

NATURAL AQUATIC
SAMANLI SU TUTUCU
(NASAP)
DANIřMANLIK RAPORU



Natural
Aquatic
"Samanlı Su Tutucu"

2016



YRD. DOÇ. DR. EMİNE SEMA ÇETİN

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	2
2. MATERYAL VE METOT	5
2.1. Fiziksel Analizler	6
2.1.1. Zararlanma derecesinin belirlenmesi	6
2.1.2. Sürgün uzunluğunun belirlenmesi	7
2.1.3. Sürgün başına ortalama yaprak sayısının belirlenmesi.....	7
2.1.4. Sürgün ağırlığının belirlenmesi	7
2.2. Biyokimyasal Analizler	8
2.2.1. Membran zararlanmasının belirlenmesi (Membran zararlanması indeksi=MZI).....	8
2.2.2. Klorofil miktarının belirlenmesi	9
2.2.3. Prolin miktarının belirlenmesi	9
2.2.4. Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi	10
2.2.5. Fenolik madde ekstraksiyonu:	11
2.2.6. Toplam fenolik maddelerin belirlenmesi:	12
3. BULGULAR	14
SONUÇ.....	22
KAYNAKLAR	24

ŞEKİLLER

Şekil 1. Natural Aquatic Süper Absorban Polimerin (NASAP) uygulamaya hazırlanması	5
Şekil 2. Natural Aquatic süper absorban polimerin yetiştirme ortamına ilave edilmesi	6
Şekil 3. Yapraklarda farklı şekillerde meydana gelen zararlanmanın görünümü	7
Şekil 4. Membran zararlanma derecesinin belirlenmesi	8
Şekil 5. Klorofil miktarının SPAD ile belirlenmesi	9
Şekil 6. Prolin analizinde test tüplerinin görünümü	10
Şekil 7. Lipid peroksidasyonu analizinde test tüplerinin görünümü.....	11
Şekil 8. Fenolik madde ekstraksiyonu	11
Şekil 9. Toplam fenolik madde analizinden bir görünüm	12
Şekil 10. Toplam fenolik madde analizlerinde örnek (solda) ve kontrol (sağda).....	12
Şekil 11. NASAP uygulaması yapılmamış (solda) ve yapılmış (sağda) bitkilere ait bir görünüm	13
Şekil 12. NASAP uygulaması yapılarak kuraklık stresi uygulanan (solda) ve kuraklık stresi uygulanmamış (sağda) bitkilere ait bir görünüm.....	13
Şekil 13. NASAP uygulaması yapılmayan (-) ve yapılan (+) bitkilerde kuraklık stresinin bazı fiziksel özellikler üzerine etkileri.....	16
Şekil 14. NASAP uygulaması yapılmayan (-) ve yapılan (+) bitkilerde kuraklık stresinin bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri.....	21

TABLÖLAR

Tablo 1. NASAP uygulamasının 41 B anacında kuraklık stresi altında bazı fiziksel özellikler üzerine etkileri..... **14**

Tablo 2. NASAP uygulamasının 41 B anacında kuraklık stresi altında bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri **17**

1. GİRİŞ

Bitkiler, canlıların hayatında ve ekolojik döngü içerisinde son derece önemli bir yere sahiptirler. Öncelikle fotosentez gibi kompleks bir olayı üstlenmekte, bunun yanında erozyonu önleme, toprağa organik madde bakımından katkıda bulunma, sıcaklık kontrolü sağlama ve farklı sanayi alanlarına hammadde olma gibi kritik görevlerde bulunmaktadır. Hayatımızda bu denli önemli bir yere sahip olan bitkilerin bulundukları ekolojik koşulların ise gün geçtikçe değiştiği ve çok sayıda olumsuz faktörle karşı karşıya kaldıkları da bilinmektedir. Bitkiler kendileri için uygun olmayan bu koşullardan etkilenmekte ve bunun sonucu olarak da farklı şekillerde strese girmektedirler.

Bitkilerde bir taraftan fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyen, diğer taraftan verim ve kalitenin azalmasına yol açan en önemli ve en yaygın stres faktörlerinin başında ise kuraklık stresi gelmektedir. Kuraklık stresi hem toprağın su tutma kapasitesi hem de yağış rejimi ile ilişkili bir durum olup, bitkilerin en yoğun suya ihtiyaç duydukları dönemde ortaya çıkan kuraklığın sonuçları ciddi boyutlarda olmaktadır. Bu nedenle toprakta suyu hapsedecek ve yavaş bir salınım ile bitkinin kazanımına sunulmasını sağlayacak uygulamalar son derece önemlidir.

Bu araştırma da yetiştirme ortamına ilave edilen Samanlı Süper Absorban Polimerin (NASAP) bitkilerde kuraklık stresine karşı kullanılabilirliği, hangi şekillerde etkili olabileceği ve stresin neden olduğu farklılık ve zararlanmaların belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

Araştırmada bitkisel materyal olarak 41 B M.G Amerikan asma anacına ait çelikler kullanılmıştır. Söz konusu çelikler Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünden temin edilmişlerdir.

Amerikan asma anaçları dinlenmelerini tamamlamalarının ardından çelikler alınmış, torf içeren 2 lt lik potlara dikilmiş ve $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de iklim odasında kültüre alınmışlardır. Dikimi takip eden 2 ay sonrasında her bir pota 5 g olacak şekilde NASAP hazırlanmış (Şekil 1) ve toprağa karıştırılmıştır (Şekil 2). Bu işlemden sonra gruplar aşağıdaki şekilde oluşturulmuş ve sulama sistemine buna göre devam edilmiştir.

Gruplar;

1. Grup: NASAP uygulaması yapılmaksızın kuraklık stresine maruz bırakılan bitkiler
2. Grup: NASAP uygulaması yapılarak kuraklık stresine maruz bırakılan bitkiler
3. Grup: NASAP uygulaması yapılmaksızın sulama sisteminin düzenli olarak yapıldığı bitkiler
4. Grup: NASAP uygulaması yapılarak sulama sisteminin düzenli olarak yapıldığı bitkiler



Şekil 1. Natural Aquatic Süper Absorban Polimerin (NASAP) uygulamaya hazırlanması

Araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 15 er bitki olacak şekilde planlanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde SPSS 20 İstatistik programı kullanılmış ve ortalamalar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde Duncan Çoklu Karşılaştırma Testinden yararlanılmıştır.



