, 54(1), 15-23.
- Zhang, N., Sun, Q., Li, H., Li, X., Cao, Y., Zhang, H., Li, S., Zhang, L., Qi, Y., & Zhao, B.** (2016). Melatonin improved anthocyanin accumulation by regulating gene expressions and resulted in high reactive oxygen species scavenging capacity in cabbage. *Frontiers in Plant Science*, 7, 197.
- Zhang, C., & Shi, S.** (2018). Physiological and Proteomic Responses of Contrasting Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Varieties to PEG-Induced Osmotic Stress. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1-21.
- Zhang, S.H., Xu, X.F., Sun, Y.M., Zhang, J.L., & Li, C. Z.** (2018). Influence of drought hardening on the resistance physiology of potato seedlings under drought stress. *Journal of integrative agriculture*, 17(2), 336-347.
- Zhao, H. J., & Tan, J. F.** (2005). Role of calcium ion in protection against heat and high irradiance stress-induced oxidative damage to photosynthesis of wheat leaves. *Photosynthetica*, 43(3), 473-476.
- Zhao, Y., Qi, L. W., Wang, W. M., Saxena, P. K., & Liu, C. Z.** (2011). Melatonin improves the survival of cryopreserved callus of *Rhodiola crenulata*. *Journal of Pineal Research*, 50(1), 83-88.
- Zhao, Y., Tan, D. X., Lei, Q., Chen, H., Wang, L., Li, Q. T., Gao, Y., & Kong, J.** (2012). Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry. *Journal of Pineal Research*, 55(1), 79-88.
- Zheng, H., Zhang, X., Ma, W., Song, J., Rahman, S. U., Wang, J., & Zhang, Y.** (2017). Morphological and physiological responses to cyclic drought in two contrasting genotypes of *Catalpa bungei*. *Environmental and Experimental Botany*, 138, 77-87.
- Zhu, J., Li, Z., Kang, H., & Fan, Y.** (2005). Effects of polyethylene glycol (PEG)-simulated drought stress on *Pinus sylvestris* var. *mongolica* seed germination on sandy land. *Ying yong sheng tai xue bao. The Journal of Applied Ecology*, 16(5), 801-804.
- Zlatev, Z. S., Lidon, F.C., Ramalho, J C., & Yordanov, I. T.** (2006). Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biology Plantarum*, 50, 389-394.
- Zokaee-Khosroshahi, M., Esna-Ashari, M., Ershadi, A., & Imani, A.** (2014). Morphological changes in response to drought stress in cultivated and wild almond species. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1(1), 79-92.
- Zonouri, M., Javadi, T., & Ghaderi, N.** (2014). Effect of foliar spraying of ascorbic acid on cell membrane stability, lipid peroxidation, total soluble protein, ascorbate peroxidase and leaf ascorbic acid under drought stress in grapes. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research (IJABBR)*, 2, 349-354.



