



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KISA SÜRELİ KURAKLIK STRESİ
ALTINDAKİ BUĞDAYDA METİLGLİOKSAL (MG)
MİKTARI ÜZERİNE GLİSİN BETAIN'İN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevgi DONAT

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Okan ACAR**

ÇANAKKALE – 2022



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KISA SÜRELİ KURAKLIK STRESİ
ALTINDAKİ BUĞDAYDA METİLGLİOKSAL (MG)
MİKTARI ÜZERİNE GLİSİN BETAİN'İN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevgi DONAT

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Okan ACAR

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2022-3922

ÇANAKKALE – 2022

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Sevgi DONAT

23/12/2022

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen bilgisi ve öğrettikleriyle bana yol gösteren saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Okan ACAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım, Uzman Biyolog Müge TEKER YILDIZ, Eda GÜNAY ve Gamze BALTACIER'e teşekkür ederim.

MG analizi için yardımlarını esirgemeyen ve beni bilgilendiren Kaliforniya Üniversitesi, Riverside Biyokimya bölümü doktora öğrencisi Jacob MacWilliams'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu süre zarfında sabır ve sevgisiyle daima yanımda olan, başarılı olacağıma inanan ve desteğini bir an olsun esirgemeyen sevgili arkadaşım Taner TENEKECİ'ye çok teşekkür ederim. Uzakta da olsa çalışmam boyunca her zaman yanımda olduğunu hissettiren değerli arkadaşım Tuğçe ALTIN'a candan teşekkürü bir borç bilirim.

Yaşam boyu, desteğini daima hissettiren biricik rahmetli babam Nazmi DONAT, canım annem Kader CANDAŞ, kardeşim Yusuf DONAT ve dedem Musa DONAT ile manevi annem ve babam Ünzile YALÇIN ve Zeki YALÇIN'a da sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sevgi DONAT
Çanakkale, Aralık 2022

ÖZET

KISA SÜRELİ KURAKLIK STRESİ ALTINDAKİ BUĞDAYDA METİLGİOKSAL (MG) MİKTARI ÜZERİNE GLİSİN BETAİN'İN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Sevgi DONAT

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Okan ACAR

23/12/2022, 55

Küresel iklim değişikliğinin sonuçlarından biri olan kuraklık, tarımsal sürdürülebilirliği ve verimi olumsuz yönde etkileyen en büyük sorundur. Bitkiler, kuraklık gibi çevresel stres koşulları altında metilglioksal (MG) gibi toksik aldehitler üretmektedir. Reaktif karbonil türü (RKT) olan MG hücrede özellikle kloroplast ve mitokondride hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu teşvik ederek oksidatif hasara neden olmaktadır. Glisin betain (GB) gibi ozmolitler, kuraklık stresinin neden olduğu oksidatif hasarın yıkıcı etkilerinin azaltılmasında ozmo-koruyucu olarak rol oynar.

Bu çalışmada, iki buğday çeşidine (kuraklığa-duyarlı Selçuklu, kuraklığa- dayanıklı Demir-2000) eksojen GB uygulamasının kısa süreli kuraklık stresi altında fizyolojik [kök ve gövde uzunluğu, biyokütle, spesifik yaprak alanı (SYA), toplam klorofil içeriği, bağıl su içeriği (BSİ)] ve biyokimyasal (toplam protein, H_2O_2 ve MG miktarı) parametreler üzerine etkisi araştırılmıştır. Buna göre, 20 günlük buğday fidelerine 5 mM GB foliar olarak püskürtülerek uygulamayı izleyen 24. saatte kuraklık stresi başlatılmış ve 7 günün sonunda bitki örnekleme yapılmıştır.

Sonuçlarımız, Selçuklu çeşidinde GB uygulamasının kuraklık stresinin negatif etkilerini azaltıp fizyolojik parametreleri arttırdığı fakat, Selçuklu çeşidinde daha etkili olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak eksojen GB uygulamasının H_2O_2 ve MG'nin yarattığı toksik etkileri her iki çeşitte de kontrol seviyesinde koruduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Buğday, Kuraklık Stresi, Glisin Betain, Reaktif Karbonil Türü, Metilglioksal



ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF GLYCINE BETAINE ON THE AMOUNT OF METHYLGLYOXAL (MG) IN WHEAT UNDER SHORT-TERM DROUGHT STRESS

Sevgi DONAT

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Biological Science

Advisor: Prof. Dr. Okan ACAR

12/23/2022, 55

Drought is one of the consequences of global climate change, and it is the biggest problem that negatively affects agricultural sustainability and yield. Plants produce toxic aldehydes such as methylglyoxal (MG) under environmental stress conditions, including drought. MG, which is a reactive carbonyl species (RCS), causes oxidative damage by promoting the formation of reactive oxygen species (ROS) such as hydrogen peroxide (H_2O_2) in the cell, especially in the chloroplast and mitochondria. Osmolytes such as glycine betaine (GB) act as osmo-protectants in reducing the destructive effects of oxidative damage caused by drought stress.

In this study, the effect of exogenous GB application on two wheat cultivars (drought-sensitive Selçuklu, drought-resistant Demir-2000) on physiological [root and shoot length, biomass, specific leaf area (SLA), total chlorophyll content, relative water content (RWC)] and biochemical (total protein, H_2O_2 and MG amount) parameters under short-term drought stress were investigated. Accordingly, 20-day-old wheat seedlings were sprayed with 5 mM GB foliar, drought stress was initiated at the 24th h following the application and plant sampling was performed at the end of 7 days.

Our results showed that GB application in Selçuklu cultivar decreased the negative effects of drought stress and increased physiological parameters, but it was more effective

in Selçuklu cultivar. In addition, it was determined that the application of exogenous GB preserved the toxic effects of H₂O₂ and MG at the control level in both cultivars.

Keywords: Wheat, Drought Stress, Glycine Betaine, Reactive Carbonyl Species, Methylglyoxal



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1.1. Bitkilerde Stres Faktörleri.....	17
1.2. Bitkilerde Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	17
1.3. Bir Reaktif Karbonil Türü Olarak Metilglioksal	19
1.4. Buğday Üretimi ve Kuraklık Stresi.....	23
1.5. Kuraklık Stresiyle İlişkili Osmolitler.....	23
1.5.1. Kuraklık Stresi Altında Glisin Betain' nin Durumu.....	24

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kavram ve Terimler.....	26
2.2. Önceki Çalışmalar.....	26

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali.....	29
3.2. Bitki Materyalinin <i>İn Vitro</i> Şartlarda Yetiştirilmesi.....	29

3.3.	Kuraklık Stresi ve Glisin Betain Uygulaması.....	30
3.4.	Fizyolojik Parametreler.....	30
3.4.1.	Çimlenme Yüzdesi.....	30
3.4.2.	Gövde-Kök Uzunluğu.....	31
3.4.3.	Fide Ağırlığı (Biyokütle).....	31
3.4.4.	Spesifik Yaprak Alanı (SYA).....	32
3.4.5.	Bağlı Su İçeriği (BSİ).....	32
3.4.6.	Toplam Klorofil İçeriği.....	32
3.5.	Biyokimyasal Analizler.....	32
3.5.1.	Toplam Protein Miktarı.....	33
3.5.1.1.	Protein Standart Eğrisinin Hazırlanması.....	33
3.5.2.	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı.....	34
3.5.3.	H ₂ O ₂ Birikiminin Histokimyasal Boyama ile Belirlenmesi.....	34
3.5.4.	Metilglioksal (MG) Miktarı.....	34
3.5.4.1.	Metilglioksal Standart Eğrisinin Hazırlanması.....	35
3.6.	İstatiksel Analiz.....	35

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.	Petri Denemesi.....	36
4.1.1.	Çimlenme Denemesi.....	36
4.2.	Saksı Denemesi.....	36
4.2.1.	Gövde-Kök Uzunluğu.....	36
4.2.2.	Fide Ağırlığı (Biyokütle).....	38
4.2.3.	Spesifik Yaprak Alanı (SYA).....	39
4.2.4.	Bağlı Su İçeriği (BSİ).....	40
4.2.5.	Toplam Klorofil İçeriği.....	41
4.2.6.	Toplam Protein Miktarı.....	42
4.2.7.	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı.....	43
4.2.8.	H ₂ O ₂ 'nin Histokimyasal Tespiti.....	44
4.2.9.	Metilglioksal (MG) Miktarı.....	46
4.3.	İstatiksel Bulgular.....	46

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER.....	47
KAYNAKÇA	49
ÖZGEÇMİŞ	I



SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
°C	Santigrat derece
µl	Mikro litre
α-KG	α-ketoglutarat
¹ O ₂	Tekli oksijen
2,4-D	2,4-diklorofenoksiasetik asit
24-eBL	24-epibrassinolid
AGE'ler	İleri glikasyon son ürünleri
ALR	Aldoz-aldehit redüktaz
AKR	Aldo-keto redüktaz
APX	Askorbat Peroksidaz
AsA-GSH	Askorbat-glutasyon
BADH	Betain aldehit dehidrojenaz
Bet	Betain
BM	Birleşmiş milletler
BSİ	Bağlı su içeriği
BSA	Bovine serum albümin
CAT	Katalaz
Cd	Kadmiyum
cm	Santimetre
cm ²	Santimetre kare
CO ₂	Karbondioksit
DAB	3',3'-diaminobenzidin
DHAP	Dihidroksiaseton fosfat
F-6P	Fruktoz-6-fosfat
F-1,6P2	Fruktoz 1,6-bisfosfat
FS I	Fotosistem I
FS II	Fotosistem II
g	Gram
G-6P	Glukoz 6- fosfat

GA-3P	Gliseraldehit 3-fosfat
GB	Glisin betain
GLY I	Gliyoksalaz I
GLY II	Gliyoksalaz II
GLY III	Gliyoksalaz III
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ PO ₄	Dihidrojen fosfat
H ₂ SO ₄	Sülfirik asit
K	Potasyum
K ₂ CO ₃	Potasyum karbonat
KMO	Kolin dehidrojenaz
M	Mol
mM	Milimolar
Mal	Malat
MAO	Monoamin oksidaz
MG	Metilglioksal
ml	Mililitre
Na ⁺	Sodyum iyonu
Na-P	Sodyum-fosfat
NADH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
nm	Nanometre
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
OAA	Oksaloasetat
OH [•]	Hidroksil radikali
PK	Protein kinaz
POX	Peroksidaz
Pro	Prolin
RKT	Reaktif karbonil türü
ROT	Reaktif oksijen türü
Si	Silisyum

SOD	Süperoksit dismutaz
TF	Transkripsiyon faktörü
Tre	Trehaloz



TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Metilglioksal standart eğrisini geliştirmek için kullanılan reaktifler ve konsantrasyonları	34
Tablo 2	Saksı denemesi Selçuklu ve Demir-2000 çeşitlerinin yaprak ve kök dokusunda incelenen parametrelerin tek yönlü varyans analizi sonuçları	47



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemlerin gösterimi	19
Şekil 2	Farklı hücresel organellerde MG toksisitesine genel bakış	20
Şekil 3	Bitkilerde ROT ve MG detoksifikasyonunda yer alan askorbat-glutatyon (AsA-GSH) döngüsü ve gliyoksalaz sistemi	21
Şekil 4	MG biyosentezi, zararlı etkileri ve detoksifikasyon yoluyla gliyoksalaz sistemi	22
Şekil 5	Ozmolitlerin sınıflandırılması	24
Şekil 6	Kolinden glisin betainin biyosentezi	25
Şekil 7	Çimlenen tohumların perlit dolu saksılara aktarılması	29
Şekil 8	Bitkilerin yetiştirilmesinde kullanılacak deneme deseni	30
Şekil 9	5 mM GB'nin buğday fidelerine eksojen olarak püskürtülmesi	30
Şekil 10	Protein standart eğri grafiği	33
Şekil 11	Metilglioksal standart eğri grafiği	35
Şekil 12	<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Selçuklu ve cv. Demir-2000 buğday çeşitlerinde 7 günlük çimlenme denemesi	36
Şekil 13	Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde kök ve gövde uzunluğu üzerine etkileri	37
Şekil 14	Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde fide boyları üzerindeki etkileri	38
Şekil 15	Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde biyokütle üzerine etkileri	39
Şekil 16	Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde spesifik yaprak alanı üzerine etkileri	40
Şekil 17	Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde bağıl su içeriği üzerine etkileri	41

Şekil 18	Kuraklık uygulaması ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde toplam klorofil miktarı üzerine etkileri	42
Şekil 19	Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde toplam protein miktarı üzerine etkileri	43
Şekil 20	Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde hidrojen peroksit miktarı üzerine etkileri	44
Şekil 21	Histokimyasal boyama ile Selçuklu çeşidinde kuraklık ve GB uygulamasının H ₂ O ₂ miktarına etkileri	45
Şekil 22	Histokimyasal boyama ile Demir-2000 çeşidinde kuraklık ve GB uygulamasının H ₂ O ₂ miktarına etkileri	45
Şekil 23	Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde MG miktarı üzerine etkileri	46

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1.1. Bitkilerde Stres Faktörleri

Günümüzde popüler bir sorun olan küresel iklim değişikliği, çeşitli stres faktörlerinin artmasına neden olmaktadır (Xiong vd., 2022). Öyle ki, iklim değişikliği bitkide büyüme ve gelişmeyi düzenleyen sinyal iletim ağlarını olumsuz etkileyerek, metabolik, moleküler ve fizyolojik tepkilerde değişikliğe neden olmaktadır (Devireddy vd., 2021). Bitkilerdeki içsel denetim altındaki büyüme ve gelişme olayları, çevresel faktörlerin etkisi altındadır. Buna bağlı olarak bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi engelleyen potansiyel olarak olumsuz herhangi bir çevresel faktör “stres” kavramını ortaya çıkarmaktadır (Yavaş ve İlker, 2020).

Bitkilerin yaşam döngülerinde biyotik ve abiyotik streslere maruz kalmaktadır (Lichtenthaler, 1996). Patojen kaynaklı (fungus, bakteri ve virüs) enfeksiyon, yabancı otlar, herbivorlar ve böceklerin saldırıları sonucu oluşan stres faktörleri “biyotik stres” olarak adlandırılırken; ağır metal, pH, sıcaklık, donma, tuzluluk ve kuraklık gibi çevre faktörleri ise “abiyotik stres” olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde bunlardan özellikle küresel iklim değişikliğine bağlı olarak meydana gelen kuraklık stresi, bitki büyümesini ve gelişmesini buna bağlı olarak verimi azaltan abiyotik stres faktörlerinden birisidir (Dietz vd., 2021). Bitkilerin stres toleransı, stresin yoğunluğu ve süresi o bitkinin büyümesine ve gelişmesine ile doğrudan ilişkilidir. Bitkide stres toleransının yetersizliği onun ölüme neden olabilir.