Şekil 2. Natural Aquatic Süper Absorban Polimerin yetiştirme ortamına ilave edilmesi

NASAP uygulaması yapılan ve yapılmayan bitkiler iki ay süre ile test edilmiş ve bu sürenin sonunda denemeye son verilerek fiziksel (zararlanma derecesi, sürgün uzunluğu, sürgün başına ortalama yaprak sayısı, sürgün ağırlığı) ve biyokimyasal (membran zararlanma indeksi, klorofil, prolin, lipid peroksidasyonu (MDA miktarı) ve toplam fenolik madde) analizler yapılmıştır. Analizlerden elde edilen bulgular doğrultusunda söz konusu uygulamanın kuraklık stresine karşı kullanım potansiyeli ve pratiğe aktarılabilirliği incelenmiştir. Projede bütün analizler 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

2.1. Fiziksel Analizler

2.1.1. Zararlanma derecesinin belirlenmesi

Zararlanma derecesinin belirlenmesinde International Plant Genetic Resources Institute tarafından belirtilen skala kullanılmıştır (Anonim, 1997). Bu skala farklı stres faktörleri karşısında bitkinin zararlanma durumlarını değerlendirmede kullanılan en yaygın skaladır. Buna göre kuraklık stresi altındaki bitkilerde zararlanma derecesi (OIV 403):

1- **Kloroz (sararma) görülmeyen bitkiler:** Herhangi bir klorozun olmadığı, koyu yeşil yapraklı bitkiler

2- **Hafif kloroz görülen bitkiler:** Damarlar arasında açık yeşil kısımların görüldüğü bitkiler

3- **Orta dereceli kloroz görülen bitkiler:** Ana damarların yeşil renkli olduğu sarı yapraklı bitkiler

4- **Yüksek kloroz görülen bitkiler:** %10 dan daha az bir kısmında nekrozun görüldüğü sararmış yapraklı bitkiler

5- **Yoğun kloroz görülen bitkiler:** %10 dan daha fazla bir kısmında nekrozun görüldüğü sararmış yapraklı bitkiler şeklinde belirlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Yapraklarda farklı şekillerde meydana gelen zararlanmanın görünümü

2.1.2. Sürgün uzunluğunun belirlenmesi

Bitkilerin sürgün uzunluğu cetvel yardımı ile cm cinsinden ölçülmüştür.

2.1.3. Sürgün başına ortalama yaprak sayısının belirlenmesi

Sürgün başına düşen ortalama yaprak sayıları adet olarak belirlenmiştir.

2.1.4. Sürgün ağırlığının belirlenmesi

Her bir tekerrürdeki sürgünlerin yaş ağırlıkları 0.0001 g a duyarlı analitik terazi yardımı ile g cinsinden belirlenmiştir.

2.2. Biyokimyasal Analizler

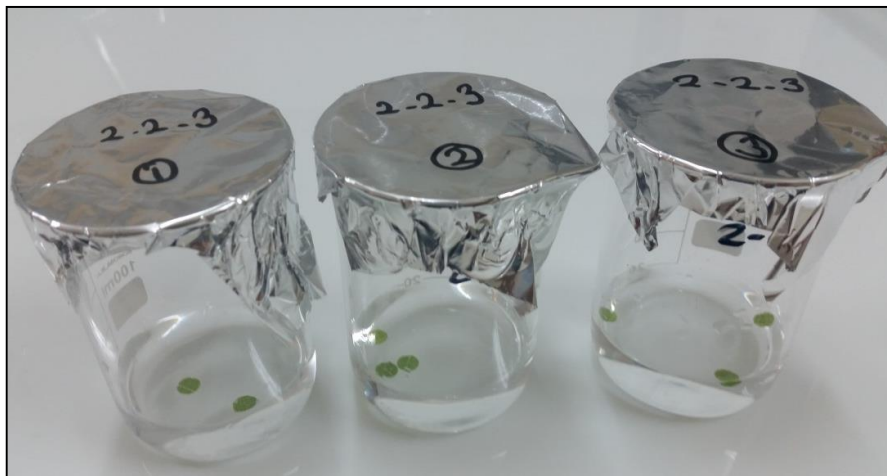
2.2.1. Membran zararlanmasının belirlenmesi (Membran zararlanma indeksi=MZI)

MZI hücreden dışarıya verilen elektrolitin ölçülmesi ile hesaplanmıştır (Fan ve Blake, 1994). Buna göre yapraklardan 17 mm çapında diskler alınmış, saf su içerisinde 4 saat bekletilmiş, EC leri ölçülmüş, ardından 100°C'de 10 dakika otoklava bekletilmiş ve tekrar ölçülmüştür. Aşağıdaki formül yardımıyla MZI yüzde olarak belirlenmiştir (Şekil 4).

$$MZI = (Yu - Yk / 1 - Yk) \times 100$$

Yu: Stres uygulamasında yaprağın otoklav öncesi EC değeri / Otoklav sonrası EC değeri

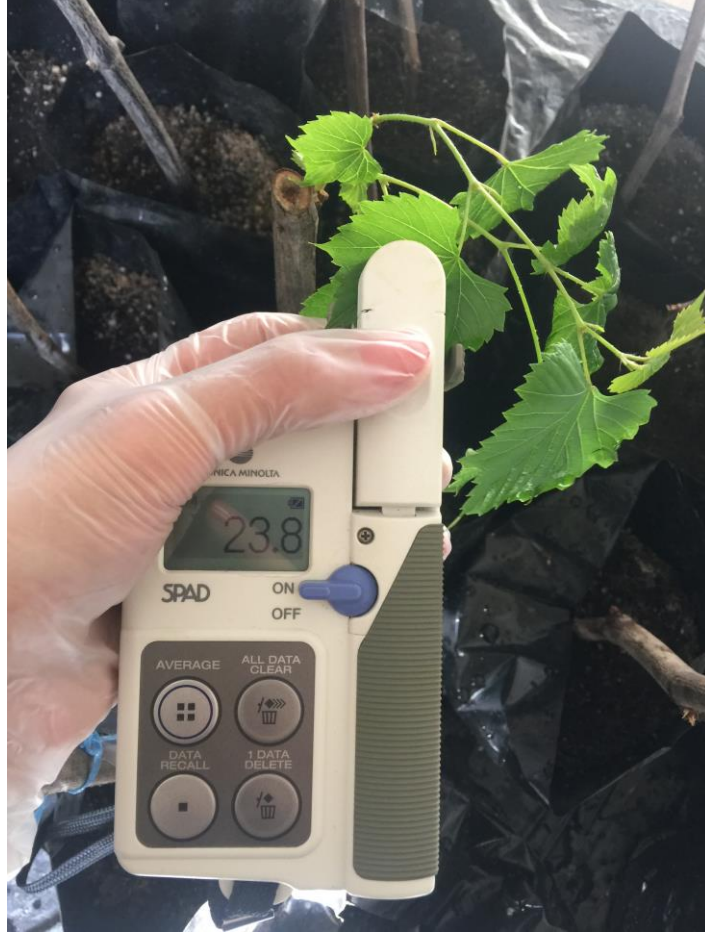
Yk: Kontrol bitkisinde yaprağının otoklav öncesi EC değeri / Otoklav sonrası EC değeri



Şekil 4. Membran zararlanma derecesinin belirlenmesi

2.2.2. Klorofil miktarının belirlenmesi

Klorofil analizleri SPAD yöntemiyle Konika Minolta SPAD-502 Plus cihazı ile yapılmıştır.