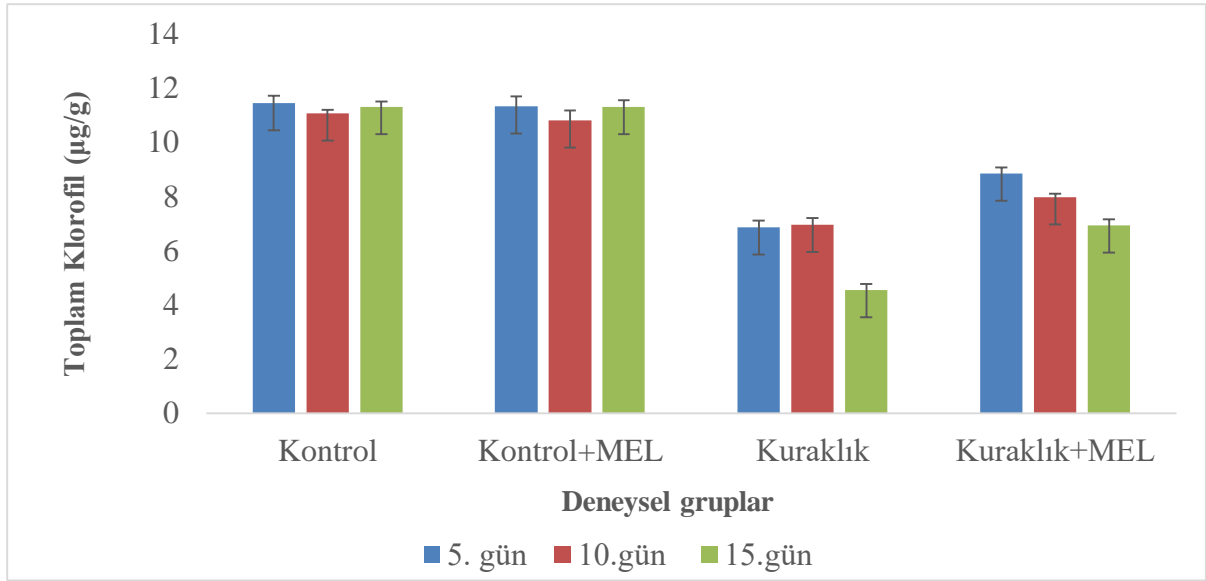
## EKLER



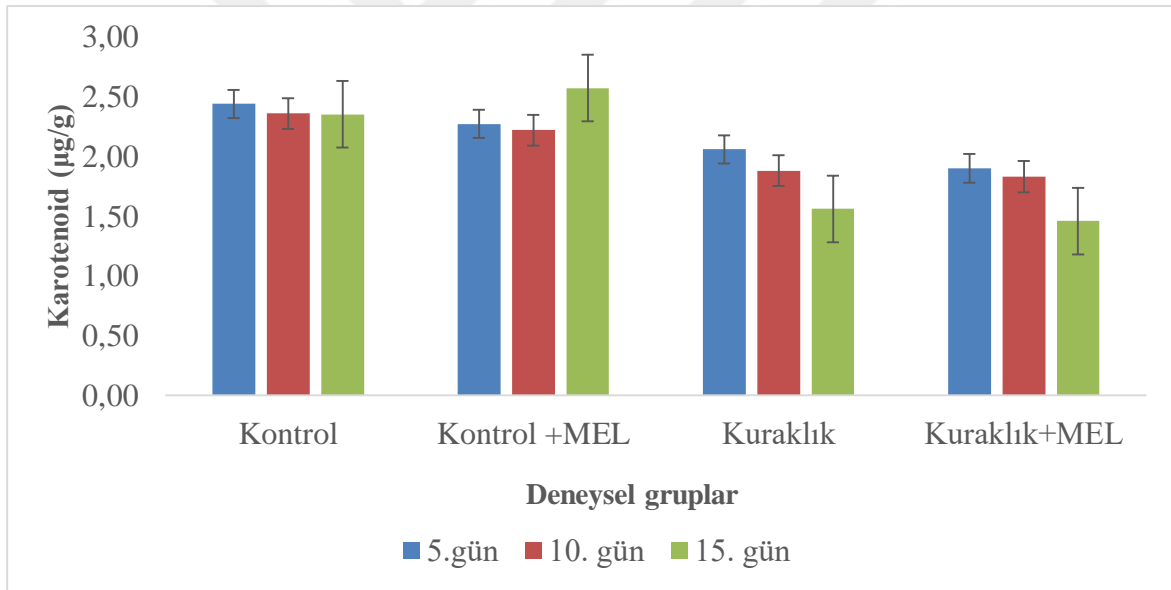
Ek Şekil 1 : *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı Kl a miktarlarının değişimi



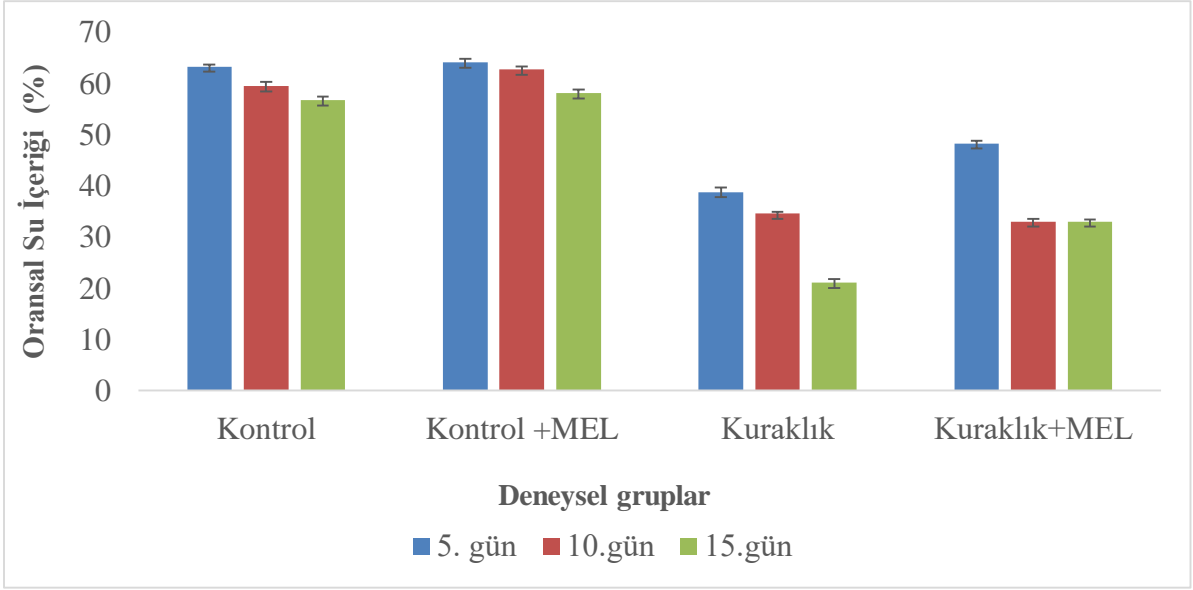
Ek Şekil 2 : *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı Kl b miktarlarının değişimi