1.2. Bitkilerde Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Oksijenli yaşamın doğal bir sonucu olarak bitkiler normal solunum ve fotosentez süreçlerinde yan ürün olarak reaktif oksijen türlerini (ROT) üretirler. Bitki hücresinde ROT üretiminin temel kaynakları kloroplast, mitokondri, endoplazmik retikulum, apoplast ve peroksizomlardır (Das ve Roychoudhury, 2014). Bu yapılarda bulunan etkili bir antioksidan mekanizmaya rağmen, çevresel faktörler altında ROT artışı redoks homeostazının dengesinin kolayca bozulmasına yol açmaktadır (Van Breusegem ve Dat, 2006).

Kuraklık stresi stomaların kapanmasına neden olduğunda hücre içi karbondioksit (CO₂) konsantrasyonunun yetersiz olmasına yol açmaktadır. Bu durum kloroplastlarda

üretileen ve güçlü bir oksitleyici etkiye sahip olan tekli oksijen (1O_2) oluşumunu tetiklemektedir. Bu durum kloroplastlardaki fotosistemlerde (fotosistem I ve fotosistem II) zarara neden olan güçlü oksitleyici etkiye sahip 1O_2 oluşumunu tetiklemektedir (Dietz vd., 2016).

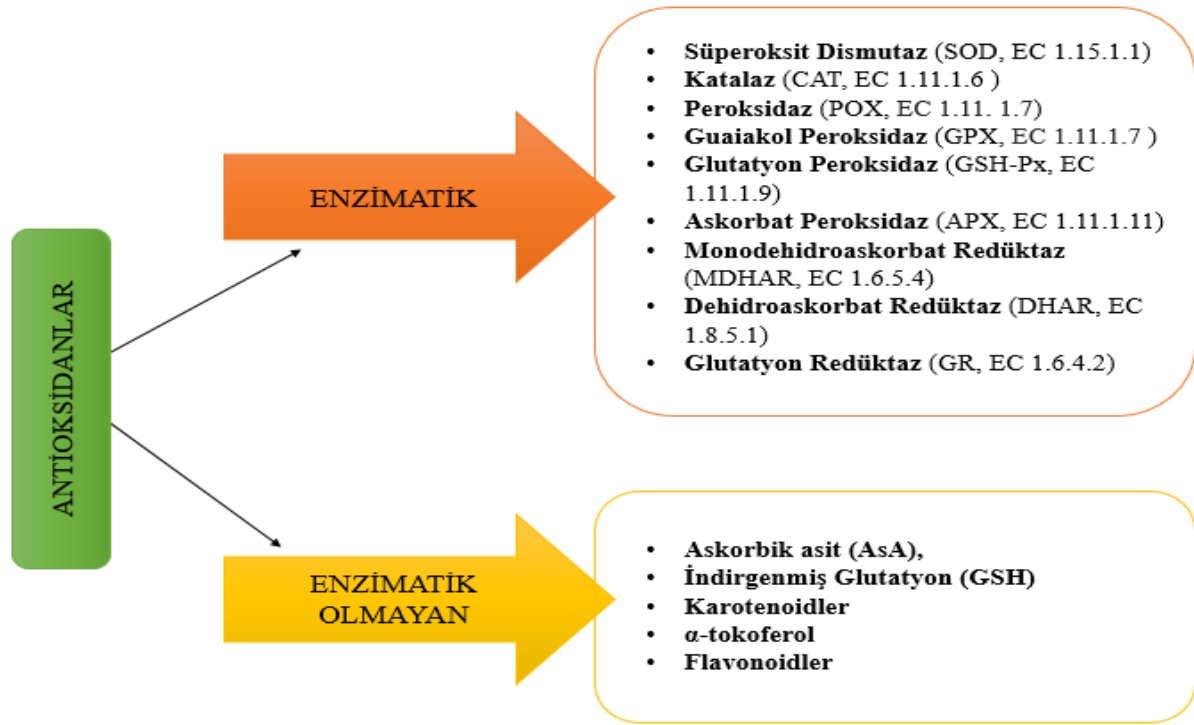
Başka bir ROT olan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), siklik olmayan fotofosforilasyonda kloroplastta FS I'de oluşur. $O_2^{\cdot-}$ diğer ROT'lara göre orta derecede reaktif olduğundan dolayı daha toksik etki yaratan hidroksil radikali (OH^{\cdot}) ve 1O_2 'ye dönüşerek lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Das ve Roychoudhury, 2014).

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimi katalitik seviyesinin yüksek olmasından dolayı hücrelerde $O_2^{\cdot-}$ birikimini azaltır. Mitokondri ve kloroplastta SOD tarafından katalize edilen bir reaksiyonla oluşan hidrojen peroksit (H_2O_2), yüksek konsantrasyonlarda hücrenel hasara neden olmakta; düşük konsantrasyonlarda ise hücre sinyal düzenlemesi ve farklılaşmasında da rol oynamaktadır (Büyük vd., 2012).

En reaktif ve en toksik olan ROT hidroksil radikalidir (OH^{\cdot}). Bu radikali süpürmek için bir enzim sistemi olmadığından tüm biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek hücrede kalıcı hasarlara neden olmaktadır (Bhattacharjee, 2005).

Bununla birlikte ROT'ların hücre içi konsantrasyonunun artması hücrenel homeostazı bozarak yapılarda hasara yol açıp "oksidatif stresi" beraberinde getirmektedir. Oksidatif stres lipidleri perokside ederek, proteinleri oksitleyerek, nükleik asitlerde zarara yol açarak, enzimleri inhibe ederek ve apoptozisi aktive ederek sonuçta hücre ölümüne yol açabilir (Xie vd., 2019).

Bitkiler oksijenin zararlı etkilerinden korunmak ve stresle başa çıkabilmek için bir antioksidan savunma sistemine sahiptirler. Bu savunma sistemi enzimik ve non-enzimik olmayan antioksidanlardan oluşmaktadır (Şekil 1) (Hasanuzzaman vd., 2020).



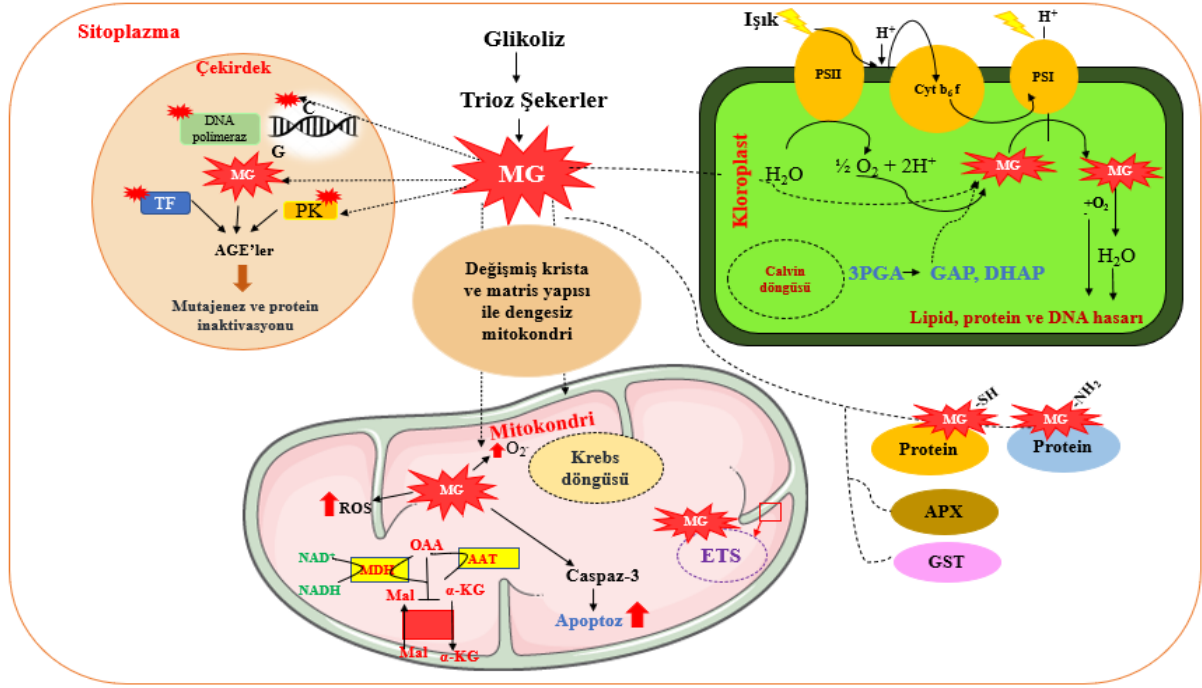
Şekil 1. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemlerin gösterimi (Hasanuzzaman vd., 2020).

1.3. Bir Reaktif Karbonil Türü Olarak Metilglioksal

Bitkiler kuraklık gibi stres faktörlerinden herhangi birine maruz kaldığında toksik aldehitler üretirler. Bunlardan metilglioksal (MG) en yaygınıdır (Hossain vd., 2009). Reaktif karbonil türü (RKT) olan MG hücrede aşırı biriktiğinde ROT üretimini teşvik eder ve bu da ileri glikasyon son ürünlerini (AGE'ler) üreterek protein bozulmasını artırır, antioksidan savunma sistemini inaktive eder ve DNA zincir kırılmalarını ve nokta mutasyonlarını indükler (Kaur vd., 2016; Mostofa vd., 2018). Aynı zamanda, proteinler ve nükleik asitlerle kolayca çapraz bağlar oluşturabilen oldukça reaktif bir sitotoksik alfa-oksoaldehit bileşiğidir (Kaur vd., 2016).

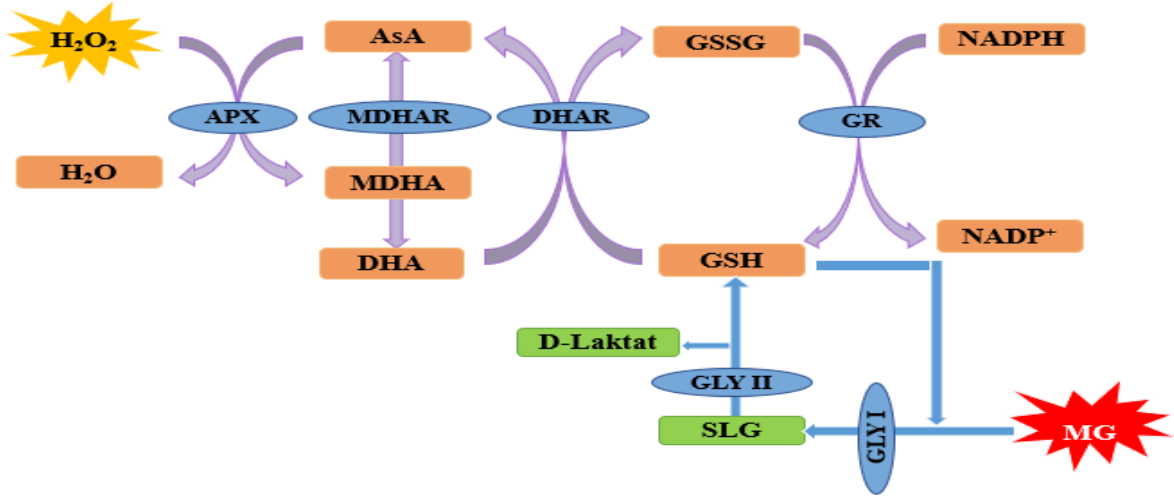
Aldehit ve keton olmak üzere iki fonksiyonel gruba sahip olan MG, bu grupların varlığından dolayı kolayca redoks reaksiyonlarına girebilir. MG'nin aldehit grubu, herhangi bir fonksiyonel grup ile etkileşime daha yatkındır ve bu fonksiyonel gruplar aracılığıyla nükleik asit ve proteinleri kolayca değiştirebilir (Kaur vd., 2016). Diğer yandan glikoliz, fotosentez, glikolizin oksidatif bozunması ve lipid peroksidasyon gibi birçok metabolik süreç

tarafından MG'nin endojen olarak kloroplast, mitokondri ve sitozolde üretilbildiği rapor edilmiştir (Şekil 2) (Li vd., 2017).



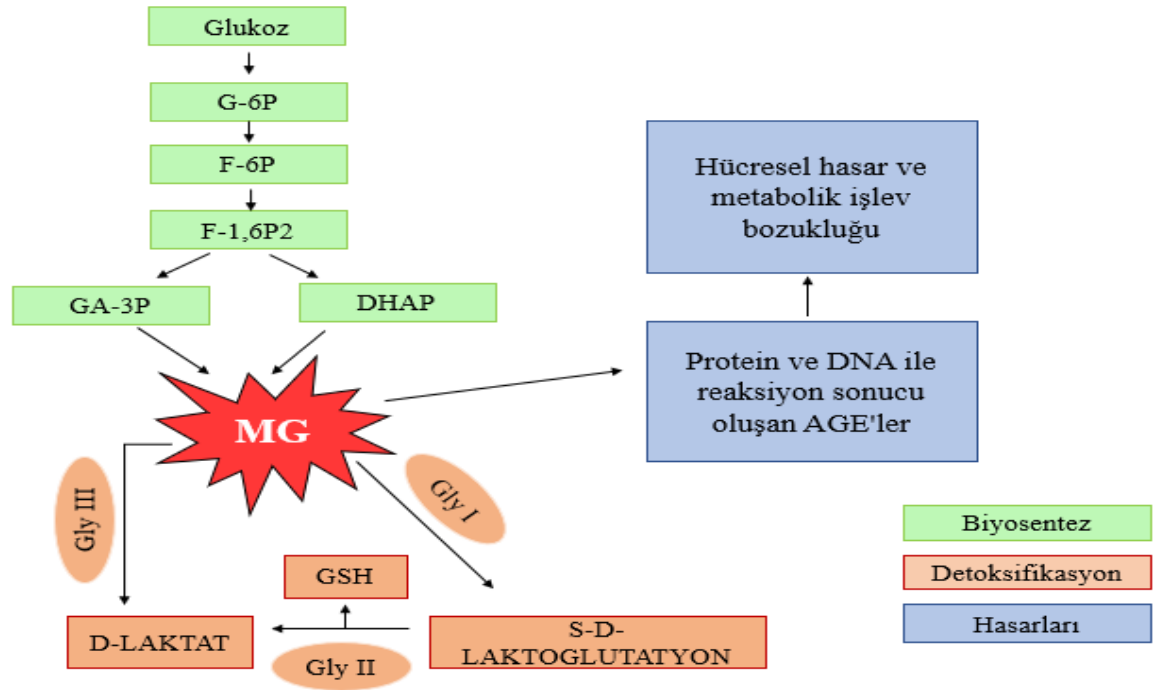
Şekil 2. Farklı hücrel organellerde MG toksisitesine genel bakış. α -KG: α -ketoglutarat, AGE'ler: İleri glikasyon son ürünleri, APX: Askorbat peroksidaz, GST: Glutasyon S transferaz, Mal: Malat, MG: Metilglioksal, OAA: Oksaloasetat, PK: Protein kinaz, ROS: Reaktif oksijen türleri, TF: Transkripsiyon faktörü (Kaur vd., 2016'dan değiştirilerek).

