



**PROLİN ÖN UYGULAMASININ KURAKLIK STRESİ KOŞULLARINDAKİ
KARAÇAM TOHUMLARININ ÇİMLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Burak KILIÇ

**Yüksek Lisans
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİRALAY**

14/08/2020

Artvin

**T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**PROLİN ÖN UYGULAMASININ KURAKLIK STRESİ KOŞULLARINDAKİ
KARAÇAM TOHUMLARININ ÇİMLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burak KILIÇ

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİRALAY**

Artvin 2020

TEZ BEYANNAMESİ

Artvin oruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Prolin n Uygulamasının Kuraklık Stresi Koşullarındaki Karaçam Tohumlarının imlenmesi zerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Demiralay’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 14/08/2020

Burak KILIÇ

İmza

T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ORMAN MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

PROLİN ÖN UYGULAMASININ KURAKLIK STRESİ KOŞULLARINDAKİ
KARAÇAM TOHUMLARININ ÇİMLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Burak KILIÇ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 14/08/2020

Tezin Sözlü Savunma Tarihi :/08/2020

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİRALAY

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zafer ÖLMEZ

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Fuat YETİŞSİN

ONAY:

Bu Yüksek Lisans Tezi, Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından .../.../..... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../..... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

.../.../.....

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“Prolin Ön Uygulamasının Kuraklık Stresi Koşullarındaki Karaçam Tohumlarının Çimlenmesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” konusunda yapılan bu çalışma; Artvin Çoruh Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu araştırma için beni yönlendiren, literatür araştırmalarımnda yardımcı olan, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİRALAY’a teşekkürlerimi sunarım.

Elde edilen verilerinin analiz edilmesinde ve tezin yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen mesai arkadaşlarım Arş. Gör. Mustafa ACAR, Öğr. Gör. Kamil ÖZTÜRK, Öğr. Gör. Kemal Vehbi İMAMOĞLU ve Ahmet KIZIL’a teşekkür ederim.

Çalışma süresi boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli annem Sevim KILIÇ ve değerli babam Hayati KILIÇ’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmanın bilimsel ve teknik açıdan uygulayıcılara faydalı olmasını dilerim.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 119O069 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Burak KILIÇ
Artvin - 2020

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEZ BEYANNAMESİ	I
ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET.....	IV
SUMMARY.....	V
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1 GENEL BİLGİLER	1
1.1 Giriş.....	1
1.2 Bitkilerde Stres.....	3
1.2.1 Kuraklık Stresinin Bitkiler Üzerine Etkisi	4
1.2.2 Kuraklık Stresinin Ormanlar Üzerine Etkisi	9
1.3 Karaçam	11
1.3.1 Karaçam Kuraklık İlişkisi	14
1.4 Prolin	15
1.4.1 Prolinin Kuraklık Stresi ve Çimlenme Üzerindeki Etkisi	16
2 MATERYAL VE YÖNTEM	19
2.1 Deney Materyalinin Elde Edilmesi ve Deneyin Tasarımı	19
2.1.1 Çalışmada Kullanılacak Orijinin Belirlenmesi	19
2.1.2 Tohumlara Uygulanacak Kuraklık Şiddetinin Belirlenmesi	19
2.1.3 Prolin Etkisinin Belirlenmesi	20
2.2 Çimlenme Hızı, Çimlenme Oranı ve Kök Gelişimi	21
2.3 Taze Ağırlık ve Nisbi Su İçeriğinin (RWC) Belirlenmesi.....	21
2.4 Stres Parametrelerinin Belirlenmesi.....	21
2.4.1 Lipid Peroksidasyonu	22
2.4.2 Hidrojen Peroksit İçeriği	22
2.4.3 Prolin İçeriği.....	22
2.4.4 Antioksidan Enzim Aktivitelerin Belirlenmesi	23
2.4.4.1 Toplam Protein Miktarının Belirlenmesi	23