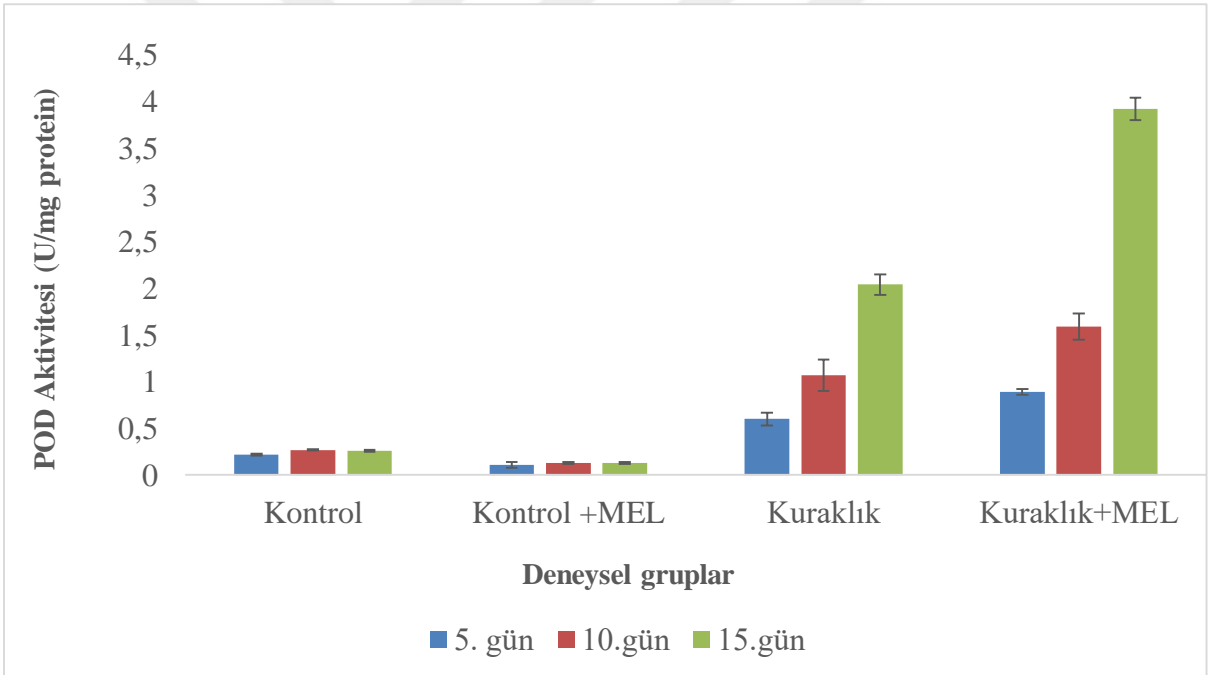
**Ek Şekil 3 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı toplam klorofil miktarlarının değişimi



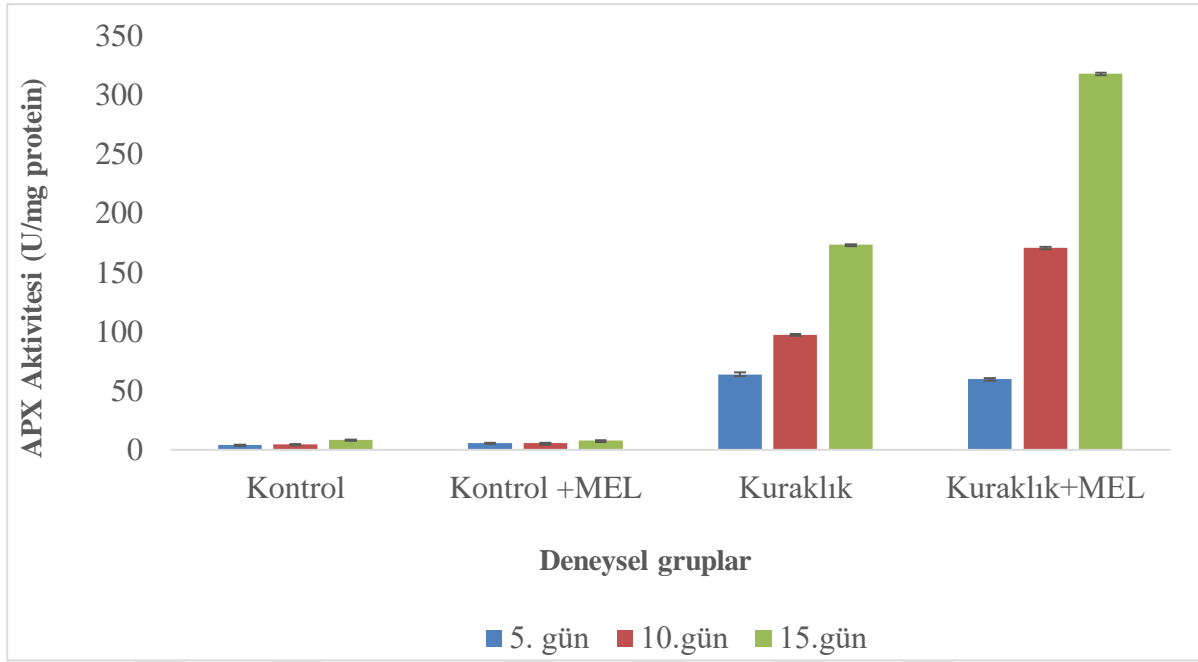
**Ek Şekil 4 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı karotenoid miktarlarının değişimi