MG, hücre içinde monoamin oksidaz (MAO), sitokrom P450 (CP450) ve MG sentaz (MGS) etkinliğinde üç basamakta üretilmektedir. Bu enzimlerin amino asitler, yağ asitleri ve glukoz metabolizmasından türetilen substratlar üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (Mostofa vd., 2018). Hücreler, MG'nin zararlı etkilerinden korunmak için MG-detoksifiye edici gliyoksalaz enzim sistemi ile donatılmıştır (Şekil 3). İndirgenmiş glutasyon (GSH) ihtiyacı bağlamında bu sistemde GSH-bağımlı ve GSH-bağımsız olmak üzere iki farklı enzim grubu mevcuttur (Mostofa vd., 2018).



Şekil 3. Bitkilerde ROT ve MG detoksifikasyonunda yer alan askorbat-glutasyon (AsA-GSH) döngüsü ve gliyoksalaz sistemi (Hasanuzzaman ve Fujita, 2011'den değiştirilerek).

MG, gliyoksalaz yolağındaki gliyoksalaz I (GLY I, S-D-laktoilglutasyon liyaz; EC 4.4.1.5) ve gliyoksalaz II (GLY II, S-(2-hidroksiasil) glutasyon hidrolaz; EC 3.1.2.6), kofaktör olarak indirgenmiş glutatyona (GSH) bağlı bir şekilde toksik olmayan D-laktata detoksifiye edilir (Sankaranarayanan vd., 2017). Canlı sistemler GSH'ye bağlı gliyoksalaz yoluna ek olarak, ayrıca GSH'den bağımsız gliyoksalaz III'e (GLY III) de sahiptir. GLY III'ün katalitik mekanizması diğerlerinden farklı olarak MG'yi GSH ve metal iyonları gerektirmeden doğrudan D-laktata dönüştürebilir (Şekil 4) (Ghosh vd., 2016; Hasanuzzaman vd., 2017; Hoque vd., 2016). Ayrıca MG, redoks reaksiyonlarında yer alan oksidoredüktazlar veya dehidrojenazlar tarafından nötralize edilebilir. MG, NAD(P)H'ye bağlı aldo-keto redüktaz (AKR) veya aldoz-aldehit redüktaz (ALR) etkisiyle asetol veya laktaldehite indirgenebilir (Mostofa vd., 2018).



Şekil 4. MG biyosentezi, zararlı etkileri ve detoksifikasyon yoluyla gliyoksalaz sistemi (G-6P: Glukoz 6- fosfat, F-6P: Fruktoz 6-fosfat, F-1,6P2: Fruktoz 1,6-bisfosfat, GA-3P: Gliseraldehit 3-fosfat, DHAP: Dihidroksiaseton-fosfat, GSH: İndirgenmiş glutatyon, Gly I: Gliyoksalaz I, Gly II: Gliyoksalaz II, Gly III: Gliyoksalaz III, AGE'ler: İleri glikasyon son ürünleri) (Hasanuzzaman vd., 2017'den değiştirilerek).

MG'nin düşük konsantrasyonlarda stres tepkisini düzenlemek için bir sinyal molekülü olarak işleve sahipken (Li, 2019), yüksek konsantrasyonda ise bitki hücresinde için toksisiteye, hücre proliferasyonunda inhibisyona, protein bozulmasında artışa ve antioksidan savunma sisteminde inaktivasyona neden olduğu rapor edilmiştir (Hasanuzzaman ve Fujita, 2011).

1.4. Buğday Üretimi ve Kuraklık Stresi

Birleşmiş Milletler (BM) nüfus veri tahminlerine göre dünya nüfusunun 2050'de yaklaşık olarak 9,8 milyarı geçmesi beklenmektedir. Buna bağlı olarak hızla artan dünya nüfusunun beslenebilmesi için sürdürülebilir gıda kaynağına olan ihtiyaç gitgide önem kazanmaktadır. Ek olarak, küresel iklim değişikliği kaynaklı tarımsal üretim miktarının

düşmesi genel olarak sürdürülebilir gıdaya ulaşımı da zorlaştırmaktadır. Ülkemiz bugün önemli bir tarım ürünü olan buğday gibi tohumları ithal etmektedir (Özüpekçe, 2020).

Günümüzde, küresel ölçekte stratejik bir tarım ürünü olan buğday, dünya çapında yetiştirilen en yaygın başlıca gıda ürünüdür. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) buğdaygillerden (*Poaceae*) olup, tek yıllık otsu bitki türüdür. Türkiye'de 2020 ve 2021 yıllarında sırasıyla 20,5 ve 17,6 ton buğday üretimi rapor edilmiştir (TÜİK, 2022). Üretimdeki bu azalma küresel iklim değişikliğine bağlı olarak sıcaklık ve kuraklıktaki artışlar sonucunda tarımsal üretkenliğin ve verimin olumsuz yönde etkilenmesinden kaynaklanmaktadır.

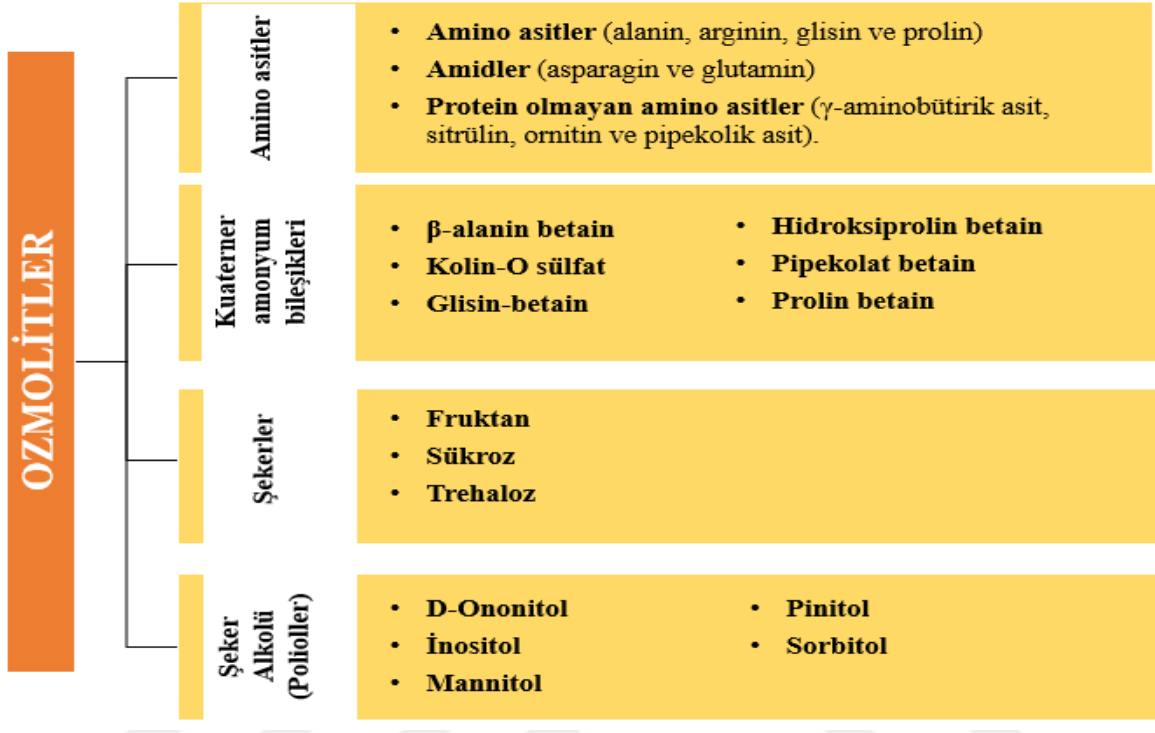
Kuraklık stresi altında bir bitkide fizyolojik, moleküler ve biyokimyasal temelde çok sayıda değişiklik meydana gelir. Özellikle büyüme ve gelişme döneminde kuraklığın şiddetine ve süresine bağlı olarak şiddetli verim azalmasına sebep olmaktadır. Kuraklığın erken safhalarında bitkinin daha çok kök uzunluğunu arttırarak suya ulaşmaya çalıştığı bilinmektedir (Öztürk, 2015). Kuraklık stresinin ilerleyen aşamalarında ise kök ve gövde gelişiminin durduğu, yaprak sayısında ve alanında azalmaların olduğu, biyokütlenin azaldığı bilinmektedir (Liu vd., 2019; Öztürk, 2015).

1.5. Kuraklık Stresiyle İlişkili Osmolitler

Bitkiler, kuraklığı tolere edebilmek için ozmotik uyum ve antioksidan kapasitenin genişletilmesi gibi stratejiler geliştirir (Bhusal vd., 2021). Ozmotik düzenleme bitkinin turgor potansiyelini korumak için önemlidir (Blum, 2017). Bu amaçla, bitki hücreleri çözünebilir madde konsantrasyonlarını arttırıp su potansiyelini azaltarak kurak ortam koşullarında suyu muhafaza edebilmek için biyokimyasal mekanizmalara sahiptirler (Doğru ve Canavar, 2020).

Osmolitler suda yüksek oranda çözünmesinden dolayı “uyumlu çözünen maddeler” olarak bilinmektedir. Ozmotik strese yol açan farklı çevresel streslere yanıt olarak bitkilerde dahil birçok organizmada sentezlenmektedir. Genel olarak osmolitler kuraklık stresi altında ROT üretiminin artışını engelleyip, protein ve zar yapılarını doğrudan stabilize ederek ozmokeruyucu olarak rol oynarlar (Sharma vd., 2019). Böylece hücreyi oksidatif stresin yaratmış olduğu zararlı etkilerden korurlar. Sitoplazmada turgorun devamını sağlayarak ve sodyum iyonunun (Na^+) apoplast ve vakuollerde tutulmasını kolaylaştırıp hücreyi zarardan korurlar

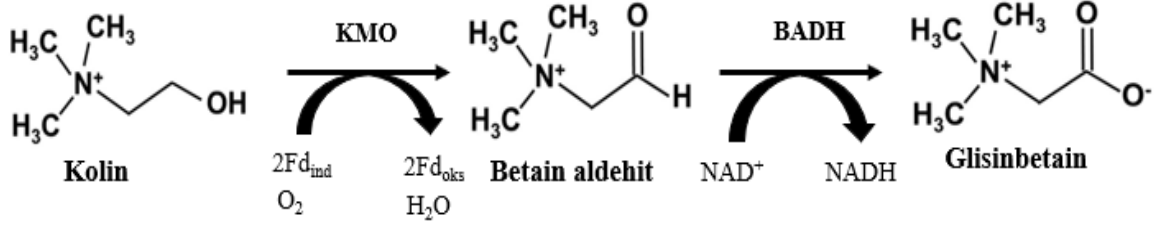
(Smirnoff ve Cumbes, 1989). Bu metabolitler dört ana grup altında incelenmektedir (Şekil 5) (Ejaz vd., 2019).



Şekil 5. Ozmolitlerin sınıflandırılması (Ejaz vd., 2019).

1.5.1. Kuraklık Stresi Altındaki Buğdayda Glisin Betain'in Durumu

Glisin betain (GB; N,N',N''-trimetilglisin), çevresel streslere karşı tolerans sağlayan amfoterik kuaterner amonyum uyumlu bir ozmolittir. GB, birincil olarak kloroplasttaki tilakoid membranlarda birikir ve FS II kompleksini stabilize eder. Böylece fotosentez etkinliğini korur ve strese karşı tolerans sağlar (Godoy vd., 2021). Bitkiler de dahil olmak üzere bazı canlı organizmalar GB sentezlemektedir. Bitkilerde GB'nin sentezi iki basamakta gerçekleşmektedir (Şekil 6).



Şekil 6. Kolinden glisin betainin biyosentezi. Fd_{ind} : İndirgenmiş ferrodoksin, Fd_{oks}:Oksitlenmiş ferrodoksin, NADH: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid, NAD⁺: Okside nikotinamid adenin dinükleotid, KMO: Kolin dehidrojenaz ve BADH: Betain aldehit dehidrojenaz (Xu vd., 2018'den değiştirilerek).

GB'nin bitkilerin yapraklarına püskürtme yoluyla uygulanması, antioksidan enzimlerin aktivitesini, fotosentetik hızı, çözünür şekerleri ve çözünür proteinleri artırarak verim kalitesini yükseltir bu da kuraklığa karşı toleransı sağlar (Khalid vd., 2022; Verbruggen ve Hermans, 2008).

Stres faktörlerine dayanıklı bitki türlerinde abiyotik stres faktörlerine dayanıklı yeni çeşitlerin geliştirilmesi tarımda strese bağlı kayıpları azaltabilecektir. Diğer yandan, tohum ve fidelere ozmo-koruyucu uygulamalarının kültür bitkilerinin çevresel streslerle dayanıklılığını arttırdığı yönünde raporlar mevcuttur. Böylece, bitki su durumu ve klorofil içeriği iyileşerek membran stabilitesi artar ve kuraklık stresine tolerans gelişir.

Bu çalışmada, Türkiye'de yetiştirilen iki buğday çeşidine (*Triticum aestivum* L. cv. Selçuklu ve cv. Demir-2000) kısa süreli kuraklık stresi altında 5 mM GB ön uygulamasının fide gelişimleri üzerine fizyolojik (kök ve gövde uzunluğu, biyokütle, spesifik yaprak alanı, bağlı su içeriği, klorofil miktarı) ve biyokimyasal (toplam protein, hidrojen peroksit ve MG miktarı) etkileri araştırılmıştır.

Araştırma kapsamında, kuraklığa duyarlı cv. Selçuklu ve kuraklığa dayanıklı cv. Demir-2000 buğday çeşitlerinde eksojen GB uygulamasının MG seviyesindeki etkileri ilk defa araştırılmış olacak ve sonuçları literatüre yeni veri seti sağlayacaktır.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kavram ve Terimler

Çevresel faktörlerin bitkinin morfoloji ve metabolizmasını olumsuz yönde etkileyecek kadar değişmesi bitkide stres durumunu meydana getirmektedir. Küresel iklim değişikliğine bağlı olarak meydana gelen kuraklık, bitkinin büyüme ve gelişmesini engelleyerek verimi azaltmaktadır. GB gibi ozmolitler kuraklık stresi altında bitkilerde birikerek bitkilerin turgor potansiyelini korurlar. Eksojen olarak GB uygulamasıyla bitkiler çevresel streslere karşı daha dayanıklı hale gelebilir.

2.2 Önceki Çalışmalar

GB sentezleyemeyen veya sadece az miktarlarda GB sentezleyebilen bitkilere yapraktan eksojen GB uygulamasının abiyotik stres etkilerini hafifletebildiği bildirilmiştir (Ashraf ve Foolad, 2007). Bitkilerin strese karşı önemli mekanizmalarından biri ozmolitlerin sentezlenmesi ve birikimidir.

İyi bilinen bir ozmo-koruyucu olarak eksojen GB uygulanan bir çalışmada kuraklığa farklı toleransa sahip iki buğday çeşidinde (kuraklığa-dayanıklı cv. Tosunbey, kuraklığa-duyarlı cv. Sultan-95) fizyolojik parametreler ve antioksidan enzimler incelenmiştir (Acar vd., 2020). Tosunbey çeşidinde POX aktivitelerindeki artış, Sultan-95 çeşidinde ise APX ve CAT aktivitelerindeki artış H_2O_2 detoksifikasyonunu desteklemektedir. Bu durum, eksojen GB uygulamasının her iki buğday çeşidinde kuraklık stresiyle ortaya çıkan oksidatif strese karşı korunma sağladığını göstermektedir (Acar vd., 2020).