2.4.4.2	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi	23
2.4.4.3	Katalaz Aktivitesi	24
2.4.4.4	Guaikol Peroksidaz Aktivitesi	24
2.4.4.5	Askorbat Peroksidaz Aktivitesi	24
2.4.4.6	İstatiksel Analizler	24
3	BULGULAR	26
3.1	Orijin Seçimi ve Etkin Kuraklık Şiddetinin Belirlenmesi	26
3.2	Çimlenme Hızı, Çimlenme Oranı ve Kök Gelişimi	26
3.3	Taze Ağırlık ve Nisbi Su İçeriği (RWC)	28
3.4	Stres Parametreleri	29
3.4.1	Lipid Peroksidasyonu	29
3.4.2	Hidrojen Peroksit İçeriği	30
3.4.3	Prolin İçeriği	31
3.4.4	Antioksidan Enzim Aktiviteleri	31
3.4.4.1	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi	31
3.4.4.2	Katalaz Aktivitesi	32
3.4.4.3	Guaikol Peroksidaz Aktivitesi	33
3.4.4.4	Askorbat Peroksidaz Aktivitesi	33
4	TARTIŞMA	35
5	SONUÇ VE ÖNERİLER	43
	KAYNAKLAR	45
	ÖZGEÇMİŞ	60

ÖZET

PROLİN ÖN UYGULAMASININ KURAKLIK STRESİ KOŞULLARINDAKİ KARAÇAM TOHUMLARININ ÇİMLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tüm canlılar için vazgeçilmez bir ekosistem olan ormanlar, son yıllarda küresel ısınma ve kuraklık nedeniyle ciddi baskı altındadır. Karaçam kuraklığa olan dayanıklılığı ve düşük ekolojik istekleri nedeniyle ülkemizde ağaçlandırma çalışmalarında kullanılan en önemli türlerden biridir. Prolin, bitkilerde strese karşı tolerans arttırıcı, antioksidan, ozmolit ve sinyal molekülü olarak görev yapabilir. Bu çalışmada, dışarıdan prolin uygulamasının kuraklık stresine karşı çimlenme aşamasındaki etkileri araştırıldı. Çimlenme esnasında kullanılacak kuraklık şiddeti tespit edildi. Karaçam tohumları belirli konsantrasyonlarda (kontrol, 0,1 mM, 0,5 mM, 1 mM, 5 mM ve 10 mM) prolin solüsyonu içeren petri kaplarına ekildi. Ekimden yedi gün sonra çimlenme ortamına kuraklık stresi uygulandı. Çimlenme periyodunun sonunda elde edilen örneklerde çimlenme hızı, çimlenme oranı, kök boyu uzunluğu, taze ağırlık, nisbi su içeriği, lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit, prolin içeriği ve bazı antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GPX ve APX) ölçüldü. Çalışma ile ulaşılan bulgular incelendiğinde belirli bir konsantrasyonda dışardan uygulanan prolinin (1 mM) kuraklık stresine karşı çimlenmeyi teşvik ederek büyüme ve gelişmeyi arttırdığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Prolin, karaçam, çimlenme, kuraklık stresi, antioksidanlar

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PROLINE PRE-TREATMENT ON GERMINATION OF BLACK PINE SEEDS UNDER DROUGHT STRESS

Forests, which are essential ecosystems for all living things, are under severe pressure from global warming and drought in recent years. Black pine is one of the most important species used in afforestation activities in our country due to its drought resistance and low ecological demands. Proline can act as a stress tolerance enhancer, antioxidant, osmolyte, and signal molecule in plants. In this study, the effects of exogenous proline treatment against drought stress during germination were investigated. The drought severity to be used during germination was determined. Black pine seeds were planted in petri dishes containing different concentrations of proline solution (control, 0.1 mM, 0.5 mM, 1 mM, 5 mM and 10 mM). Drought stress (15% PEG) was applied to the germination medium seven days after planting. Germination speed, germination rate, root length, fresh weight, relative water content, lipid peroxidation, hydrogen peroxide, proline content, and some antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GPX, and APX) were measured in the samples obtained at the end of the germination period. When the findings of the study were examined, it was determined that exogenous proline treatment at a certain concentration (1 mM) increased growth and development by promoting germination against drought stress.