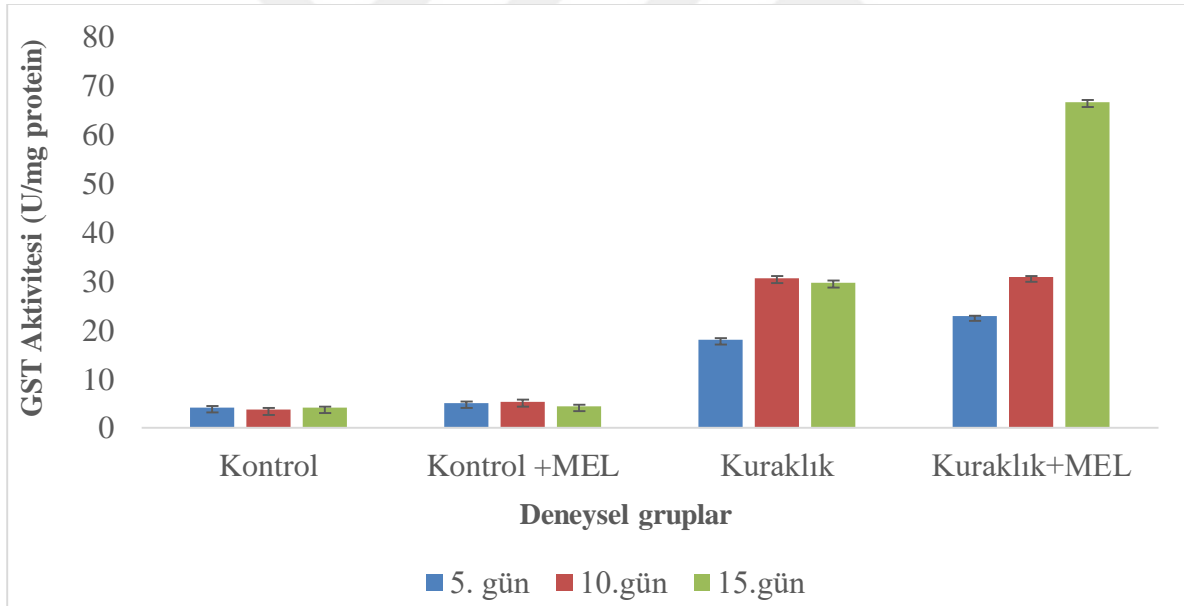
Ek Şekil 5 : *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı oransal su içeriği değişimi



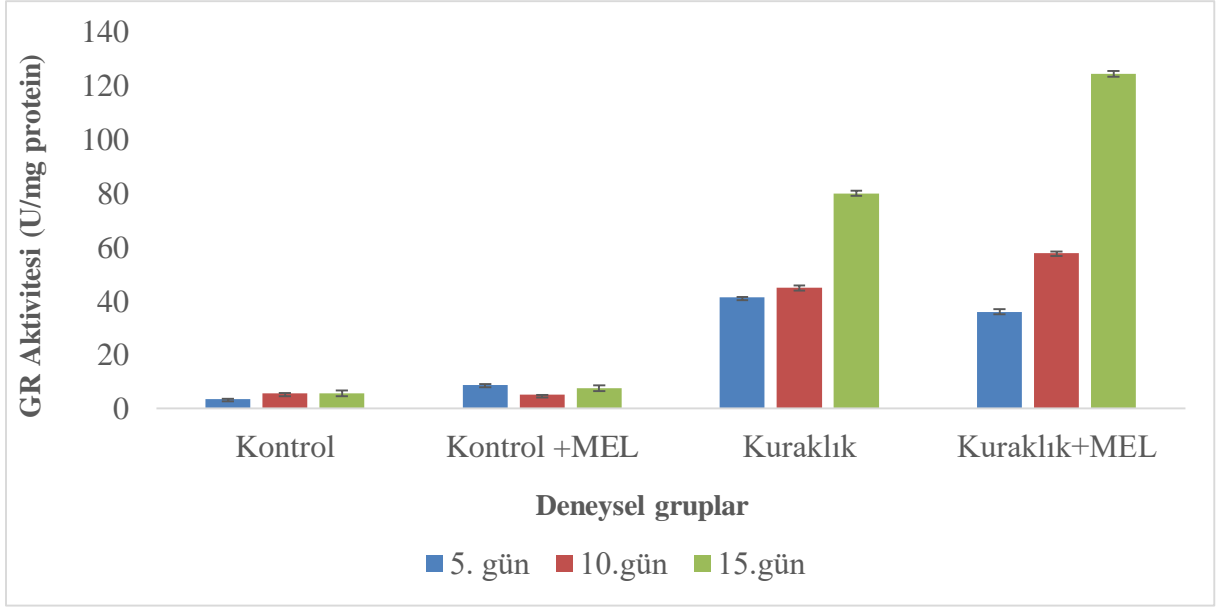
Ek Şekil 6 : *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı POD aktivitesi değişimi