Kuraklık stresi, buğday üretimi ve gıda güvenliği için sınırlayıcı bir faktördür. GB ve potasyum (K)'un, bitki su potansiyelini ve ürün verimini iyileştirmedeki rolünü araştırıldığı bir çalışmada kuraklık stresi altındaki iki buğday çeşidinde eksojen GB ve K'nin; başak uzunluğunu, başak başına tane sayısını, tane verimini, bitkinin su potansiyelini, ozmotik potansiyeli ve turgor potansiyelini önemli ölçüde iyileştirdiği bildirilmiştir (Raza vd., 2014)..

Buna göre, 100 mM GB ve %1.5 K kombinasyonu uygulamasının, kuraklık stresini iyileştirmek için en iyi strateji olduğu belirlenmiştir (Raza vd., 2014).

Kuraklık dahil stres koşulları altında ROT oluşumuna ek olarak, aynı zamanda bir RKT olan MG birikimi de bildirilmiştir (Hossain vd., 2009). MG amino asitlerin ve proteinlerin oksidasyonu ile glikoliz gibi birçok metabolik sürecin bir yan ürünü olarak oluşmaktadır (Li, 2019). ROT'ların aşırı birikiminden kaynaklanan oksidatif stresin bir benzeri ise karbonil stresi olarak bilinmektedir. Bitkilerde, enzimatik ve enzimatik olmayan yolların tümü hücrel metabolizma süreci sırasında MG üretebilir. Genel olarak yaklaşık %0.03-0.05 glikoz, glikolizde kendiliğinden MG'ye dönüştürülebilir ve bu oran stres koşullarında artabilir (Li vd., 2017). Kuraklık stresinin birincil etkileri ozmotik stres, oksidatif stres ve MG stresidir. MG birikimi, hücrelerin normal işleyişini bozabilir, metabolik davranışta değişikliklere ve bazı durumlarda bitkilerin ölümüne yol açabilir (Hossain vd., 2011). Bu stresleri hafifletebilecek stratejiler, bitkinin kuraklığa stres toleransını iyileştirebilir.

Kuraklığın olumsuz etkilerini azaltmak için eksojen prolin (Pro), GB ve trehaloz (Tre) kolza tohumuna (*Brassica rapa* L.) uygulandığında oksidatif hasarın detoksifikasyonu sağlanarak H₂O₂ ve MG içeriğinin azaldığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının arttığı belirlenmiştir (Bhuiyan vd., 2019). Öyle ki, indirgenmiş glutatyon (GSH) miktarını artırıp oksitlenmiş glutatyon (GSSG) miktarını azaltarak, redoks dengesinin korunmasına yardım ettiği bildirilmiştir (Bhuiyan vd., 2019). Kuraklık stresi altındaki yedi mercimek (*Lens culinaris* L.) fidesine eksojen prolin (Pro) ve betain (Bet) uygulanarak GST ve GLY I'in aktiviteleri incelendiği başka bir araştırmada ise; 15 mM Bet veya Pro'nun eksojen uygulamasının kuraklık stresi altındaki bitkilerde hem GSSG içeriğini azaltıp GSH içeriğini arttırdığı hem de yüksek GST ve Gly I aktivitelerinin korunduğu rapor edilmiştir. Ek olarak, H₂O₂ ve MG'nin toksik etkilerinden hücrenin korunmasında bu ozmolitlerin önemli role sahip olduğu gösterilmiştir (Molla vd., 2014). Başka bir çalışma da ise hardal (*Brassica juncea* L.) fidelerinde kuraklık stresi önsesi 1 mM prolin ve betain uygulamasının, lipid peroksidasyonu ve H₂O₂ miktarını azalttığı; APX, GR, CAT, GST ve GLY II aktivitelerini arttırdığı belirlenmiştir (Molla vd., 2014). Hardal fidelerin prolin ve betain ile ön işleminin MG ve ROT seviyelerini değiştirebileceğini ve kuraklığın neden olduğu oksidatif strese karşı bitki toleransını artırabileceği kanıtlanmıştır (Molla vd., 2014).

Tuz stresi altındaki buğdaya (*Triticum aestivum* L. cv. Norin 61) aynı zamanda bir oksin türevi olan 2,4-diklorofenoksiasetik asidin (2,4-D) eksojen uygulamasının, gliyoksalaz enzim aktivitesini arttırdığı ve sonuçta daha fazla MG detoksifikasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (Mohsin vd., 2020). Ek olarak, kadmiyum (Cd) toksisitesinin hafifletilmesinde bezelye (*Pisum sativum* L.) fidelerine 24-epibrassinolid (24-eBL, 10⁻⁷ M) ve silisyum (Si, 2 mM) uygulanarak antioksidan savunma ve gliyoksalaz sistemi üzerindeki etkileri incelendiği bir araştırmada ise tekli veya kombinasyon halinde 24-eBL veya Si uygulamasının, MG detoksifikasyonunu arttırarak antioksidan ezim seviyelerini koruduğu rapor edilmiştir (Jan vd., 2018).



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

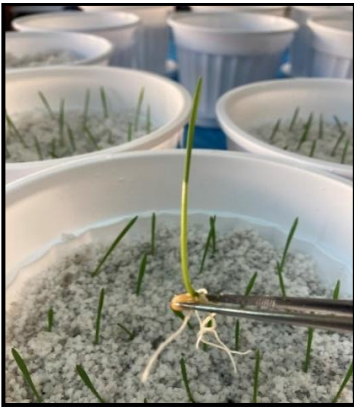
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Bu tez çalışmasında ekmeklik buğdayın (*Triticum aestivum* L. - *Poaceae*) kuraklığa-duyarlı Selçuklu ve kuraklığa-dayanıklı Demir-2000 kültür varyeteleri kullanılmıştır. Selçuklu ve Demir-2000 kültür varyeteleri sırasıyla Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden ve Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

3.2. Bitki Materyalinin *In Vitro* Şartlarda Yetiştirilmesi









Bu tez çalışması petri ve saksı denemesi olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Petri denemesi tohum canlılığını tespit etmek için kurulmuş olup daha sonra saksı denemesi gerçekleştirilmiştir. Buğday tohumlarının yüzey sterilizasyonu %5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 5 dk karıştırılıp 3 defa saf suyla yıkanarak gerçekleştirilmiştir. Steril tohumlar nemli kurutma kağıtları bulunan toplam 6 petri kabına 25'er adet tohum ekilerek tohum canlılığını tespit etmek için 7 günlük petri denemesi kurulmuştur. Sterilizasyon işlemi tekrar gerçekleştirilip tohumlar tavalarda içerisinde çimlendirme için 4 gün bekletilmiştir. Fideler saksı başına 25'er adet olacak şekilde perlit içeren saksılara ekilmiştir (Şekil 7). Saksılar kontrollü koşullar altında (22 ± 2 °C'de 16/8 saat gündüz/gece) bitki büyüme odasında, Hoagland besin solüsyonu ile sulanarak (%100) yetiştirilmiştir (Arnon ve Hoagland, 1940).



Şekil 7. Çimlenen tohumların perlit dolu saksılara aktarılması.

3.3. Kuraklık Stresi ve Glisin Betain Uygulanması

Ozmo-protaktan olarak kullanılan GB'nin buğday için uygulama dozu literatür incelemesi sonucunda 5 mM olarak belirlenmiştir (Acar vd., 2020). Tween-20 (%0.1) içeren GB (5 mM) 20 günlük fidelere foliar absorpsiyon ile uygulanmıştır (Şekil 9). Uygulamayı izleyen 24. saatte Hoagland besin solüsyonunun verilmesi durdurularak “su kıtlığı” yaratılıp kuraklık uygulaması başlatılmıştır. Kuraklığın 7. gününde buğday fidelerinde fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin belirlenmesi için kök ve yapraklardan örnekleme yapılmıştır. Bitkiler Şekil 8'deki deneme desenine uygun şekilde 3 tekrarlı olarak yetiştirilmiştir.

	K	GB	D	GB+D
<i>Triticum aestivum</i> L. (cv. Selçuklu)				
<i>Triticum aestivum</i> L. (cv. Demir-2000)				

Şekil 8. Bitkilerin yetiştirilmesinde kullanılacak deneme deseni (K: Hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubu, GB: Glisin betain uygulanmış grup, D: Su kıtlığı uygulanan kuraklık grubu, GB+D: GB uygulaması sonrası su kıtlığı uygulanmış grup)



Şekil 9. 5 mM GB'nin buğday fidelerine eksojen olarak püskürtülmesi.

3.4. Fizyolojik Parametreler

3.4.1. Çimlenme Yüzdesi

Petri denemesi hazırlanarak, çimlenen tohumların ekilen tohumlara oranıyla belirlenmiştir.

3.4.2. Gövde-Kök Uzunluğu

Kontrol ve uygulama grubundaki fidelerin kök ve gövde uzunlukları cetvel (cm) ile ölçülerek belirlenmiştir.

3.4.3. Fide ağırlığı (Biyokütle)

Her gruptan 3 tekrar olacak şekilde toplam 9 fidenin ağırlığı hassas terazide tartılarak belirlenmiştir (g).

3.4.4. Spesifik Yaprak Alanı (SYA)

Fidelerin yaprak alanı fotoğraflanmış ve daha sonra Image J programında belirlenmiştir. Bu yapraklar etüvde (70°C-24 saat) kurutulup kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Sonuçlar aşağıda belirtilen Denklem 3.1'e göre hesaplanmıştır (Wilson vd., 1999).

$$SYA = \frac{\text{Alan (cm}^2\text{)}}{\text{Kuru Ağırlık (mg)}} \quad (3.1)$$

3.4.5. Bağlı Su İçeriğinin (BSİ)

Bitki yapraklarının yaş ağırlığı (YA) belirlendikten sonra saf su içeren küvetlere filtre kağıtlarının arasında 4 saat bekletildi. Bekleme sonrasında turgorlu ağırlıkları (TA) kaydedildi. Turgorlu yapraklar kuru ağırlığın belirlenebilmesi için etüvde (70 °C-24 saat) kurutuldu ve kuru ağırlıkları (KA) belirlendi. Bu değerler aşağıdaki Denklem 3.2'ye uygulanarak BSİ hesaplandı (Smart ve Bingham, 1974).

$$BSİ = \frac{YA - KA}{TA - KA} \times 100 \quad (3.2)$$

3.4.6. Toplam Klorofil İçeriği

20 günlük fidelere GB uygulanmasını izleyen 7 gün boyunca oluşturulan su kıtlığının, klorofil miktarı üzerine etkisi SPAD (Minolta SPAD-502, Osaka, Japan) cihazı kullanılarak her yapraktan 15 tekrarlı olarak ölçülmüştür (Peryea ve Kammereck, 1997).

3.5. Biyokimyasal Analizler

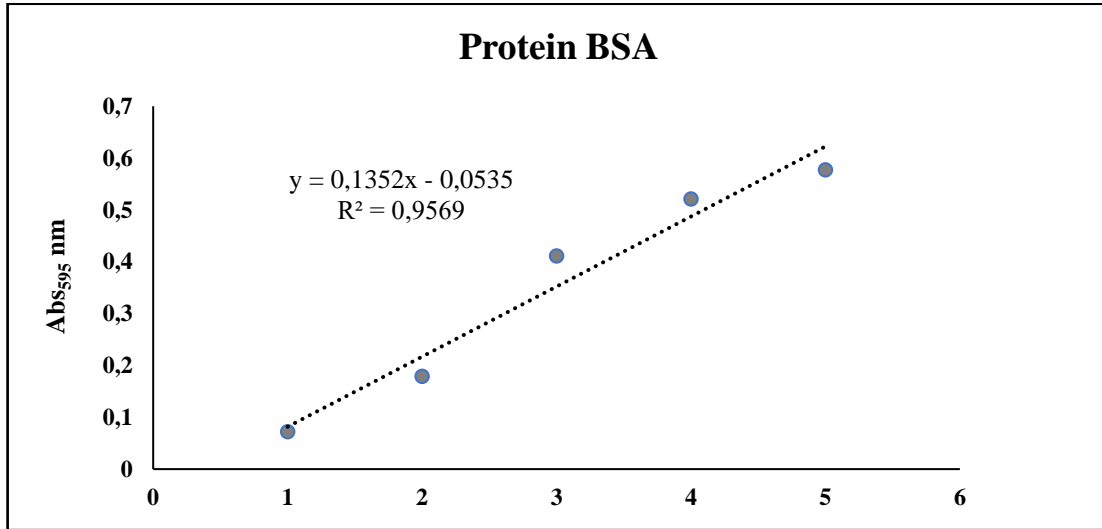
Spektrofotometrik analizlerde Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis cihazı kullanılmıştır.

3.5.1. Toplam Protein Miktarı

Yaprak dokusu örnekleri 1 mM EDTA.Na₂ içeren 50 mM Na-P (sodyum fosfat, pH 7,8) ekstraksiyon tamponuyla homojenizasyondan sonra 30 dk süreyle 14000 rpm'de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bir tüp içerisinde 5 ml protein reaktifi (Coomassie Brilliant Blue G 250, etanol, orto-fosforik asit ve saf su içeren) ve 100 µl süpernatant karıştırılmıştır. Karışım spektrofotometrede 595 nm'de verdiği absorbans kaydedilerek toplam protein miktarı protein standart grafiğinden hesaplanmıştır (Bradford, 1976).

3.5.1.1. Protein Standart Eğrisinin Hazırlanması

Stok ampulden [Bovine Serum Albumin (BSA)] 0,01-0,10 mg ml⁻¹ aralığında deney tüplerine aktarılmıştır. Her bir tüpe 100 µl 50 mM Na-P tamponu (pH 7,8) ilave edilerek son hacim protein reaktifi ile tamamlanmıştır. Örnekler, spektrofotometrede 595 nm'de verdiği absorbans değerleri kaydedilerek, protein standardı (Şekil 10) kullanılıp her bir örneğin protein miktarı belirlenmiştir.



Şekil 10. Protein standart eğri grafiği.

3.5.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı

Doku örnekleri soğuk aseton ve H₂SO₄ (sülfirik asit) içeren tampon ile homojenizasyon işlemi gerçekleştirilerek 4 dk boyunca 4000 g'de santrifüjlenmiştir. 50 µl süpernatant ve 950 µl e-FOX (H₂SO₄, ferrus amonyum sülfat, ksenol orange, sorbitol, etanol ve saf su içeren) tamponu karıştırılıp 30 dk bekletilip spektrofotometrede 550-800 nm'de absorbansı belirlenmiştir (Cheeseman, 2006).