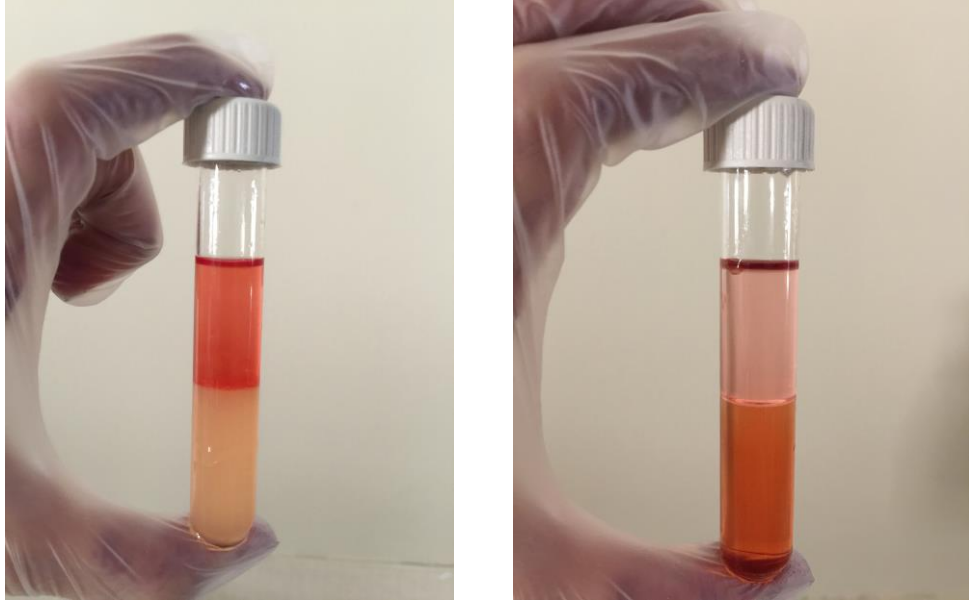


Şekil 5. Klorofil miktarının SPAD ile belirlenmesi

2.2.3. Prolin miktarının belirlenmesi

Örneklerde prolin miktarının belirlenmesi Bates vd. (1973)' nin metoduna göre yapılmıştır. Buna göre her bir uygulama grubundan alınan örnekler, %3'lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiş, filtre edilen homojenatın üzerine asit ninhidrin ve glasiyel asetik asit ilave edilmiş ve 100 °C'de 1 saat süre ile su banyosunda bekletilmişlerdir. Ardından hemen buz banyosuna alınan örnekler daha sonra toluenle ekstrakte edilmiş ve sıvı fazdan aspire edilen toluen fraksiyonunun

absorbansı spektrofotometrede 520 nm dalga boyunda okunmuştur. Sonuçlar prolin standartıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisi yardımıyla $\mu\text{mol/g}$ YA(Yaş ağırlık) cinsinden hesaplanmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. Prolin analizinde test tüplerinin görünümü

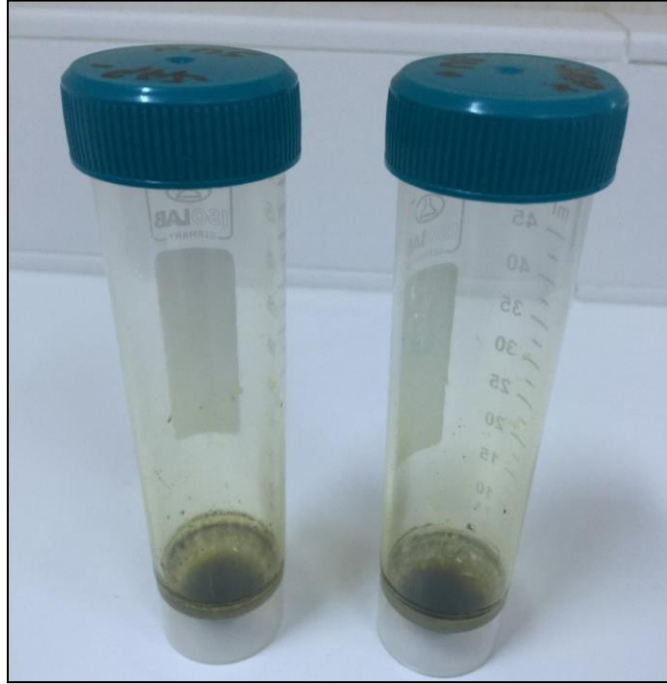
2.2.4. Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesinin ölçülmesi ile lipid peroksidasyon derecesi belirlenmiştir (Madhava Rao ve Sresty, 2000). Spektrofotometrede okumalar 532 ve 600 nm’de yapılmış, MDA konsantrasyonu ekstinsiyon katsayısı (ϵ : $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ile hesaplanarak $\mu\text{mol/g}$ YA şeklinde belirlenmiştir (Şekil 7).



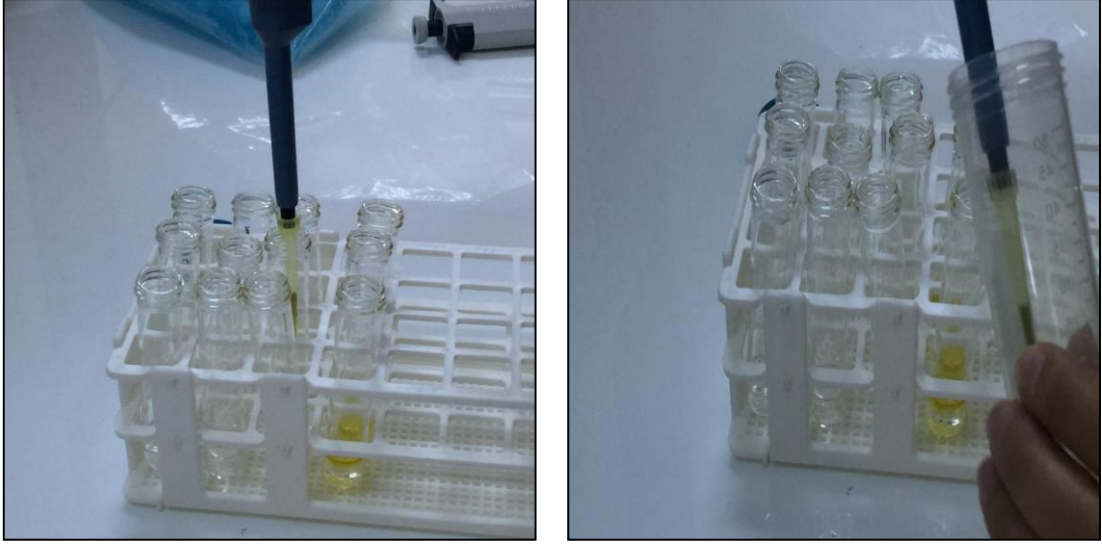
Şekil 7. Lipid peroksidasyonu analizinde test tüplerinin görünümü

2.2.5. Fenolik madde ekstraksiyonu: Fenolik madde ekstraksiyonu için, tekerrürler bazında yapraklar ayrılarak üzerlerine hacmin 10 katı kadar % 0.1 oranında HCl içeren etil asetat ile homojenize edilmiş ve 3 kez ekstrakte edilmiştir. Toplanan ve içinde fenolik bileşikleri bulunduran etil asetatlı kısım sodyum sülfattan geçirilmiş, rotary evaporatörde uçurulmuş ve elde edilen ekstrakt daha sonra fenolik madde analizlerinde kullanılmıştır (Şekil 8).