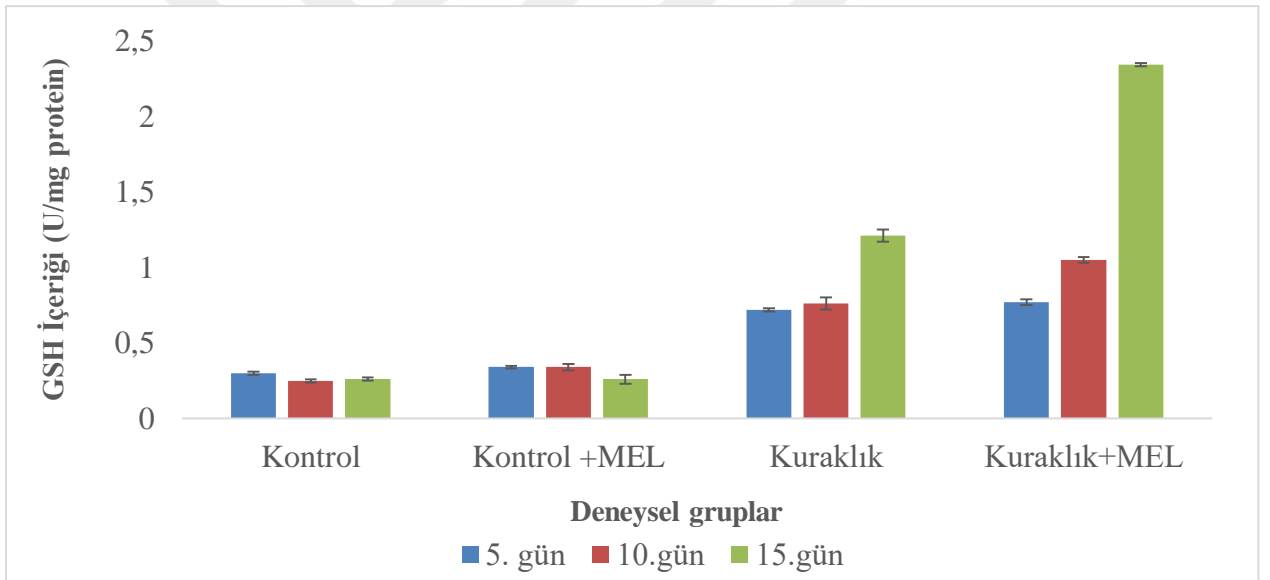
**Ek Şekil 7 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı APX aktivitesi değişimi



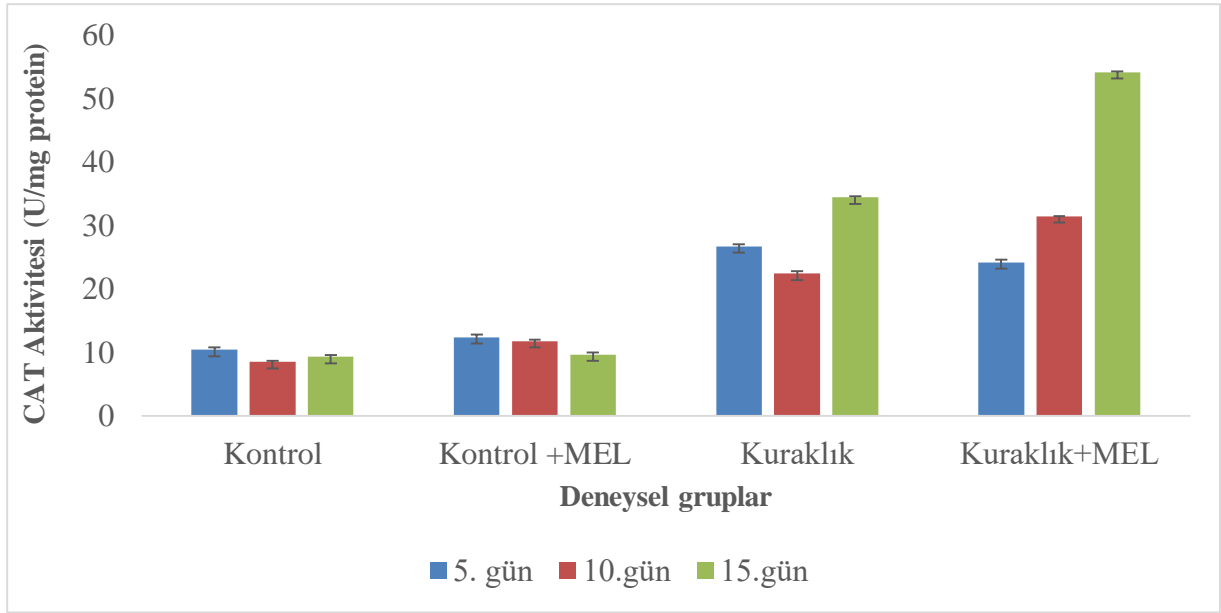
**Ek Şekil 8 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GST aktivitesi değişimi