3.5.3. H₂O₂ Birikiminin Histokimyasal Boyama ile Belirlenmesi

Yaprak örnekleri, 1 mg ml⁻¹ 3,3'-diaminobenzidin (DAB) içeren çözeltide 25°C'de 1 gün bekletilmiştir. DAB çözeltisinde inkübe edilen yapraklar, 15 dakika boyunca kaynayan etanol (%90) içinde bekletilerek rengi giderilmiştir. Daha sonra yaprak örnekleri, uygun görsel için zıt bir arka plana karşı fotoğraflanmıştır (Kumar vd., 2014).

3.5.4. Metilglioksal (MG) Miktarı

0,3 g bitki örneği %5 perklorik asit ile homojenize edildikten sonra 10 dakika süre ile 13000 xg'de santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Süpernatantın rengi aktif kömür ile giderildikten sonra 5 M K₂CO₃ (potasyum karbonat) çözeltisi ile nötralize edilip tekrar santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatant, 100 mM H₂PO₄ (dihidrojen fosfat) tamponu içine aktarılıp, reaksiyon 10 mM N- α -asetil- L- sistein ilavesiyle başlatılmıştır. N- α -asetil-S- (1-hidroksi-2-okso-prop-1-il) sistein oluşumu spektrofotometrede 288 nm'de belirlenmiştir (MacWilliams vd., 2020).

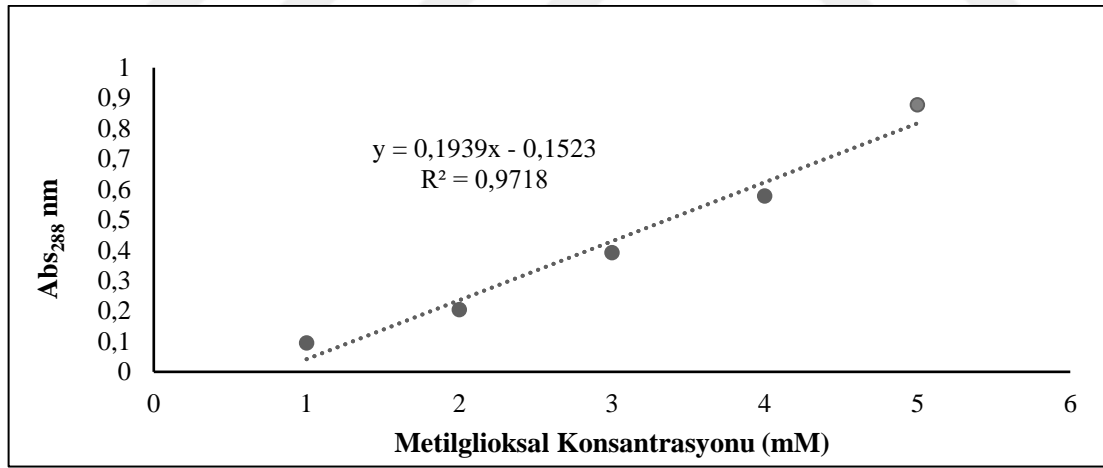
3.5.4.1. Metilglioksal Standart Eğrisinin Hazırlanması

Tablo 1

Metilglioksal standart eğrisini geliştirmek için kullanılan reaktifler ve konsantrasyonları

Tüp No.	Metilglioksal Konsantrasyonu (mM)	100 mM Metilglioksal	100 mM NaH ₂ PO ₄ Tamponu (pH 7.0)
1	0.5 mM	5 µl	975 µl
2	1 mM	10 µl	970 µl
3	2 mM	20 µl	960 µl
4	3 mM	30 µl	950 µl
5	5 mM	50 µl	930 µl

Yukarıdaki Tablo 1’de gösterilen reaksiyonu başlatmak için her eppendorfa 20 µl 500 mM N-asetil-L-sistein eklenmiştir. Reaksiyonu karıştırmak için eppendorf tüpleri birkaç kez ters çevrilip, oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Spektrofotometrede 288 nm’ de köre karşı absorbansları belirlendikten sonra Metilglioksal standart grafiği oluşturulmuştur (Şekil 11).



Şekil 11. Metilglioksal standart eğri grafiği.

3.6. İstatiksel Analiz

Bu tez çalışmasında elde edilen fizyolojik ve biyokimyasal verilerin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analiz (ONE-WAY ANOVA) yöntemiyle IBM SPSS Statistics 21.0 programı kullanılarak hesaplanmıştır.

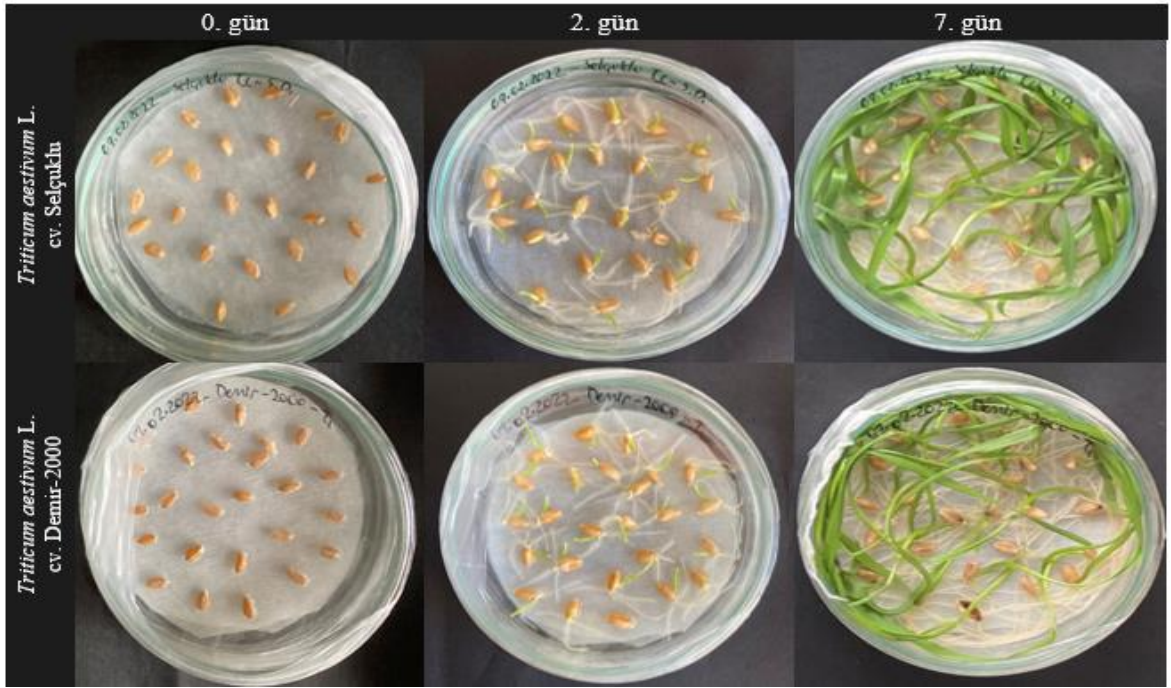
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Petri Denemesi

4.1.1. Çimlenme Yüzdesi

Tohum canlılıklarını test etmek amacıyla her iki çeşitten 3 tekrarlı olarak 7 günlük petri denemesi kurulmuştur. Her iki çeşitte de çimlenme oranı %100 olarak tespit edilmiştir (Şekil 12).



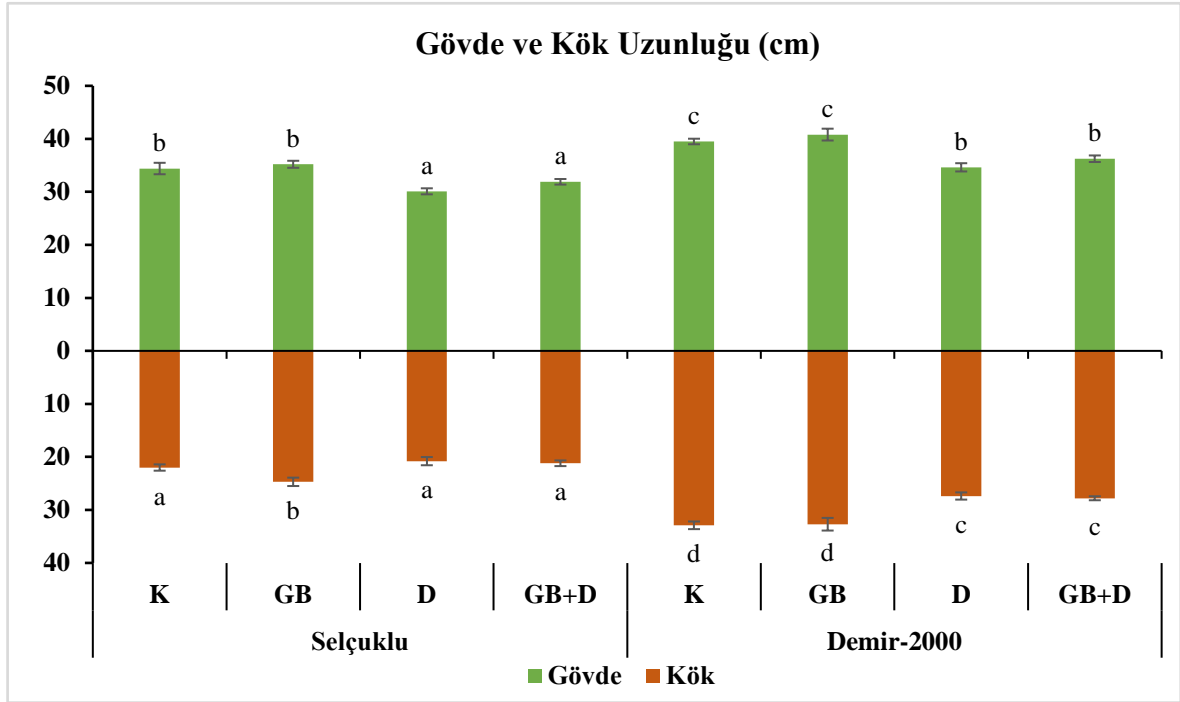
Şekil 12. *Triticum aestivum* L. cv. Selçuklu ve cv. Demir-2000 buğday çeşitlerinde 7 günlük çimlenme denemesi.

4.2. Saksı Denemesi

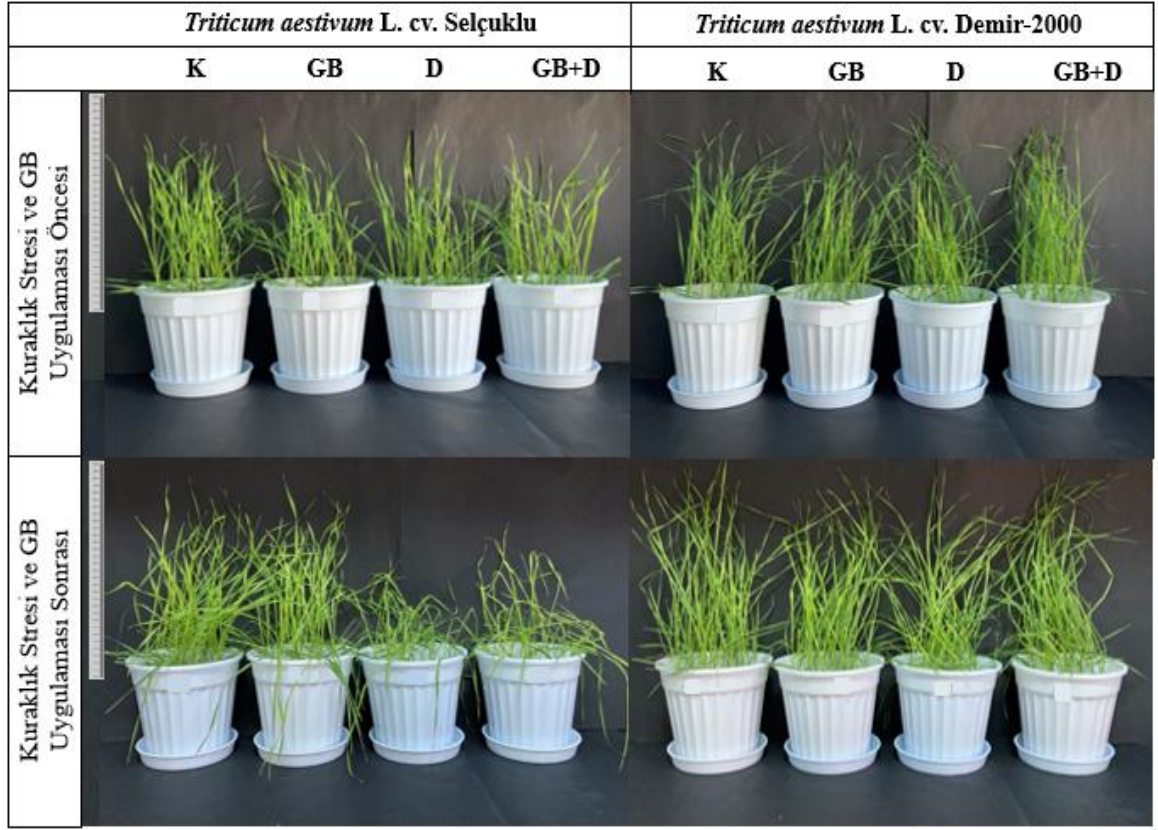
4.2.1. Gövde-Kök Uzunluğu

Kuraklık stresi Selçuklu çeşidinin gövde ve kök uzunluğunu kontrole kıyasla sırasıyla %12 ve %5 azaltmıştır. GB+D uygulaması ile bu azalmalar sırasıyla %7 ve %3 olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde Demir-2000 çeşidinde kuraklık stresi kontrole kıyasla gövde ve kök uzunluğunu sırasıyla %12 ve %17 azaltmıştır. GB+D uygulaması ile bu

azalmalar sırasıyla %8 ve %15 olarak belirlenmiştir (Şekil 13). Kuraklık ve glisin betain uygulamalarının fide boyları üzerindeki etkisi görsel olarak Şekil 14’de gösterilmiştir.



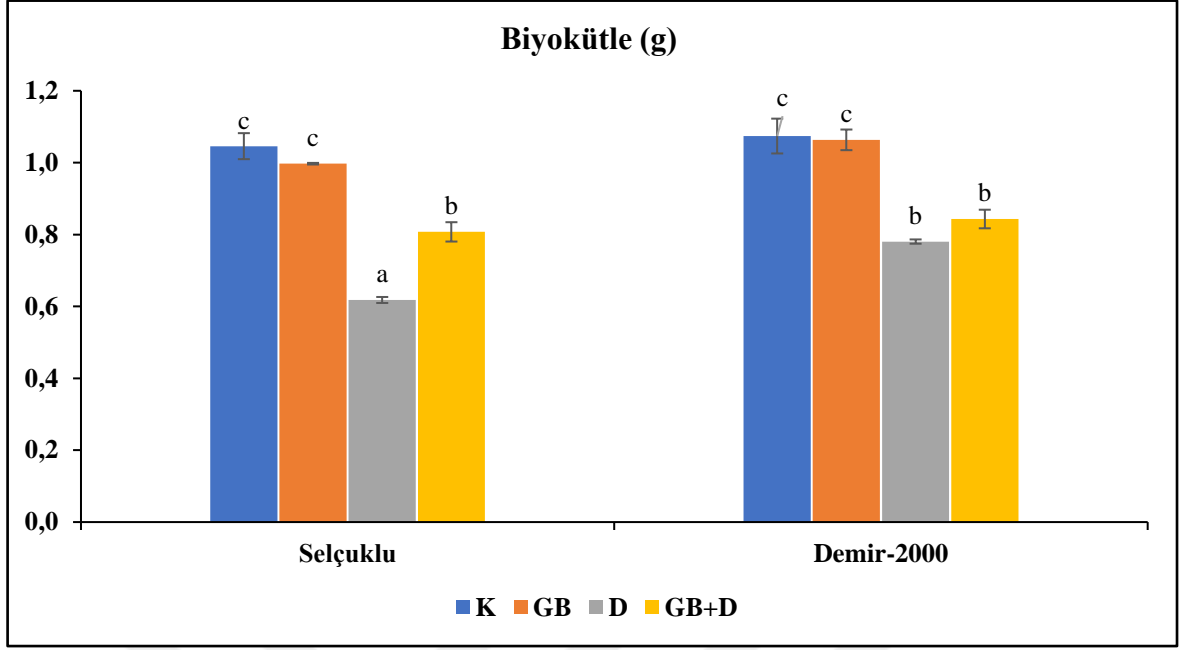
Şekil 13. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde kök ve gövde uzunluğu üzerine etkileri (K: Kontrol, GB: Glisin Betain, D: Kuraklık, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).