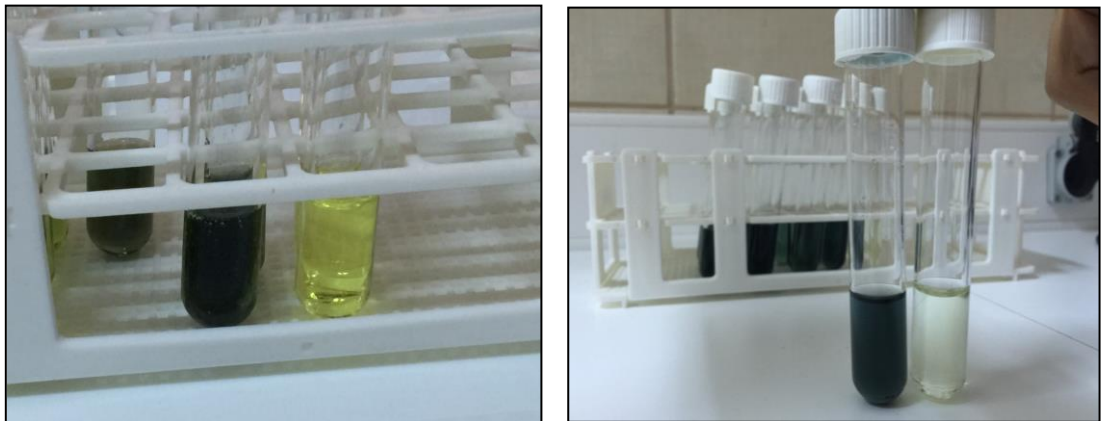


Şekil 8. Fenolik madde ekstraksiyonu

2.2.6. Toplam fenolik maddelerin belirlenmesi: Toplam fenolik bileşik miktarları Folin Ciocalteu kolorimetrik metodu kullanılarak Singleton ve Rossi (1965)'ye göre yapılmıştır. Spektrofotometrede okumalar 765 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiş, standart kateşin çözeltisinden hazırlanan kurveden yararlanılarak, toplam fenolik madde miktarları kateşin cinsinden mg/g olarak belirlenmiştir (Şekil 9, 10).



Şekil 9. Toplam fenolik madde analizinden bir görünüm



Şekil 10. Toplam fenolik madde analizlerinde örnek (solda) ve kontrol (sağda) tüplerinin görünümü

NASAP uygulamasının bitkinin genel görünümü üzerine olan etkileri Şekil 11 ve 12’de sunulmuştur.



Şekil 11. NASAP uygulaması yapılmamış (solda) ve yapılmış (sağda) bitkilere ait bir görünüm



Şekil 12. NASAP uygulaması yapılarak kuraklık stresi uygulanan (solda) ve kuraklık stresi uygulanmamış (sağda) bitkilere ait bir görünüm

3. BULGULAR

Kuraklık stresi günümüzde bitkisel üretimi sınırlayan önemli bir stres faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Önceleri verim ve kalite kayıplarına neden olan bu stres faktörü ileri durumlarda ölüm ile sonuçlanmaktadır. Bitkisel üretimi ciddi anlamda tehdit eden bu durumu kısa sürede ortadan kaldırma olasılığı pek mümkün görülmemektedir. Dolayısıyla stres ortamına karşı toprakta mevcut nemi muhafaza edecek ve belirli bir salınımla bitkinin kullanımına sunabilecek yaklaşımlar büyük önem taşımaktadır.

Bu amaçla gerçekleştirilmiş olan bu projede yetiştirme ortamına ilave edilen Natural Aquatic Samanlı Süper Absorban Polimerin (NASAP) bitkilerde kuraklık stresine karşı kullanım potansiyelinin belirlenmesine çalışılmıştır. Bitkisel materyal olarak bağcılıkta yoğun olarak kullanılan Amerikan asma anaçlarından olan 41 B anacının kullanıldığı araştırmada içeriği metot kısmında detaylandırılan 4 farklı uygulama grubu oluşturulmuş ve iki ay süre ile uygulanan kuraklık stresi sonrasında yapılan analizlerden elde edilen bulgular Tablo 1 ve Tablo 2 de sunulmuştur.

Tablo 1. NASAP uygulamasının 41 B anacında kuraklık stresi altında bazı fiziksel özellikler üzerine etkileri

		Fiziksel Özellikler			
		Zararlanma	Sürgün	Yaprak Sayısı	Sürgün Ağırlığı
		Derecesi (skala)	Uzunluğu (cm)	(adet)	(g)
1.	Grup	4,667 a *	24,611	3,655	1,707 b
2.	Grup	3,000 b	30,667	4,656	3,201 a
3.	Grup	1,333 c	31,750	4,750	3,429 a
4.	Grup	1,000 c	35,986	4,750	3,971 a

*Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında $P \leq 0.05$ düzeyinde

farklılık bulunmaktadır.

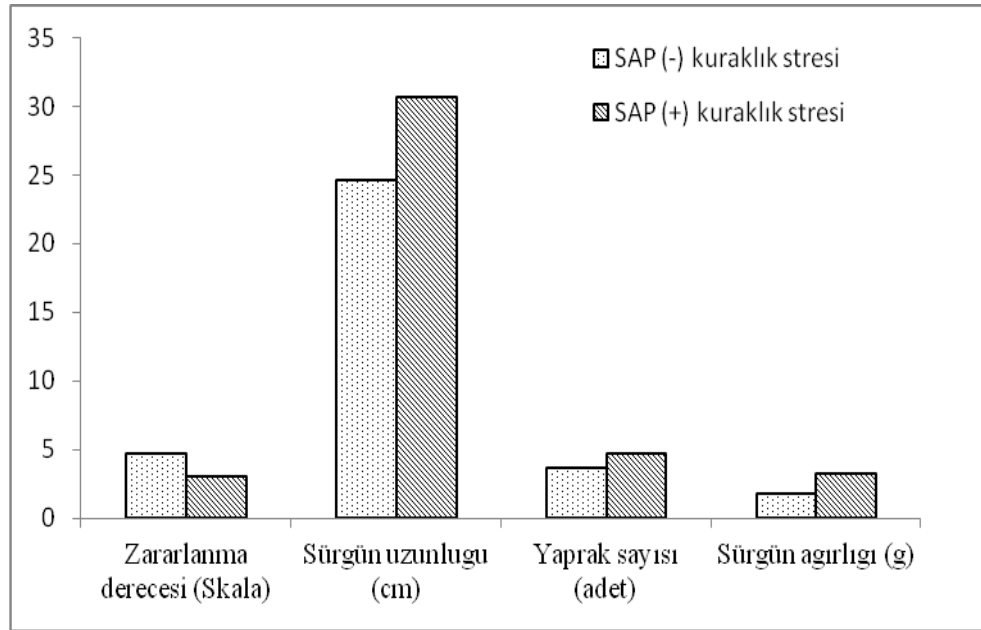
NASAP uygulamasının 41 B anacında kuraklık stresi altında bazı fiziksel özellikler üzerine etkileri incelendiğinde zararlanma derecelerinin ve sürgün ağırlıkları değerlerinin uygulama gruplarına göre istatistiksel olarak farklılıklar gösterdikleri tespit edilmiştir.