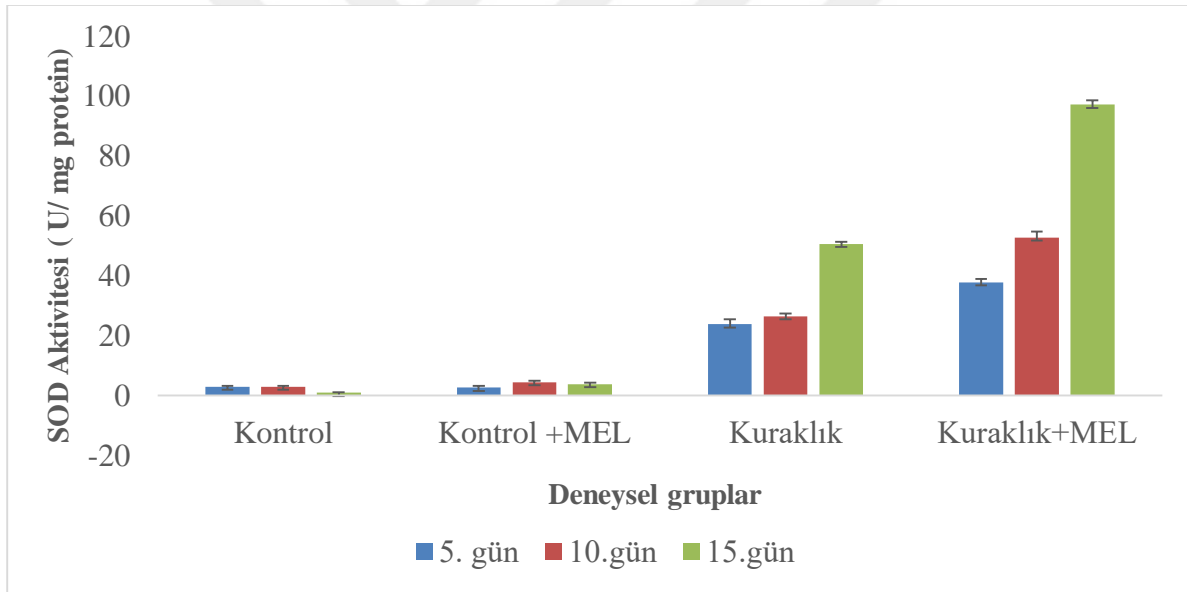
**Ek Şekil 9 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GR aktivitesi değişimi



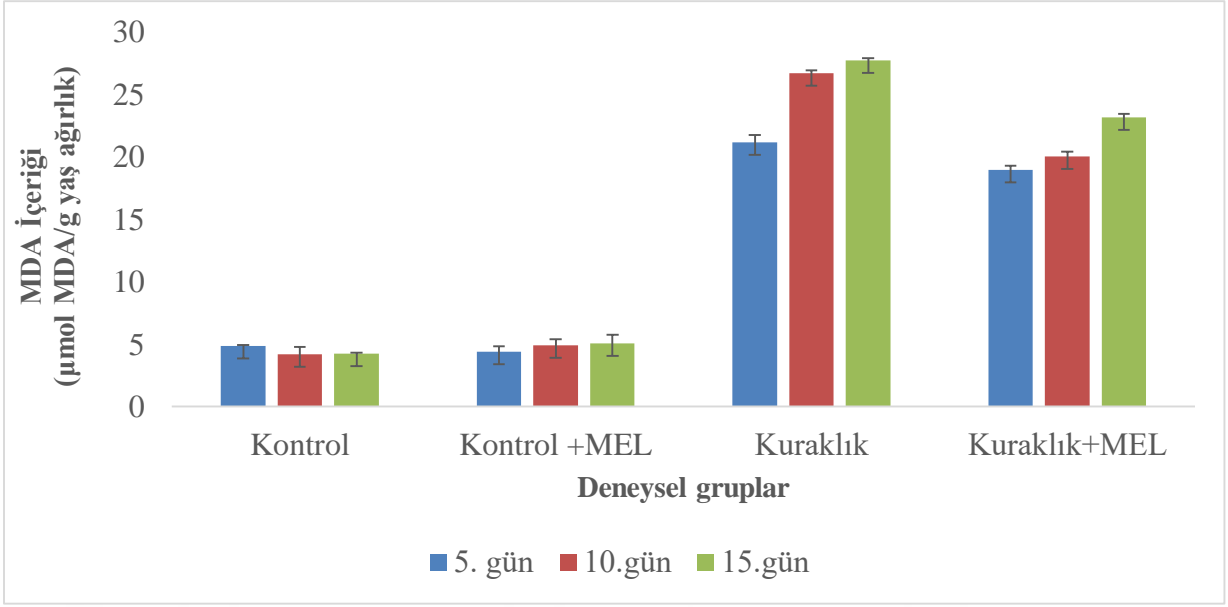
**Ek Şekil 10 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı GSH içeriği değişimi