Şekil 14. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde fide boyları üzerindeki etkileri (K: Kontrol, D: Kuraklık, GB: Glisin Betain, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.2.2. Fide Ağırlığı (Biyokütle)

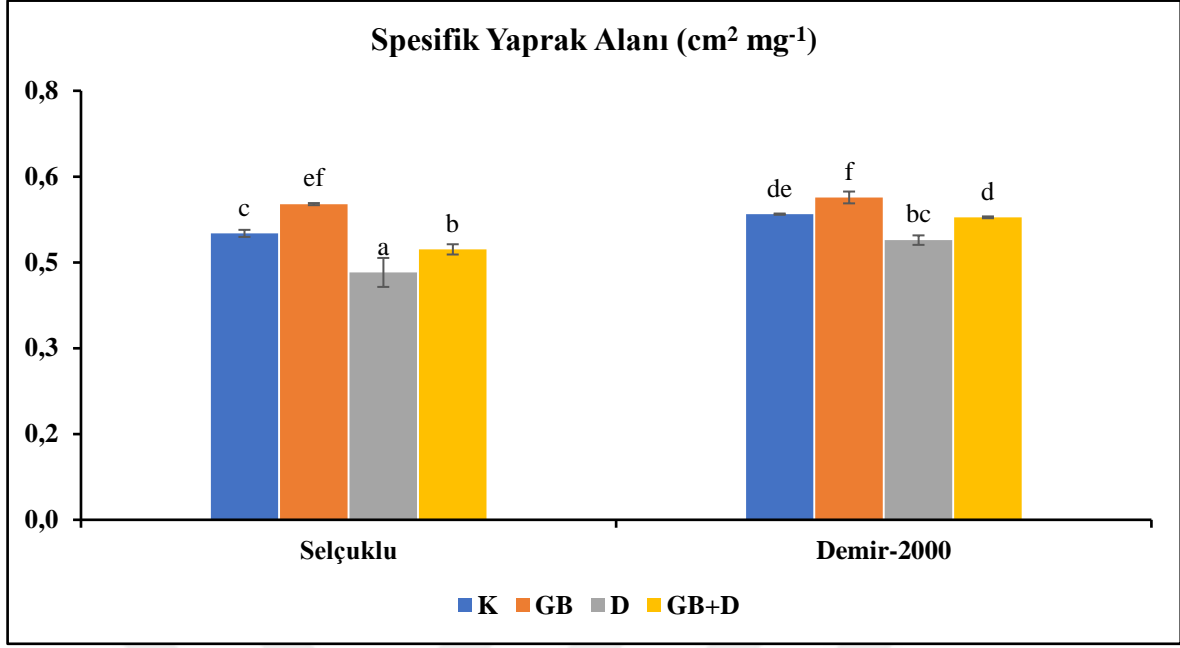
Selçuklu çeşidinde biyokütle kontrole kıyasla kuraklık stresi ile %41, GB+D uygulamasıyla ise %23 oranında azalmıştır. Öte yandan Demir-2000 çeşidinde biyokütle kontrole kıyasla kuraklık stresi ile %27, GB+D uygulamasıyla ise %21 azalmıştır (Şekil 15).



Şekil 15. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde biyokütle üzerine etkileri. (K: Kontrol, GB: Glisin Betain, D: Kuraklık, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.2.3. Spesifik Yaprak Alanı (SYA)

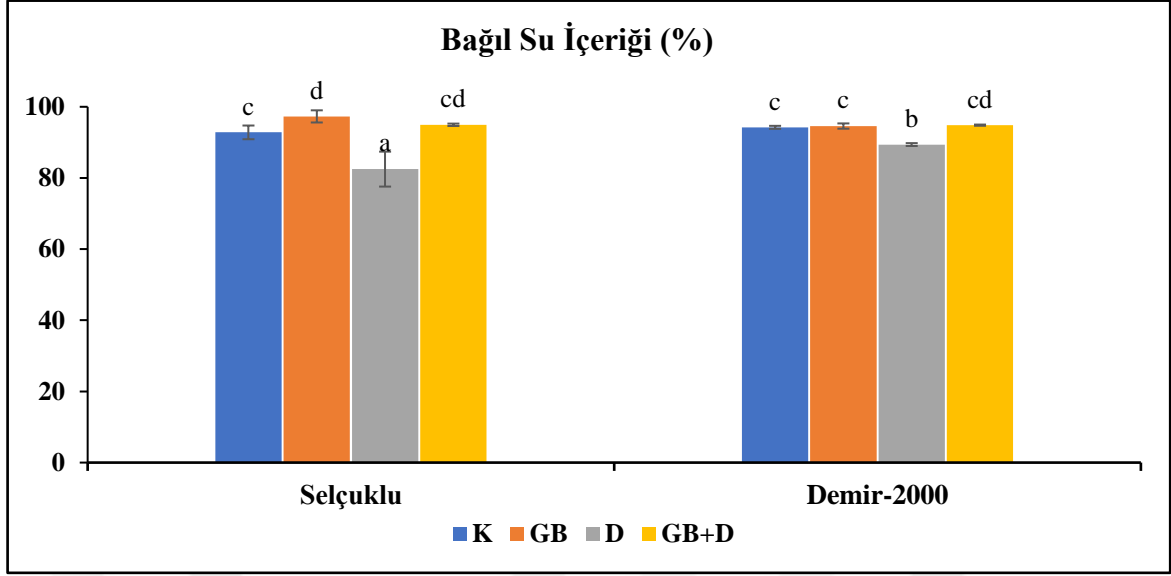
Kuraklık stresi Selçuklu ve Demir-2000 çeşitlerinin yaprak alanını kontrole kıyasla sırasıyla %14 ve %8 azaltmıştır. GB uygulaması Selçuklu ve Demir-2000 çeşitlerinde kuraklık zararını azaltmış ve kontrole kıyasla SYA sırasıyla %5 ve %1 olarak belirlenmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde spesifik yaprak alanı üzerine etkileri. (K: Kontrol, GB: Glisin Betain, D: Kuraklık, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.2.4. Bağlı Su İçeriği (BSİ)

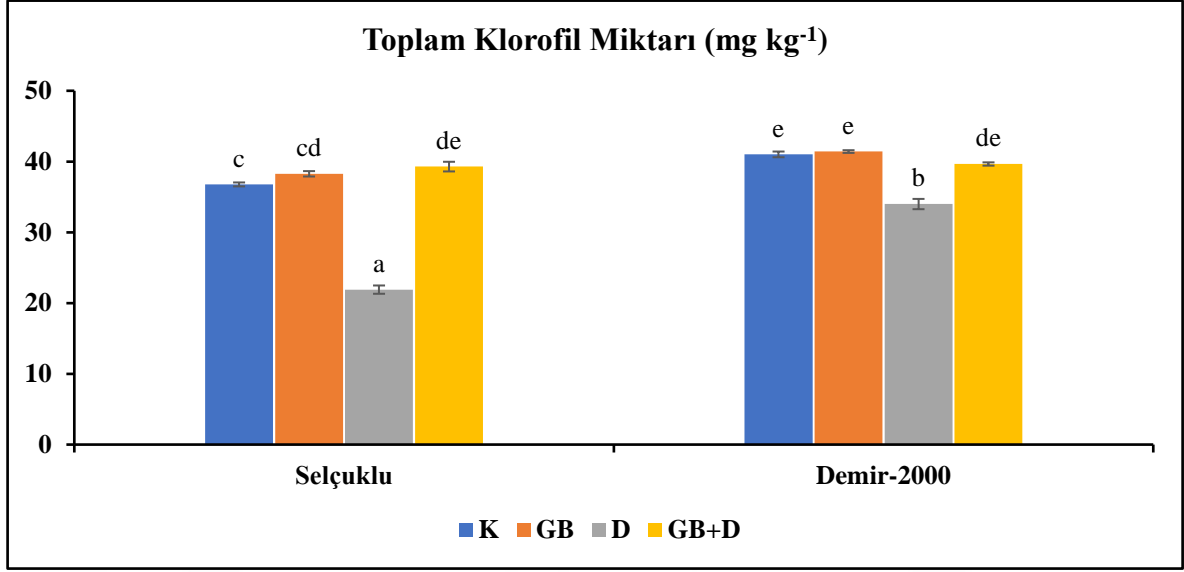
Bağlı su içeriği kuraklık stresiyle Selçuklu çeşidinde kontrole kıyasla %11 ve Demir-2000 çeşidinde %5 azalmıştır. Selçuklu çeşidinde GB ve GB+D uygulamaları BSİ'yi kontrole kıyasla sırasıyla %5 ve %2 artırmıştır. Buna göre, GB uygulaması BSİ'yi Demir-2000 çeşidinde Selçuklu çeşidine göre daha iyi koruduğu belirlenmiştir (Şekil 17).



Şekil 17. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde bağlı su içeriği üzerine etkileri. (K: Kontrol, GB: Glisin Betain, D: Kuraklık, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.2.5. Toplam Klorofil İçeriği

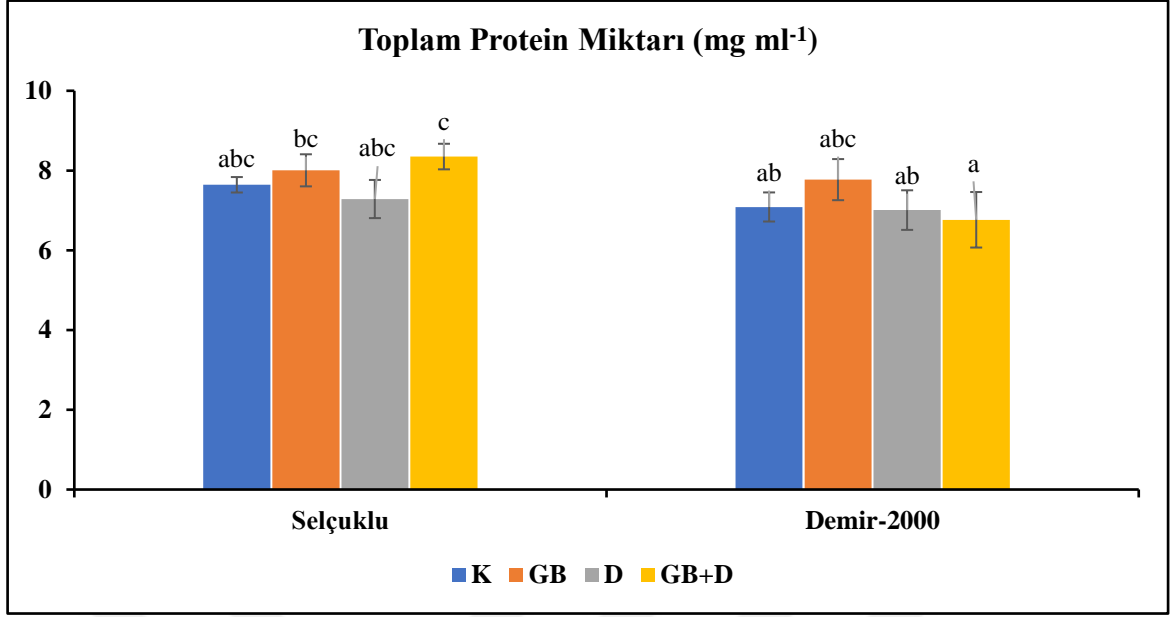
Selçuklu çeşidinde toplam klorofil miktarı kontrole kıyasla kuraklık stresi ile %46 azalırken GB+D uygulaması ile %7 artmıştır. Demir-2000 çeşidinde ise kontrole kıyasla kuraklık ile klorofil miktarının %17 oranında, GB+D uygulamasıyla bu azalmanın %3 oranında kaldığı tespit edilmiştir (Şekil 18).



Şekil 18. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde toplam klorofil miktarı üzerine etkileri. (K: Kontrol, GB: Glisin Betain, D: Kuraklık, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.2.6. Toplam Protein Miktarı

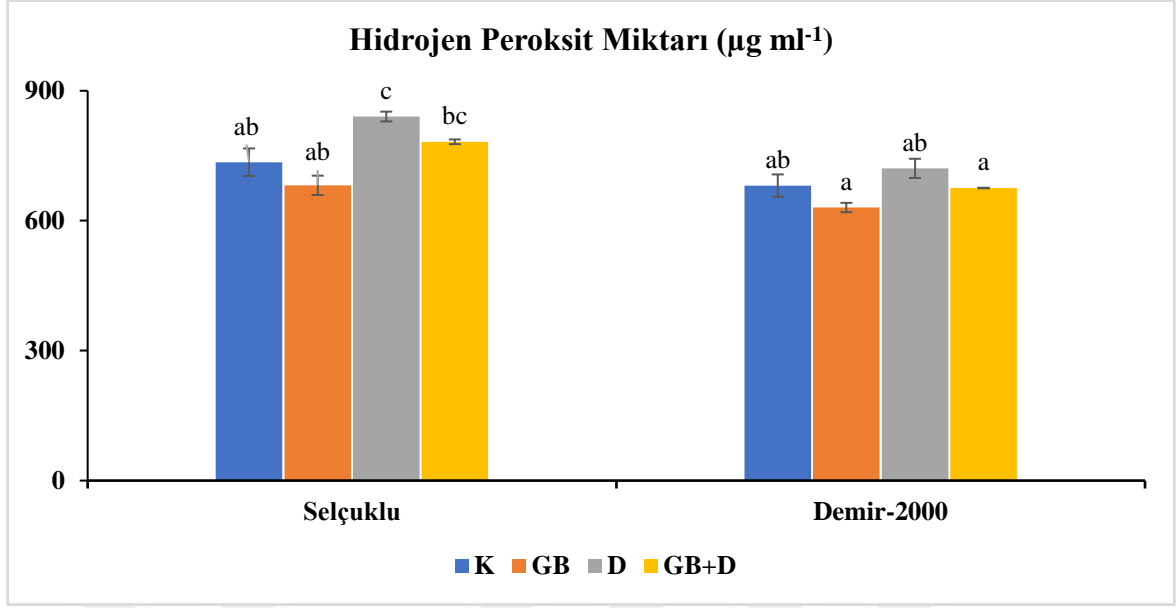
Toplam protein miktarı GB uygulamasıyla Selçuklu çeşidinde kontrole kıyasla %5 oranında bir artış gösterirken, Demir-2000 çeşidinde ise bu artış 2 katına çıkmıştır. Kuraklık uygulamasıyla Selçuklu çeşidinde kontrole kıyasla %5 oranında azalma meydana gelirken, Demir-2000 çeşidinde ise bu azalma %1 oranındadır. GB+D uygulamasında ise Selçuklu çeşidinde kontrole kıyasla %9 oranında artarken, Demir-2000 çeşidinde ise tam tersi bir şekilde %5 oranında azalmıştır (Şekil 19).