Zararlanma derecesinin belirlenmesine yönelik olarak metot kısmında detaylandırılan 5 skalaya göre bir değerlendirme yapıldığında en fazla zararlanmanın 1. Grup olan NASAP uygulaması yapılmaksızın kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin yapraklarında ortaya çıktığı görülmektedir. En az zararlanma ise doğal olarak NASAP uygulaması olup olmadığına bakılmaksızın sulamanın yapıldığı bitkilerden elde edilmiştir. Burada kuraklık stresine maruz bırakılan ancak NASAP uygulaması yapılan bitkilerde zararlanmanın 1. Gruptan daha az ortaya çıkmış olması dikkati çekmektedir.

Araştırmada sürgün uzunluğu ve yaprak sayısı değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel bir farklılığın ortaya çıkmadığı görülmektedir. Bununla birlikte sürgün ağırlıkları incelendiğinde farklılığın olduğu belirlenmiştir. Nitekim en ağır sürgünlerin NASAP uygulanan ve NASAP uygulanmasa dahi normal sulama düzeninin devam ettiği gruplardan elde edildiği, buna karşın hem NASAP uygulanmayan hem de kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin sürgünlerinin daha düşük ağırlıkta oldukları görülmektedir.

Bitkilerin kuraklık stresinin olumsuz etkilerini tolere ederek hayatta kalabilmek için çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirdikleri yapılan çalışmalar ile de ortaya konulmuştur (Bartels ve Sunkar, 2005). Örneğin bitkinin büyümesini sınırlandırması bu konudaki en temel mekanizma olup burada sürgün gelişiminin yavaşladığı, yaprak alanının küçüldüğü, yeni yaprak oluşumunun sınırlandırıldığı bilinmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Ayrıca bazı bitkilerde yaprak yüzeylerinin sık tüylerle kaplanması, yaprak yüzeyi üzerinde oluşan kalın mumsu kütikula tabakası da transpirasyon hızını azaltmak için verilen tepkilerdendir (Göksoy ve Turan, 1991). Bitkilerde ciddi zararlanmalara neden olan kuraklık stresinde fotosentez hızının yavaşlaması, stomaların kapanması (Mahajan ve Tuteja, 2005), takiben CO₂ alınınının azalması ve fotosentez oranının düşmesi şeklinde devam etmektedir (Bota vd., 2004).

NASAP uygulaması yapılarak kuraklık stresine maruz bırakılan ve NASAP uygulaması yapılmaksızın kuraklık stresi uygulanan bitkilere yönelik olarak yapılan fiziksel analizlerden elde edilen sonuçlar Şekil 13’ de sunulmuştur.



Şekil 13. NASAP uygulaması yapılmayan (-) ve yapılan (+) bitkilerde kuraklık stresinin bazı fiziksel özellikler üzerine etkileri

Şekil 13’ün incelenmesi ile de anlaşılacağı üzere kuraklık stresinde bitkilere NASAP uygulaması yapılması zararlanma derecesini azaltma, buna karşın sürgün uzunluğu, yaprak sayısı ve sürgün ağırlığını artırma yönünde etkiler göstermiştir.

NASAP uygulamasının 41 B anacında kuraklık stresi altında bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri Tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2. NASAP uygulamasının 41 B anacında kuraklık stresi altında bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri

		Biyokimyasal Özellikler				
		Membran Zararlanma İndeksi (MZI) (%)	Klorofil (SPAD)	Prolin (μmol/g YA)	Lipid peroksidasyonu (MDA içeriği) (μmol/g)	Toplam fenolik madde (mg/g (CE))
1.	Grup	30,326 a *	9,045 c	0,0321	12,926 a	10,477 d
2.	Grup	21,498 b	17,967 b	0,0315	9,599 b	12,056 c
3.	Grup	24,854 b	16,500 b	0,0312	7,610 c	18,544 b
4.	Grup	19,964 c	25,383 a	0,0314	6,491 c	21,617 a

*Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında $P \leq 0.05$ düzeyinde farklılık bulunmaktadır.

Tablo 2 incelendiğinde biyokimyasal özellikler içerisinde prolin içeriği dışında incelenen bütün özelliklerin uygulama gruplarına göre önemli ölçüde değiştiği saptanmıştır.

Stres koşulları altında hücre membranlarında zararlanmaların meydana geldiği bilinmektedir. Hücre membran stabilitesi stres toleransını belirlemek için yaygın bir şekilde kullanılmakta ve yüksek membran stabilitesi abiotik stres koşullarına toleransla doğru orantılı olarak ortaya çıkmaktadır (Premachandra vd., 1992). Hücrelerden dışarıya verilen elektrolitin ölçülmesi şeklinde belirlenen membran zararlanmasının incelendiği bu araştırmada en yüksek EC değerlerinin dolayısıyla en yüksek zararlanmaların 1. Grup olan NASAP uygulaması yapılmaksızın kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ortaya çıktığı görülmektedir. Buna karşın NASAP uygulaması yapılarak kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde zararlanmanın daha düşük seviyelerde gerçekleştiği görülmektedir. En düşük

membran zararlanma derecesi ise hem düzenli sulamanın yapıldığı hem de NASAP uygulaması yapılan bitkilerin yapraklarında ortaya çıkmıştır. Burada dikkati çeken nokta NASAP uygulaması yapılarak kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin yaprakları ile NASAP uygulaması yapılmayan ancak düzenli sulama yapılan bitkilerin yapraklarının zararlanma derecesi olarak aynı grupta yer almasıdır. Nitekim sulama düzenli yapılırsa dahi NASAP uygulaması da yapılan bitkilerin yapraklarında en düşük membran zararlanmasının gerçekleştiği göze çarpmaktadır.

Stres koşulları altında bitkilerin yapraklarındaki klorofil içeriğinin değişimini belirlemeye yönelik yapılan incelemelerde de en yüksek klorofil oluşumunun hem düzenli sulamanın yapıldığı hem de NASAP uygulaması yapılan bitkilerin yapraklarında gerçekleştiği görülmektedir. Bununla birlikte tıpkı membran zararlanma indeksinden elde edilen değerlerde olduğu gibi NASAP uygulaması yapılarak kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin yaprakları ile NASAP uygulaması yapılmayan ancak düzenli sulama yapılan bitkilerin yapraklarında istatistiksel olarak farklılığın bulunmadığı dikkati çekmektedir. En düşük klorofil içeriği de membran zararlanmasının en yüksek olduğu 1. grup olan NASAP uygulaması yapılmaksızın kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerden elde edilmiş olduğu göze çarpmaktadır.