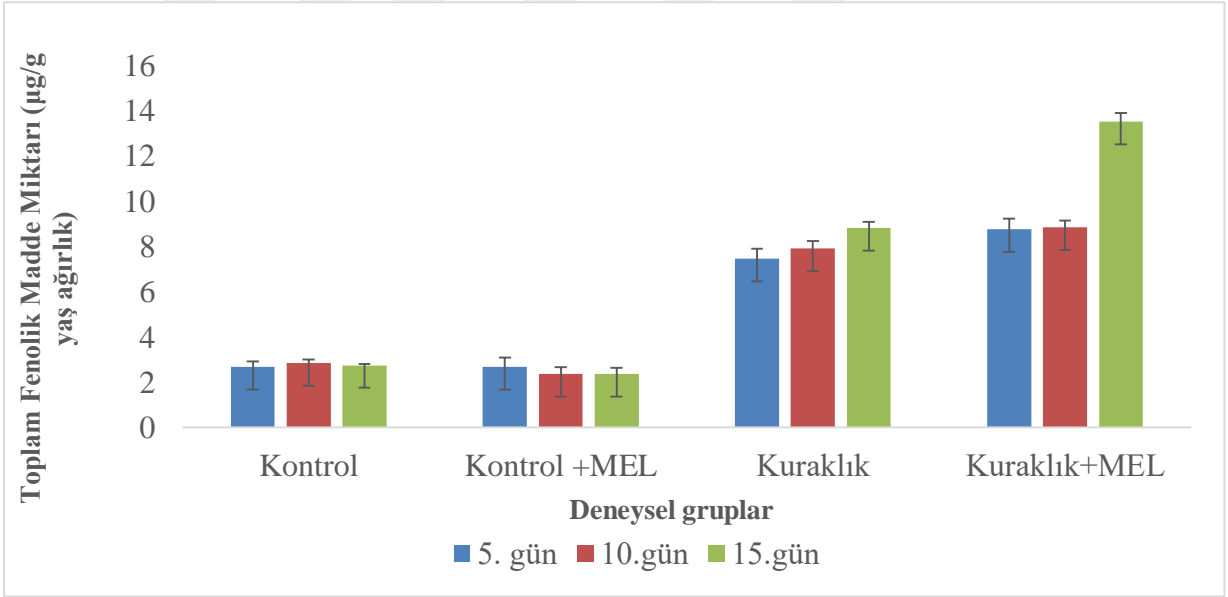
**Ek Şekil 11 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı CAT aktivite değişimi



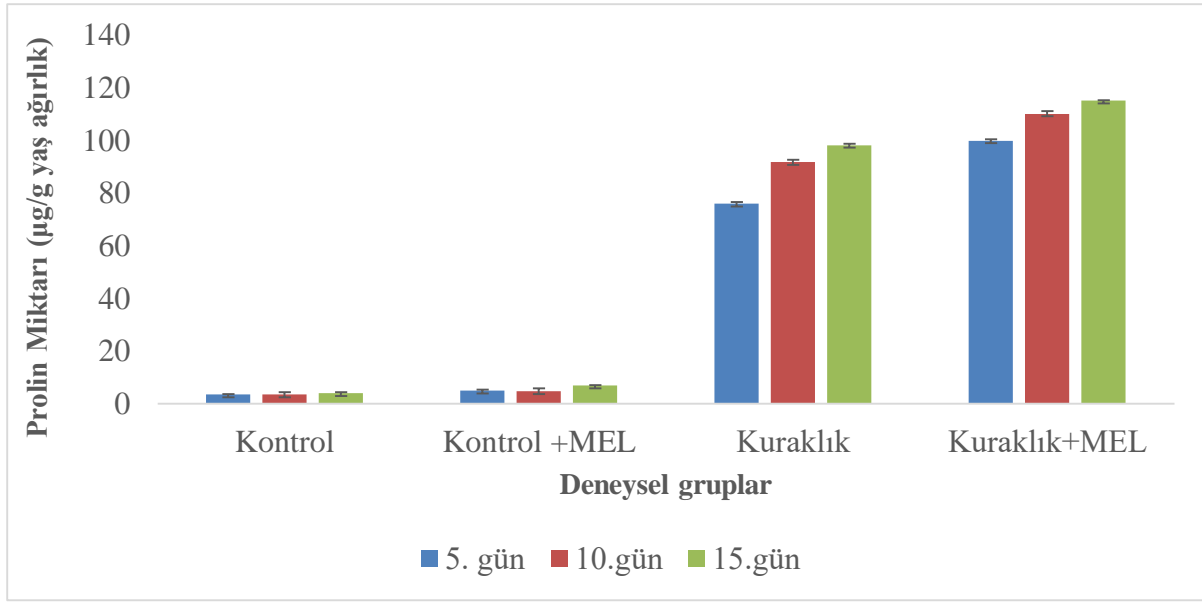
**Ek Şekil 12 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı SOD aktivite değişimi