Şekil 19. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde toplam protein miktarı üzerine etkileri. (K: Kontrol, GB: Glisin Betain, D: Kuraklık, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.2.7. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı

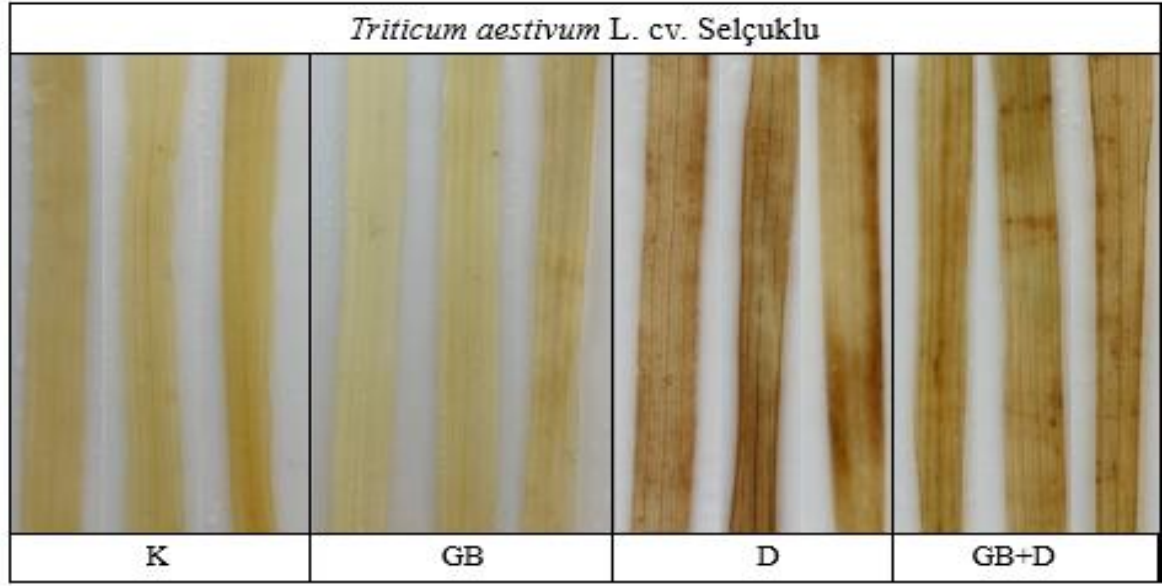
Kuraklık stresi Selçuklu ve Demir-2000 çeşitlerinin hidrojen peroksit miktarını kontrole kıyasla sırasıyla %14 ve %6 artırmıştır. GB+D uygulaması ile Selçuklu ve Demir-2000 çeşitlerinde kontrole kıyasla H₂O₂ içeriği sırasıyla %6 ve %1 oranlarında artmıştır (Şekil 20).



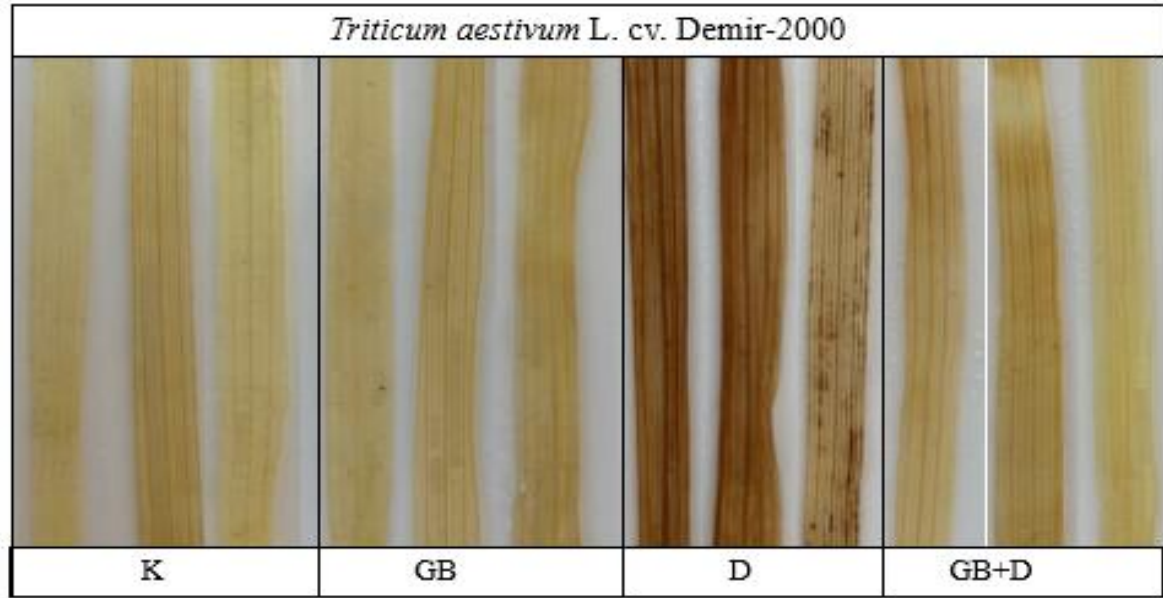
Şekil 20. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde H₂O₂ miktarı üzerine etkileri. (K: Kontrol, GB: Glisin Betain, D: Kuraklık, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.2.8. H₂O₂'nin Histokimyasal Tespiti

Kuraklık stresi Selçuklu ve Demir-2000 çeşitlerinde H₂O₂ birikimini arttırmıştır. Kuraklık stresi altında GB uygulamasının Demir-2000 çeşidinde Selçuklu çeşidine göre H₂O₂ birikimini daha iyi temizlediği saptanmıştır (Şekil 21 ve Şekil 22).



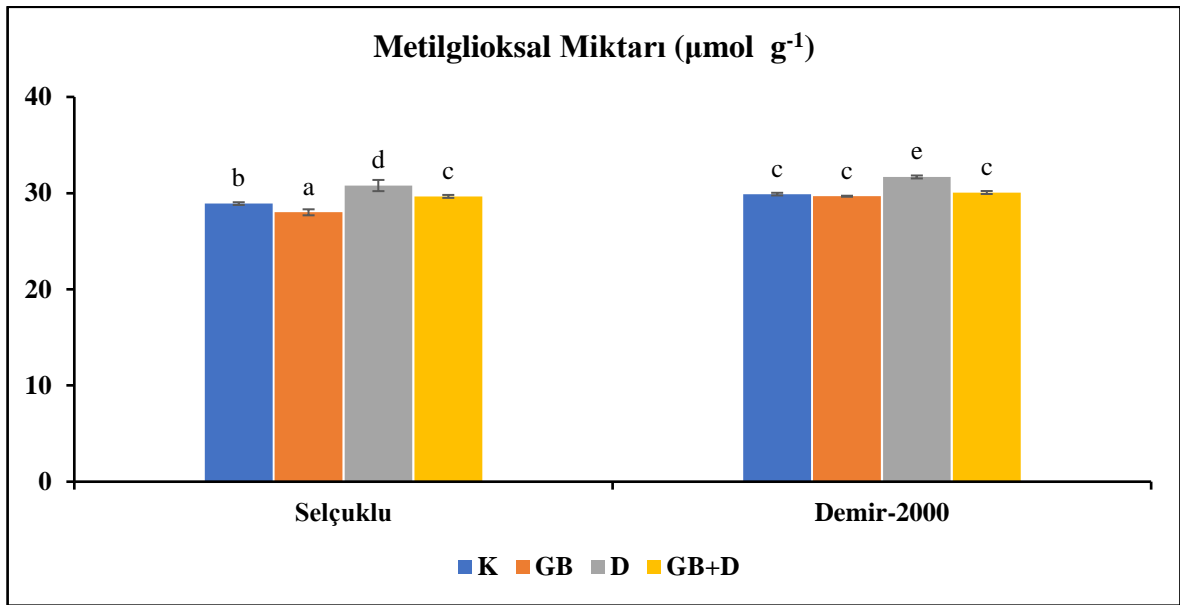
Şekil 21. Histokimyasal boyama ile Selçuklu çeşidinde kuraklık ve GB uygulamasının H₂O₂ miktarına etkileri. (K: Kontrol, D: Kuraklık, GB: Glisin Betain, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).



Şekil 22. Histokimyasal boyama ile Demir çeşidinde kuraklık ve GB uygulamasının H₂O₂ miktarına etkileri. (K: Kontrol, D: Kuraklık, GB: Glisin Betain, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.2.9. Metilglioksal (MG) Miktarı

Metilglioksal miktarı GB uygulamasıyla Selçuklu çeşidinde kontrole kıyasla %3 oranında azalırken, Demir-2000 çeşidinde ise kontrol seviyesindedir. Kuraklık uygulamasıyla Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde kontrole kıyasla sırasıyla %7 ve %6 oranında artmıştır. GB+D uygulamasında ise Selçuklu çeşidinde kontrole kıyasla %3 oranında artarken, Demir-2000 çeşidinde ise kontrol seviyelerinde olduğu belirlenmiştir (Şekil 23).



Şekil 23. Kuraklık ve GB uygulamasının Selçuklu ve Demir-2000 çeşidinde MG miktarı üzerine etkileri. (K: Kontrol, GB: Glisin Betain, D: Kuraklık, GB+D: Glisin Betain +Kuraklık).

4.3. İstatiksel Bulgular

Araştırmanın tüm verilerine ilişkin istatiksel hesaplamalar Tablo 2’de sunulmaktadır.

Tablo 2

Saksı denemesi Selçuklu ve Demir-2000 çeşitlerinin yaprak ve kök dokusunda incelenen parametrelerin tek yönlü varyans analizi sonuçları

		ANOVA				
		Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Kök	Gruplar Arası	1627,697	7	232,528	41,762	,000
	Gruplar İçi	373,050	67	5,568		
	Toplam	2000,747	74			
Gövde	Gruplar Arası	879,184	7	125,598	21,497	,000
	Gruplar İçi	379,775	65	5,843		
	Toplam	1258,959	72			
Toplam	Gruplar Arası	3030,664	7	432,952	117,860	,000
Klorofil Miktarı	Gruplar İçi	363,671	99	3,673		
	Toplam	3394,335	106			
	Gruplar Arası	,033	7	,005		
SYA	Gruplar İçi	,005	11	,000		
	Toplam	,038	18			
	Gruplar Arası	329,199	7	47,028		
BSİ	Gruplar İçi	92,912	12	7,743		
	Toplam	422,111	19			
	Gruplar Arası	1,634	7	,233		
Biyokütle	Gruplar İçi	,296	58	,005		
	Toplam	1,930	65			
	Gruplar Arası	236729,546	7	33818,507		
H ₂ O ₂ Miktarı	Gruplar İçi	167329,834	48	3486,038		
	Toplam	404059,380	55			
	Gruplar Arası	9,916	7	1,417		
Protein	Gruplar İçi	43,547	35	1,244		
	Toplam	53,463	42			
	Gruplar Arası	51,885	7	7,412		
MG	Gruplar İçi	12,029	41	,293		
	Toplam	63,914	48			

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çevresel stresler bitkilerin büyüme ve gelişmesini kısıtlarken, küresel ısınma etkisiyle bu streslerin etkisi artmaktadır. Bunlar arasında kuraklık nedeniyle buğdayda yaşanan verim kayıpları dikkat çekmektedir. Düşük tarla kapasitesi buğdayda biyokütleyi ve sürgün uzunluğunu olumsuz etkilemiştir (Shahbaz vd., 2012), su kıtlığı ise kuraklığa duyarlı çeşitte BSİ'yi, kök ve gövde uzunluğunu azaltırken, H₂O₂ miktarını arttırmıştır (Acar vd., 2020). Benzer şekilde, kışlık buğdayda su kıtlığının klorofil miktarını ve BSİ'yi azalttığı, H₂O₂ miktarını ise arttırdığı rapor edilmiştir (Ahmed vd., 2019).

Bunlardan başka, kuraklık stresinin keten bitkisinde antioksidanlar ve toplam çözünür protein miktarı (Gupta vd., 2021), börülcede BSİ ve klorofil miktarı (Miri vd., 2021), domateste büyüme, BSİ ve fotosentetik pigmentler (Ragab vd., 2015), asperde biyokütle, klorofil miktarı, BSİ ve H₂O₂ miktarı (Nazar vd., 2020), yoncada kök ve gövde uzunluğu ile klorofil içeriği (Khadouri vd., 2020), mısır bitkisinde kök ve gövde uzunluğu ile BSİ (Bai vd., 2022) üzerine negatif etkisi rapor edilmiştir.

Bu araştırmalar, çalışmamızda kısa süreli su kıtlığı ile her iki çeşitte kök ve gövde uzunluğunda, biyokütlede, SYA'da, BSİ'de ve klorofil içeriğindeki azalmayı desteklemektedir. Diğer yandan araştırmamızda su kıtlığı ile H₂O₂'nin artması buğdayda (Acar vd., 2020; Ahmed vd., 2019), ketende (Gupta vd., 2021), asperde (Nazar vd., 2020) elde edilen sonuçlarla uyumludur.

Bir ozmolit olarak foliar GB uygulamalarının buğday ve diğer tarım bitkilerinde kuraklığın olumsuz etkilerini iyileştirdiği belirlenmiştir. Sonuçlar düşük konsantrasyonlarda (5-30 mM) veya yüksek konsantrasyonlarda (50-200 mM) GB uygulaması ile kuraklığın bitkideki büyüme ve gelişmesi üzerindeki olumsuz etkinin azaldığına veya ortadan kalktığına işaret etmektedir (Acar vd., 2020; Ahmed vd., 2019; Gupta vd., 2021; Khadouri vd., 2020; Miri vd., 2021; Nazar vd., 2020; Ragab vd., 2015; Shahbaz vd., 2012).