Pepino da kuraklık stresi üzerine yapılan araştırmada (Duman, 2013) pepino bitkisinin yapraklarında, deneme süresince (36 gün) kontrole göre stres gruplarında oransal su içerikleri ve pigmentlerin (Klorofil a, Klorofil b) azaldığı belirtilmiştir.

Bitkilerde ciddi zararlanmalara neden olan kuraklık stresinde hücre içi CO₂ seviyesindeki azalma elektron taşıma sistemindeki bileşiklerin aşırı azalmasıyla sonuçlanmakta (Medrano vd., 2002), süperoksit, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikallerini içeren reaktif oksijen türlerinin (Reactive Oxygene Species = ROS) oluşmasına neden olmaktadır (Mahajan ve Tuteja, 2005). ROS'un aşırı miktarda üretimi ise oksidasyon stresine yol açarak kloroplast zarlarında ciddi hasarlar oluşturduğu bilinmektedir. Bu durum klorofil miktarındaki azalmaların nedenlerinden birisi olarak açıklanabilmektedir.

Ozmotik stres, aminoasitler (prolin vb.), aminler (glisin-betain, poliaminler vb) şeker ve şeker alkoller (trehaloz, mannitol vb.) gibi çeşitli hücre sel bileşenlerde değişime neden olmaktadır. Bu metabolitler normal koşullarda metabolizmaya yönelik aktif

değilken, ozmotik stres koşulları altında yoğun bir şekilde sitoplazmada birikmektedirler (Chen vd., 2002), Turgor basıncında temel rol oynadıkları gibi proteinlerde ve hücre yapısında da stabilizasyon sağlamaktadırlar (Yancey vd., 1982). Stresle ilgili en önemli metabolitlerden birisi de prolin olup, birçok bitki stres koşulları altında prolin biriktirmektedir. Prolinin ozmotik stres koşulları altında sağladığı ozmotik uyumun yanı sıra, plazma mebranınin bütünlüğünü koruduğu da bildirilmiştir (Mansour, 1998). Araştırmada prolin içerikleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılığa rastlanılmamıştır. Bununla birlikte rakamsal olarak daha yüksek prolin değerine NASAP uygulaması yapılmaksızın kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde ulaşılmıştır. Bu durum aslında stresin yoğunluğunun da bir göstergesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Stres koşullarına bağlı olarak serbest prolin birikimi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bir amino asit olan prolin, stres altındaki bitkilerde hücre ve dokuların zarar görmesini önlemek amacıyla birikmektedir. Birçok çalışmada, prolinin ozmolit olarak görev yaptığı, hacmi dengelediği, proteinlerin stabilizasyonu, sitozolik ph'nın ve hidroksil radikallerinin düzenlenmesi gibi etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Rhodes vd. 2002, Matysik vd. 2002, Demiral ve Türkan 2003, Cramer vd. 2007). Nitekim Maralian vd. (2009), kuraklık stresine bağlı olarak buğdayda prolin içeriğinin arttığını belirlemişlerdir. Zou vd. (2012), pirinçde kuraklık ve tuzluluk stresine bağlı olarak prolin içeriklerin arttığını tespit etmişlerdir. Araştırmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde Güler vd. (2012) fasülye de Yakutiye (kuraklığa toleranslı) ve Zulbiye (kuraklığa duyarlı) çeşitlerinde kuraklığa bağlı olarak hem apoplastik hem de simplastik bölgelerde prolin derişiminin arttığını saptamışlardır.

Araştırmamızda prolin içeriklerinin uygulama grupları arasında farklılık göstermemesinin farklı nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Örneğin kuraklık stresinde sürecin daha uzun olması bu bakımdan daha farklı sonuçların elde edilmesine neden olabilecektir. Ya da kullanılan NASAP miktarının değiştirilmesi, daha geniş bir yelpazede NASAP kullanımı da bu değişikliği daha net ortaya çıkarabilecektir. Ayrıca daha fazla sayıda çeşit kullanılan çalışmalarda çeşitler arasında da gruplara göre değişen bir sonuç görmek daha olası gözükmemektedir. Dolayısıyla bir ilk niteliğinde olan bu çalışmadan sonra, yapılacak çalışmaları bu şekilde detaylandırmak ve geniş bir kapsamda incelemek sonuçların

değerlendirilmesi bakımından büyük önem taşımaktadır.

Lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) hücre zarında meydana gelen bir bozulmanın sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Araştırmamızda incelenen özelliklerden birisi de MDA içeriğindeki değişimlerdir. Gruplar arasında incelenen kriter bakımından farklılıkların olduğunun belirlendiği araştırmada bu bakımdan en yüksek değerin (12,926 $\mu\text{mol/g}$) dolayısıyla en yüksek zararlanmanın NASAP uygulaması yapılmayan ve kuraklık stresi uygulanan bitkilerden elde edildiği saptanmıştır. En düşük MDA içeriği ise sulama yapılan gruplardan elde edilmiştir. ROS'un membran lipitlerinde peroksidasyona ve de-esterifikasyona neden olabildiği, bu durumun ise protein denatürasyonuna ve nükleik asitlerin mutasyonuna yol açabildiği ifade edilmiştir (Bowler vd., 1992).

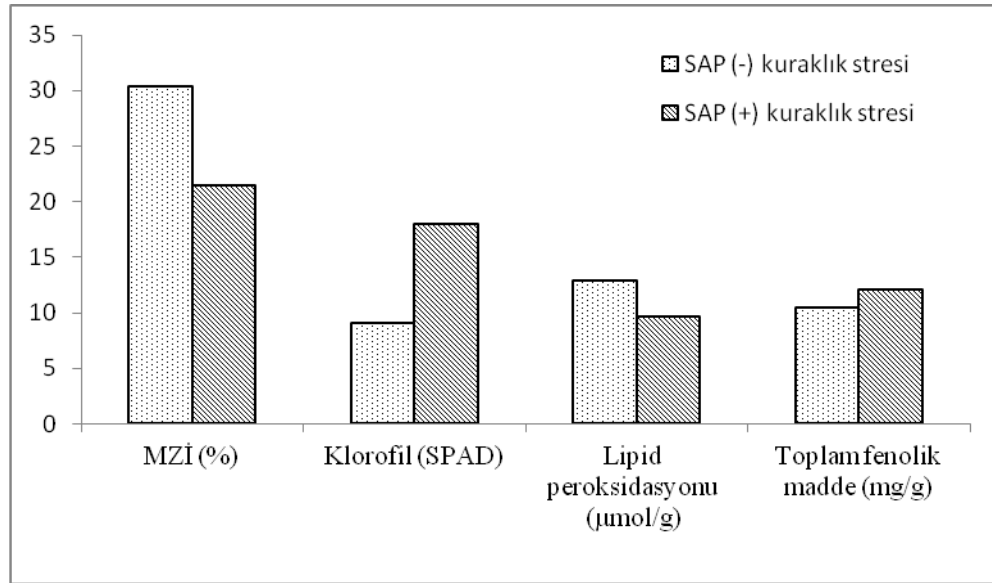
Pepino'da da kuraklık stresinde stres grubunda MDA değerlerinin kontrole göre yüksek olduğu belirtilmiş ve bu durum pepinonun çevresel stres faktörlerinden etkilenebileceğini ve serbest radikal oluşumunun yüksek olabileceğine bağlanmıştır (Duman, 2013). Araştırmamıza benzer şekilde söz konusu araştırmada da artan kuraklık stresine bağlı olarak pepino bitkisinin membranlarında oluşan MDA içeriğindeki artışın oksidatif hasarın bir göstergesi olabileceği ifade edilmiştir. Yin vd. (2005), *Populus kangdingensis* bitkisinin kuraklık stresine olan tepkilerini inceledikleri araştırmalarında kuraklık stresinin etkisiyle MDA içeriklerinin arttığını tespit etmişlerdir.