Keywords: Proline, black pine, germination, drought stress, antioxidants

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Tahsis edilen tohumlara ait bilgiler	19
Tablo 2. Deneyin tasarımını gösteren özet şablon	20
Tablo 3. Çimlenme hızı ve çimlenme yüzdelere ilişkin Duncan testi sonuçları	27



ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Bitkilerde görülen başlıca stres çeşitleri	4
Şekil 2. Karaçamın Türkiye ve Avrupa'daki yayılış alanları	12
Şekil 3. Karaçam tohumlarında güne bağlı olarak ölçülmüş çimlenme sayıları.....	26
Şekil 4. Kontrol (sadece PEG) grubu ve 1 mM Pro+PEG grubu.....	27
Şekil 5. Kök boyu uzunlukları	28
Şekil 6. Taze ağırlıklar	28
Şekil 7. Nisbi su içeriği	29
Şekil 8. Lipid peroksidasyonu seviyesi (MDA).....	30
Şekil 9. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) İçeriği.....	30
Şekil 10. Prolin içeriği	31
Şekil 11. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi.....	32
Şekil 12. Katalaz aktivitesi.....	32
Şekil 13. Guaikol peroksidaz enzim aktivitesi.....	33
Şekil 14. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi	34

KISALTMALAR DİZİNİ

APX	Askorbat peroksidaz
μ l	Mikrolitre
CAT	Katalaz
GPX	Guaikol peroksidaz
MDA	Malondialdehit
ml	Mililitre
mM	Milimolar
$^{\circ}$ C	Santigrad derece
PEG	Polietilen Glikol 6000
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz

1 GENEL BİLGİLER

1.1 Giriş

Ormanlar gezegenimizde yaşamın sürdürülebilirliği için vazgeçilmez bir unsurdur. Birçok flora ve fauna çeşitliliğini içermesinin yanı sıra bulunduğu coğrafyanın iklimini ve toprak özelliklerini değiştirmesiyle de ormanlar önemini ortaya koymaktadır. Ormanlar, dünyanın karasal biyolojik çeşitliliğinin çoğunu barındırır. Amfibi türlerin yüzde 80'i, kuş türlerinin yüzde 75'i ve memeli türlerinin yüzde 68'i için habitat ortamı sağlar (FAO ve UNEP, 2020). Biyolojik yararlarına ek olarak dünya çapında 186 milyon hektarlık orman alanı; rekreasyon, turizm, eğitim araştırması, kültürel ve manevi alanların korunması gibi sosyal hizmetler için tahsis edilmiştir. Aynı zamanda ormanlar sahip oldukları hammadde kaynağı itibarıyla insanlar için ekonomik öneme de sahiptir. Küresel olarak yaklaşık 1,15 milyar hektar orman varlığı, öncelikli olarak ahşap ve odun dışı orman ürünlerinin üretimi için kullanılmaktadır (FAO, 2020).

Ormanlar şu anda küresel arazi alanının yüzde 30,8'ini kaplamaktadır. Toplam orman alanı 4,06 milyar hektar olup kişi başına yaklaşık 0,5 ha düşmektedir. Tropik alanlar, dünya ormanlarının en büyük oranına (%45) sahiptir ve bunu boreal, ılıman ve yarı tropikal alanlar takip etmektedir. Orman alanı, 1990-2020 arasındaki otuz yılda %32,5'ten %30,8'e düşmüştür. Bu, 178 milyon hektarlık (Libya büyüklüğünde bir alan) orman kaybını temsil etmektedir (FAO, 2020). Bu durum küresel ölçekte ve ülkemizde orman varlığının en azından korunması hususunda önemini ortaya koymaktadır. Birleşmiş Milletlerin (2017-2030) stratejik planında “Küresel Orman Hedefleri” için belirlediği ilk hedef olarak; “Koruma, restorasyon, ağaçlandırma ve ağaçlandırma da dahil olmak üzere sürdürülebilir orman yönetimi yoluyla dünya çapındaki orman kaybını tersine çevirmek, orman bozulmasını önleme çabalarını arttırmak ve iklim değişikliğine yönelik küresel çabalara katkıda bulunmak” ifadesi yer almaktadır (UN, 2017).