Bitki antioksidan savunma sisteminde AsA-GSH döngüsü sırasında yeterli GSH bulunuşu, hücre içi toksik olan MG'nin D-Laktat'a dönüştürülmesinde önemlidir (Hasanuzzaman ve Fujita, 2011). Bu çalışmada kuraklığa duyarlı Selçuklu çeşidinde su kıtlığının H₂O₂ miktarını arttırdığı, foliar GB uygulamasının ise azalttığı belirlenmiştir. Ek

olarak, bu çeşitte MG miktarı su kıtlığıyla artarken GB uygulamasıyla azalmıştır. Bununla birlikte, kuraklığa dayanıklı Demir-2000’de ise hem H₂O₂ miktarı, hem de MG miktarı kontrol seviyesine dönmüştür. Kuraklık stresi altındaki mercimek ve hardalda prolin ve betain uygulamalarının hücreyi H₂O₂ ve MG’nin toksik etkilerinden koruduğu, artan GSH ve azalan H₂O₂ ile ilişkisi ve bunun antioksidan enzim aktivitelerindeki (APX, GR, CAT, GST, GLY II) artışla bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Anwar Hossain vd., 2014; Molla vd., 2014). Buna göre, sonuçlarımız kuraklığa dayanıklı buğday çeşidinin kuraklığa duyarlı çeşide kıyasla daha iyi bir antioksidan kapasiteye sahip olduğuna işaret ediyor olabilir.

Sonuç olarak 5 mM GB uygulamasının kuraklığa duyarlı Selçuklu çeşidinde kuraklığın büyüme ve gelişme üzerindeki olumsuz etkilerini azalttığı, ancak dayanıklı çeşit Demir-2000’de bu iyileşmenin de etkili olduğu saptanmıştır. Bu bağlamda, sonuçlar yüksek antioksidan kapasiteye sahip kuraklığa dayanıklı buğdayların seçiminde bir kriter olarak MG miktarının kullanışlı olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, enzimatik antioksidan savunma sistemindeki APX ve GR aktivitelerinin belirlenmesinin de bu bilginin kesinliğine hizmet edeceği anlaşılmaktadır.

KAYNAKÇA

- Acar, O., Yıldız, M. T., Günay, E. ve Baltacıer, G. (2020). “Kuraklık stresi altındaki buğdayda eksojen glisin betain’in fizyolojik ve biyokimyasal etkileri”. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 35(3), 446-455.
- Ahmed, N., Zhang, Y., Li, K., Zhou, Y., Zhang, M. and Li, Z. (2019). “Exogenous application of glycine betaine improved water use efficiency in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) via modulating photosynthetic efficiency and antioxidative capacity under conventional and limited irrigation conditions”. *The Crop Journal*, 7(5), 635-650.
- Anwar Hossain, M., Golam Mostof, M. and Fujita, M. (2014). “Modulation of reactive oxygen species and methylglyoxal detoxification systems by exogenous glycinebetaine and proline improves drought tolerance in mustard (*Brassica juncea* L.). *International Journal of Plant Biology and Research*.
- Aron, D. I. and Hoagland, D. R. (1940). “Crop production in artificial culture solutions and in soils with special reference to factors influencing yields and absorption of inorganic nutrients”. *Soil Science*, 50, 463-485.
- Ashraf, M. F. M. R. and Foolad, M. R. (2007). “Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance”. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206-216.
- Bai, M., Zeng, W., Chen, F., Ji, X., Zhuang, Z., Jin, B. and Peng, Y. (2022). “Transcriptome expression profiles reveal response mechanisms to drought and drought-stress mitigation mechanisms by exogenous glycine betaine in maize”. *Biotechnology Letters*, 1-20.
- Bhattacharjee, S. (2005). “Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants”. *Current Science*, 1113-1121.
- Bhuiyan, T. F., Ahamed, K. U., Nahar, K., Al Mahmud, J., Bhuyan, M. B., Anee, T. I. and Hasanuzzaman, M. (2019). “Mitigation of PEG-induced drought stress in rapeseed (*Brassica rapa* L.) by exogenous application of osmolytes”. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20, 101197.

- Bhusal, B., Poudel, M. R., Rishav, P., Regmi, R., Neupane, P., Bhattarai, K. and Acharya, S. (2021). "A review on abiotic stress resistance in maize (*Zea mays* L.): effects, resistance mechanisms and management". *Journal of Biology and Today's World*, 10(2), 1-3.
- Blum, A. (2017). "Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production". *Plant, Cell and Environment*, 40 (1), pp. 4-10.
- 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.
- Büyük, İ., Aydın, S. S. ve Sümer, A. R. A. S. (2012). "Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar". *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(2), 97-110.
- Cheeseman, J. M. (2006). "Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions". *Journal of Experimental Botany*, 57(10), 2435-2444.
- Das, K. and Roychoudhury, A. (2014). "Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants". *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- Devireddy, A. R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y. and Mittler, R. (2021). "Integration of reactive oxygen species and hormone signaling during abiotic stress". *The Plant Journal*, 105(2), 459-476.
- Dietz, K. J., Turkan, I. and Krieger-Liszkay, A. (2016). "Redox-and reactive oxygen species-dependent signaling into and out of the photosynthesizing chloroplast". *Plant Physiology*, 171(3), 1541-1550.
- Dietz, K. J., Zörb, C. and Geilfus, C. M. (2021). "Drought and crop yield". *Plant Biology*, 23(6), 881-893.
- Doğru, A. ve Canavar, S. (2020). "Bitkilerde tuz toleransının fizyolojik ve biyokimyasal bileşenleri". *Academic Platform Journal of Engineering and Science*, 8(1), 155-174.
- Ejaz, S., Hussain, S., Anjum, M. A. and Ahmad, S. (2019). "Application of osmolytes in improving abiotic stress tolerance in plant". *In Plant Tolerance to Environmental Stress*, pp. 47-58.

- Ghosh, A., Kushwaha, H. R., Hasan, M. R., Pareek, A., Sopory, S. K. and Singla-Pareek, S. L. (2016). “Presence of unique glyoxalase III proteins in plants indicates the existence of shorter route for methylglyoxal detoxification”. *Scientific Reports*, 6(1), 1-15.
- Godoy, F., Olivos-Hernandez, K., Stange, C. and Handford, M. (2021). “Abiotic stress in crop species: Improving tolerance by applying plant metabolites”. *Plants*, 10(2), 186.
- Gupta, P., Rai, R., Vasudev, S., Yadava, D. K. and Dash, P. K. (2021). “Ex-foliar application of glycine betaine and its impact on protein, carbohydrates and induction of ROS scavenging system during drought stress in flax (*Linum usitatissimum*)”. *Journal of Biotechnology*, 337, 80-89.
- Hasanuzzaman, M., and M. Fujita. (2011). “Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings”. *Biological Trace Element Research*, 143 (3):1758–76.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A. and Fotopoulos, V. (2020). “Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator”. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Hossain, M. S., Mahmud, J. A., Rahman, A., Inafuku, M. and Fujita, M. (2017). “Coordinated actions of glyoxalase and antioxidant defense systems in conferring abiotic stress tolerance in plants”. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 200.
- Hoque, T. S., Hossain, M. A., Mostofa, M. G., Burritt, D. J., Fujita, M. and Tran, L. S. P. (2016). “Methylglyoxal: an emerging signaling molecule in plant abiotic stress responses and tolerance”. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1341.
- Hossain, M. A., Hossain, M. Z. and Fujita, M. (2009). “Stress-induced changes of methylglyoxal level and glyoxalase I activity in pumpkin seedlings and cDNA cloning of glyoxalase I gene”. *Australian Journal of Crop Science*, 3(2), 53.

- Hossain, M. A., Teixeira da Silva, J. A. and Fujita, M. (2011). “Glyoxalase system and reactive oxygen species detoxification system in plant abiotic stress response and tolerance: an intimate relationship”. *Abiotic Stress/Book*, 1, 235-266.
- Jan, S., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Alam, P., Siddique, K. H. and Ahmad, P. (2018). “Interactive effect of 24- epibrassinolide and silicon alleviates cadmium stress via the modulation of antioxidant defense and glyoxalase systems and macronutrient content in *Pisum sativum* L. seedlings”. *BMC Plant Biology*, 18(1), 1-18.
- Kaur, C., Sharma, S., Singla-Pareek, S. L. and Sopory, S. K. (2016). “Methylglyoxal detoxification in plants: role of glyoxalase pathway”. *Indian Journal of Plant Physiology*, 21(4), 377-390.
- Khadouri, H. K., Kandhan, K. and Salem, M. A. (2020). “Effects of glycine betaine on plant growth and performance of *Medicago sativa* and *Vigna unguiculata* under water deficit conditions”. *Journal of Phytology*, 12, 1-8.
- Khalid, M., Rehman, H. M., Ahmed, N., Nawaz, S., Saleem, F., Ahmad, S. and Lam, H. M. (2022). “Using exogenous melatonin, glutathione, proline, and glycine betaine treatments to combat abiotic stresses in crops”. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12913.
- Kumar, D., Yusuf, M. A., Singh, P., Sardar, M. and Sarin, N. B. (2014). “Histochemical detection of superoxide and H₂O₂ accumulation in *Brassica juncea* seedlings”. *Bio-protocol*, 4(8), e1108-e1108.
- Li, Z. G. (2019). “Methylglyoxal: A novel signaling molecule in plant responses to abiotic stresses”. *In Plant Signaling Molecules*, pp. 219-233.
- Li, Z. G., Duan, X. Q., Min, X. and Zhou, Z. H. (2017). “Methylglyoxal as a novel signal molecule induces the salt tolerance of wheat by regulating the glyoxalase system, the antioxidant system, and osmolytes”. *Protoplasma*, 254(5), 1995-2006.
- Lichtenthaler, H. K. (1996). “Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants”. *Journal of Plant Physiology*, 148(1-2), 4-14.
- Liu, J., Hasanuzzaman, M., Wen, H., Zhang, J., Peng, T., Sun, H. and Zhao, Q. (2019). “High temperature and drought stress cause abscisic acid and reactive oxygen

- species accumulation and suppress seed germination growth in rice”. *Protoplasma*, 256(5), 1217-1227.
- MacWilliams, J. R., Ostaszewska-Bugajska, M., Borysiuk, K., Szal, B. and Kaloshian, I. (2020). “Quantification of methylglyoxal levels in cowpea leaves in response to cowpea aphid infestation”. *Bio-protocol*, 10(20), e3795- e3795.
- Miri, M., Ghooshchi, F., Tohidi-Moghadam, H. R., Larijani, H. R. and Kasraie, P. (2021). “Ameliorative effects of foliar spray of glycine betaine and gibberellic acid on cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) yield affected by drought stress”. *Arabian Journal of Geosciences*, 14(10), 1-9.
- Mohsin, S. M., Hasanuzzaman, M., Parvin, K. and Fujita, M. (2020). “Pretreatment of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings with 2, 4-D improves tolerance to salinity-induced oxidative stress and methylglyoxal toxicity by modulating ion homeostasis, antioxidant defenses, and glyoxalase systems”. *Plant Physiology and Biochemistry*, 152, 221-231.
- Molla, M. R., Ali, M. R., Hasanuzzaman, M., Al-Mamun, M. H., Ahmed, A., Nazim-Ud-Dowla, M. A. N. and Rohman, M. M. (2014). “Exogenous proline and betaine-induced upregulation of glutathione transferase and glyoxalase I in lentil (*Lens culinaris*) under drought stress”. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(1), 73-80.
- Mostofa, M. G., Ghosh, A., Li, Z. G., Siddiqui, M. N., Fujita, M. and Tran, L. S. P. (2018). “Methylglyoxal—a signaling molecule in plant abiotic stress responses”. *Free Radical Biology and Medicine*, 122, 96-109.
- Nazar, Z., Akram, N. A., Saleem, M. H., Ashraf, M., Ahmed, S., Ali, S. and Alyemeni, M. N. (2020). “Glycinebetaine-induced alteration in gaseous exchange capacity and osmoprotective phenomena in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under water deficit conditions”. *Sustainability*, 12(24), 10649.
- Öztürk N.Z. (2015). “Bitkilerin kuraklık stresine tepkilerinde bilinenler ve yeni yaklaşımlar”. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(5):307-315.
- Özüpekçe, S. (2020). “Türkiye’de artan kuraklık ve olası sonuçları: susuzluk, kıtlık ve ekonomik problemler”. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 71 (13), 278, 285.

- Peryea, F. J. and Kammereck, R. (1997). "Use of Minolta SPAD-502 chlorophyll meter to quantify the effectiveness of mid-summer trunk injection of iron on chlorotic pear trees". *Journal of Plant Nutrition*, 20(11), 1457-1463.
- Ragab, M. E., Helal, N. A., Sawan, O. M., Fawzy, Z. F. and El-Sawy, S. M. (2015). "Foliar application of glycine betaine for alleviating water stress of tomato plants grown under sandy soil conditions. *International Journal of Chemistry and Technology*, 8(12), 52-67.
- Raza, M. A. S., Saleem, M. F., Shah, G. M., Khan, I. H. and Raza, A. (2014). "Exogenous application of glycinebetaine and potassium for improving water relations and grain yield of wheat under drought". *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(2), 348-364.
- Sankaranarayanan, S., Jamshed, M., Kumar, A., Skori, L., Scandola, S., Wang, T. and Samuel, M. A. (2017). "Glyoxalase goes green: the expanding roles of glyoxalase in plants". *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 898.
- Shahbaz, M., Masood, Y., Perveen, S. and Ashraf, M. (2012). "Is foliar-applied glycinebetaine effective in mitigating the adverse effects of drought stress on wheat (*Triticum aestivum* L.)?". *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 84(2), 192.
- Sharma, A., Shahzad, B., Kumar, V., Kohli, S. K., Sidhu, G. P. S., Bali, A. S. and Zheng, B. (2019). "Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress". *Biomolecules*, 9(7), 285.
- Smart, R. E. and Bingham, G. E. (1974). "Rapid estimates of relative water content". *Plant physiology*, 53(2), 258- 260.
- Smirnoff, N. and Cumbes, Q.J. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28: 1057–60.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu). (2022, 4 Ekim). Erişim adresi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2021-37249>
- Van Breusegem, F. and Dat, J. F. (2006). "Reactive oxygen species in plant cell death". *Plant physiology*, 141(2), 384-390.
- Verbruggen, N. and Hermans, C. (2008). "Proline accumulation in plants: a review". *Amino Acids*, 35(4), 753-759.

- Wilson, P. J., Thompson, K. E. N. and Hodgson, J. G. (1999). ‘‘Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies’’. *The New Phytologist*, 143(1), 155-162.
- Xie, X., He, Z., Chen, N., Tang, Z., Wang, Q. and Cai, Y. (2019). ‘‘The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant’’. *BioMed Research International*.
- Xiong, W., Reynolds, M. and Xu, Y. (2022). ‘‘Climate change challenges plant breeding’’. *Current Opinion in Plant Biology*, 70, 102308.
- Xu, Z., Sun, M., Jiang, X., Sun, H., Dang, X., Cong, H. and Qiao, F. (2018). ‘‘Glycinebetaine biosynthesis in response to osmotic stress depends on jasmonate signaling in watermelon suspension cells’’. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1469.
- Yavaş, İ. ve İlker, E. (2020). ‘‘Çevresel stres koşullarına maruz kalan bitkilerde fotosentez ve fitohormon seviyelerindeki değişiklikler’’. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 9(2), 295-311.