Fenolik bileşikler bitki bünyesinde sekonder olarak bulunan bileşikler içerisinde yer alan, özellikle kuraklık, tuzluluk, UV ışınları, ağır metal gibi değişik çevresel etmenlerin oluşturduğu stres ortamına karşı koyma (Langcake ve Pryce, 1976), ağır metaller (Adrian vd., 1996; Mithöfer vd., 2004) gibi birçok olayda görev alan bileşiklerdir. Araştırmada da bir stres ortamı kuraklık stresi uygulanmış olup, elde edilen sonuçlara göre gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklılığın bulunduğu görülmektedir. Araştırma sonucunda en yüksek toplam fenolik madde değerinin 21,617 mg/g ile stres uygulanmaksızın NASAP uygulaması yapılan bitkilerden elde edildiği görülmektedir. En düşük fenolik madde içeriği ise (10,477 mg/g) NASAP uygulaması yapılmayan ve kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerden elde edilmiştir.

Mehrjerdi vd. (2013) de farklı nohut (*Cicer arietinum* L.) genotiplerinde hidroponik şartlarda kuraklık stresinin etkisine bağlı olarak fenolik bileşikler, radikal temizleme aktiviteleri ve fotosentetik karakteristikleri araştırmışlardır. Araştırma sonucunda çalışmamıza benzer şekilde kuraklık stresinin artışı ile toplam fenollerin ve membran kararlılık indeksinin azaldığını belirtmişlerdir.

Ahmed vd. (2012) de kuraklık ve tuzluluk stresinin bahçe teresinin in vitro filiz kültürlerinde toplam fenolik, flavonoidler, flavanollerin içeriği ve antioksidant aktivitesini araştırmışlardır. Kuraklık ve tuzluluk stresinin farklı konsantrasyonlarına bağlı olarak toplam fenoliklerin değiştiğini ve kontrole göre arttığını belirlemişlerdir.

NASAP uygulamasının kuraklık stresinde bitkilerde bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri Şekil 13 de sunulmuştur.



Şekil 14. NASAP uygulaması yapılmayan (-) ve yapılan (+) bitkilerde kuraklık stresinin bazı biyokimyasal özellikler üzerine etkileri

Şekil 14'ün incelenmesi ile de anlaşılabacağı üzere bitkilere NASAP uygulaması kuraklık stresinde membran zararlanma derecesi ve lipid peroksidasyonunu azaltma, buna karşın klorofil miktarını ve toplam fenolik madde birikimini artırma yönünde etkiler göstermiştir.

SONUÇ

Kuraklık stresi günümüzde bitkisel üretimi sınırlayan önemli bir stres faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. Küresel ısınma ve mevcut su kaynaklarının hızla tükenmesi bu sorunu daha da artırmakta ve bu durum doğal olarak verim ve kaliteyi ciddi anlamda tehdit eder duruma gelmektedir. Her ne kadar bitki bünyesinde su alımı bakımından bir dengeleme söz konusu olsa da çok kurak koşullarda bitkiler aleminin büyük bir kısmında zararlanma olmakta ve hassas bitkilerde bu durum ölümle dahi sonuçlanmaktadır. Özellikle ekonomik önemi olan bitkiler düşünüldüğünde verim ve kalite kayıplarına neden olan bu streslere dayanım kazandırılması büyük önem taşımaktadır. Bitkisel üretimi ciddi anlamda tehdit eden bu durumu ortadan kaldırma olasılığı özellikle de kısa dönemde pek mümkün görülmemektedir. Bu nedenle toprakta mevcut suyu tutan ve sonra yavaş bir salınım ile bitkinin kullanımına sunan yaklaşımlar büyük önem taşımaktadır. Bitkiler aleminde suyun konumu elbette tartışılmaz. Burada önemli nokta bitkiler tarafından suyun alımı sürecinde bir düzenleme yapılabilmesidir.

NASAP uygulaması bu yaklaşımlara örnek olacak uygulamalardan birisi olarak büyük öneme sahiptir. *Nitekim NASAP, sulama yapıldığında verilen suyu öncelikle hapsedecek ve sonrasında bitkinin kullanımına sunacaktır.* Bu da kuraklığın yoğun olarak yaşandığı dönemlerde toprakta bir su rezervinin bulunacağını ifade etmektedir. Ayrıca burada kullanılan materyallerin bitkisel kökenli olması da sonrasında çevre sorunları yaratmayacak olması bakımından büyük önem taşımaktadır.

NASAP uygulamasında olduğu gibi farklı tarımsal atıkları değerlendirerek elde edilecek bu tip materyallerin bitkisel üretimde kullanılmasının ileride kuraklık stresinin azaltılmasında büyük bir potansiyel olacağı düşünülmektedir.

Araştırmadan elde edilen sonuçlar toplu olarak özetlenecek olursa;

☞ Bir bitkide zararlanmanın ilk belirtilerinden olan zararlanma derecesi bakımından en yüksek değer NASAP uygulamaksızın kuraklık uygulanan bitkilerde görülmüştür. Kuraklık ile birlikte NASAP uygulandığında zararlanma azalmıştır. En az zararlanma ise düzenli sulama yapılan bitkilerden elde

edilmiştir.