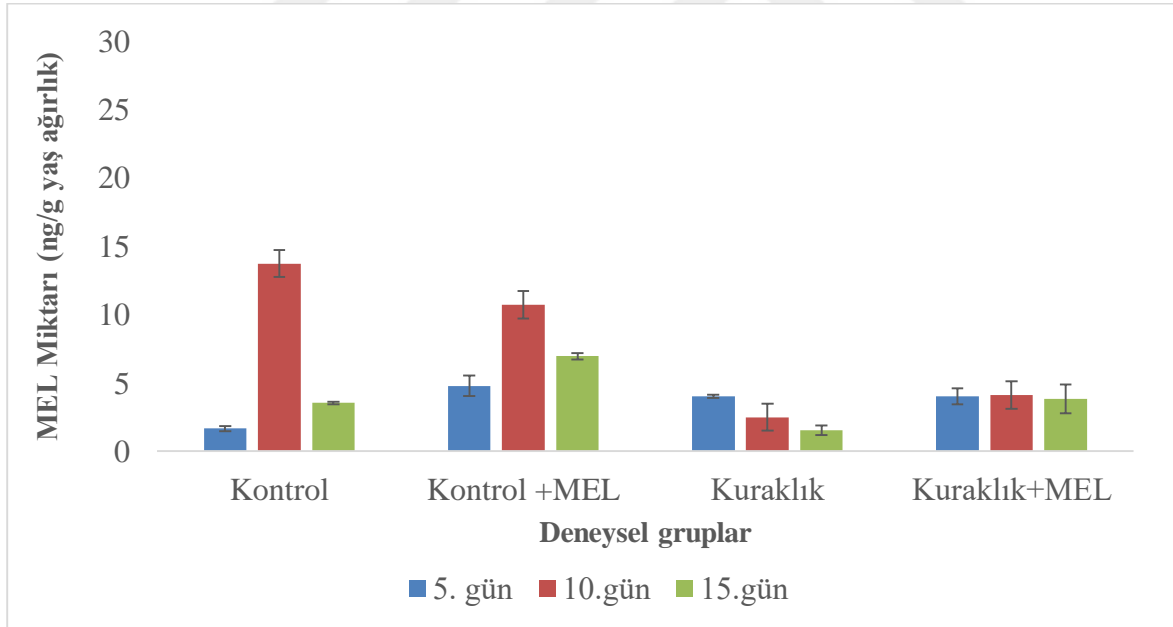
**Ek Şekil 13 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı MDA içeriği değişimi



**Ek Şekil 14 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı toplam fenolik miktarındaki değişim



**Ek Şekil 15 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı prolin miktarındaki değişim



**Ek Şekil 16 :** *M. nigra* yapraklarında gruplara ve günlere bağlı içsel MEL miktarındaki değişim



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Duygu ÖZELÇİ  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 16.08.1987 MALATYA  
**E-posta** : duyguozelci@tarimorman.gov.tr

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2009, İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölüm
- **Lisans** : 2020, Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü
- **Yüksek Lisans** : 2013, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı

### MESLEKİ DENEYİM:

- 2011-2013 Erzincan Gıda Kontrol Laboratuvarı Müdürlüğü'nde Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalıştı.
- 2013-... Kayısı Araştırma Enstitüsü'nde Islah ve Genetik Bölümünde çalışmaya devam etmektedir.

### MAKALELER

- **Çöçen, E., Canbay, A., Özelçi, M., Saritepe, Y., Bayındır, Y., & Özelçi, D.** (2019). "Levent" Kayısı Çeşidinin Döllenme Biyolojisinin Belirlenmesi. *International Journal of Eastern Mediterranean Agricultural Research*, 2(2), 25-35.
- **Özelçi, D., Ortucu, S., Sevsay, S., & Akgül, G. D.** (2017). Trombidioid akarların vücut yüzeyi ve vücut içi mikrofunguslarının belirlenmesi. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 7(1), 55-63.
- **Özelçi, D., Çöçen, E., Pala, M., & Özcan, E.T.** (2014). Bazı Kayısı Genotiplerinin Polen Canlılığı, Polen Çimlenme Oranları ve Polen Üretim Miktarlarının Belirlenmesi. *Ziraat Mühendisliği*, (361), 33-37.