- ✦ Bir bitki hücresinde membranlarda zararlanma ne kadar yüksek ise hücre bütünlüğü o kadar bozulmakta ve EC değerleri yüksek çıkmaktadır. Bu çalışmada en yüksek EC değeri NASAP uygulamaksızın kuraklık uygulanan bitkilerde belirlenmiştir. NASAP ve kuraklık stresi bir arada uygulandığında zararlanma daha düşük olmuştur
- ✦ Sağlıklı bitkilerde bitkiye yeşil rengini veren klorofil pigmentinin korunduğu bilinmektedir. Dolayısıyla klorofil miktarının yüksek olması bitkinin sağlıklı olmasının bir göstergesidir. Bu çalışmada en yüksek klorofil oluşumu sulama ve NASAP uygulaması birlikte yapılan bitkilerde görülmüştür. **NASAP ve kuraklık uygulaması ile düzenli sulama uygulamalarında ise klorofil miktarı benzer bulunmuştur.** En düşük klorofil içeriği de NASAP uygulamaksızın kuraklık uygulanan bitkilerde belirlenmiştir.
- ✦ MDA miktarı hücrelerde stresin bir ölçütü olup yüksek MDA yüksek zararlanmayı göstermektedir. **Araştırmamızda da en yüksek MDA dolayısıyla en yüksek zararlanma NASAP uygulamaksızın kuraklık stresi uygulanan bitkilerde tespit edilmiştir.** En düşük MDA içeriği ise sulama yapılan gruplardan elde edilmiştir.
- ✦ Bitkinin çevredeki streslere verdiği tepkilerden birisi de fenolik madde üretimidir. Bununla birlikte farklı streslerde fenolik madde üretimi tepkisinin farklı olduğu da bilinmektedir. Örneğin sulama yapılmasının fenolik bileşik miktarını artırdığı tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda en yüksek toplam fenolik madde NASAP uygulaması ile birlikte düzenli sulama yapılan bitkilerden elde edilmiştir. En düşük fenolik madde ise NASAP uygulaması yapılmayan ve kuraklık uygulanan bitkilerden elde edilmiştir.
- ✦ *Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde NASAP uygulamasının bitkiler üzerinde susuzluktan kaynaklanan streslerin hafifletilmesinde son derece etkili olduğu görülmektedir.*

KAYNAKLAR

- 1- Adrian, M., Jeandet, P., Bessis, R., Joubert, J.M., “Induction of phytoalexin (resveratrol) synthesis in grapevine leaves treated with aluminum chloride ($AlCl_3$)”, Journal of Agricultural Food and Chemistry, 44, 1979-1981, 1996.
- 2- Ahmed, A.R., Gabr, M.M. Hanan, A.E., Al-Sayed, M. A. and Smetanska, I. 2012. “Effect of drought and salinity stress on total phenolic, flavonoids and flavonols content and antioksidant activity in in vitro sprout cultures of garden cress (*Lepidium sativum*)”. Journal of Applied Science Research, 8(8), 3934-3942.
- 3- Anonim, 1997. International Plant Genetic Resources Institute. Descriptors for grapevines (*Vitis* spp.), http://www.ecpgr.cgiar.org/Descriptors_for_grapevine_Vitis_spp. Son erişim tarihi: 14.09. 2016.
- 4- Bartels, D., Sunkar, R. 2005. “Drought and Salt Tolerance in Plants”, Critical Reviews in Plant Sciences, 24(1), 23-58.
- 5- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. 1973. “Rapid determination of free proline for water stress studies”, Plant and Soil, 39, 205-207.
- 6- Bota, J., Medrano, H., Flexas, J. 2004. “Is Photosynthesis Limited by Decreased Rubisco Activity and RuBP Content Under Progressive Water Stress?” New Phytologist, 162(3), 671-681.
- 7- Bowler, C., Montagu, M. V., Inze, D. 1992. “Superoxide Dismutase and Stress Tolerance”, Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43(1), 83-116.
- 8- Chen THH, Murata N, “Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes”, Current Opinion in Plant Biology; 5:250-257, 2002.
- 9- Cramer, G.R., Ergül, A., Grimplet, J., Tillet, R.L. 2007. “Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles”. Functional and Integrative Genomics, 7, 111-134.
- 10- Demiral, T. and Türkan, I. 2003. “Does exogenous glycinebetaine affect antioxiidative system of rice seedling under NaCl treatment”, Journal of Plant Physiology, 61, 1089-1110.

- 11-Duman, S., 2013. "Solanum muricatum Ait. Bitkisinin Kuraklık Stresine Karşı Bazı Fizyolojik Değişimlerinin İncelenmesi", Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman.
- 12-Fan, S., Blake, T.J. 1994. "Absciscic acid induced electrolyte leakage in woody species with contrasting ecological requirements", *Physiologia Plantarum*, 90(2), 414-419.
- 13-Göksoy, A.T., Turan, Z.M. 1991. "Kuraklığın Bitki Fizyolojisi ve Morfolojisi Üzerine Etkileri", *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8, 149-190.
- 14-Guler, N.S., Saglam, A., Demiralay, M., Kadioglu, A. 2012. "Apoplastic and symplastic solute concentrations contribute to osmotic adjustment in bean genotypes during drought stress". *Turkish Journal of Biology*, 36, 151-160.
- 15-Langcake, P., Pryce, R.J., 1976. "The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury", *Physiology of Plant Pathology*, 9, 77-86.
- 16-Madhava Rao, K.V., Sresty, T.V.S., 2000. "Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stres", *Plant Science*, 157, 113-128.
- 17-Mahajan, S., Tuteja, N. 2005. "Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), 139-158.
- 18-Mansour, M.M.F., 1998. "Protection of plasma membrane of onion epidermal cells by glycinebetaine and proline against NaCl stress", *Plant Physiol Biochem*, 36,767-772.
- 19-Maralian, H., Moharram, H., Johari, P. 2009. "Evaluation of 10 wheat cultivars under water stress at Moghan (Iran) condition. *African Journal of Biotechnology*,10, 10900-10905.
- 20-Matysik, J., Bhalu, B., Mohanty, P. 2002. "Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants", *Current Science*, 82, 525-532.
- 21-Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulías, J., Flexas, J. 2002. "Regulation of Photosynthesis of C3 Plants in Response to Progressive Drought: Stomatal Conductance As A Reference Parameter", *Annals of Botany*, 89(7), 895-905.

- 22-Mehrjerdi, M.Z., Bagheri, A., Bahrami, A.R., Nabati J., Massomi A. 2013. "Effect of drought stress on photosynthetic characteristics, phenolic compounds and radical scavenging activities in different chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes in hydroponic conditions". Journal of Science and Technology, 3,59-76.
- 23-Mithöfer, A., Schulze, B., Boland, W., 2004. "Biotic and heavy metal stress response in plants: evidence for common signals. FEBS Letters", 566, 1-5.
- 24-Premachandra, G.S., Saneoka, H., Fujita, K., Ogata, S., 1992. "Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in Sorghum", Journal of Experimental Botany, 43: 1569-1576, 1992.
- 25-Rhodes, O.E., Travis, L.D., Lehr, B. 2002. "Factors influencing the acquisition of rodent carrion by vertebrate scavengers and decomposers". Canadian Journal of Zoology, 82, 502-509.
- 26-Singleton, V.L., Rossi, J.R. 1965. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid", American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158.
- 27-Yancey, P.H., Clark, M.E., Hand, S.C., Bowlus, R.D., Somero, G.N., 1982. "Living with water stress: evolution of osmolyte systems", Science, 217, 1214-1222.
- 28-Yin, C., Peng, Y., Zang, R., Zhu, Y., Li, C., 2005. "Adaptive responses of *Populus kandingensis* to drought stress", Physiologia Plantarum, 123, 445-451.
- 29-Zou, J., Liu, C., Liu, A., Zou, D., Chen, X., 2012. "Overexpression of OsHsp 17.0 and OsHsp 23.7 enhances drought and salt tolerance in rice", Journal of Plant Physiology, 169, 628-635.