Kuraklık stresi başta olmak üzere bitkilerin maruz kaldığı çeşitli abiyotik stres etkenleri, orman varlığının artırılması çalışmaları için en önemli sınırlayıcı

etmenlerden birisidir (Farooq ve ark., 2009; Tair ve Zeiger, 2010). Çünkü bir bölgede orman varlığı oluşturmak için öncelikle iklimsel zorluklarla mücadele etmek gerekir. Kuraklık stresi ülkemiz ormancılık faaliyetleri için en önemli engellerden birisidir (Öztürk, 2002). Kuraklık, çoğu zaman bir bitkinin metabolizma faaliyetleri ve terleme nedeniyle kaybettiği suyu topraktan yeteri kadar alamaması durumunda oluşan bir olgudur (Ors ve Ekinci, 2015). Aynı zamanda toprakta yeterli oranda su bulunsa bile çeşitli sebeplerden dolayı (donma, suyun bağlı halde olması ve tuzluluk gibi) su bitki bünyesine transfer edilemez ve kuraklık olgusu meydana gelir (Rabbani ve ark., 2003; Rengasamy, 2006; Beck ve ark., 2007).

Karaçam (*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) ülkemizde bozkır bölgelerde yayılış gösteren en önemli ağaç türlerinden biridir (Topaçoğlu ve ark., 2016). Yaz kuraklığına olan dayanıklılığı ve düşük sıcaklıklara karşı toleransı sayesinde Anadolu bozkır alanlarına en fazla sokulan ağaç türlerinden biridir (Güner ve ark., 2011). Meşe ve kızılçam türlerinden sonra en yaygın ağaç türüdür ve ülkemiz toplam orman varlığının %19'unu oluşturur (OGM, 2015). Karaçam, sahip olduğu düşük ekolojik istekleri sayesinde ülkemizde orman varlığını artırma çabalarında sıkça kullanılmaktadır (Saatçioğlu, 1979; Güner ve ark., 2011; Çınar ve Gülsoy, 2019).

Prolin proteinlerin yapısında bulunan ve proliddin iskeletinde beş karbon atomu taşıyan 20 α -amino asitten biridir. Aynı zamanda prolin diğer amino asitlerden farklı olarak α -karbon atomundaki amin ($-NH_2$) grubu bulunmaması yönüyle diğer amino asitlerden ayrılır ve bu özelliği nedeniyle imino asit olarak da adlandırılır (Srivastava ve ark., 2017). Prolin bitkilerde enzim aktivitelerini harekete geçirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Strese karşı toleransın oluşturulmasına önemli etki yaparak hücredeki membran bütünlüğünün ve ozmotik dengenin sağlanmasına yardımcı olur (Saed-Moucheshi ve ark., 2013; de Freitas ve ark., 2018; Forlani ve ark., 2019).

Literatürde prolinin kuraklık stresine karşı toleransı arttırıcı bir etki gösterdiğini belirten raporlar mevcuttur. (Yamada ve ark., 2005; Moustakas ve ark., 2011; Ghaffari ve ark., 2019). Ek olarak ülkemiz ağaçlandırma çalışmalarının çoğu kurak ve yarı kurak alanlarda gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmalarda karaçam gerek ekim gerekse de dikim yöntemleriyle sıkça kullanılmaktadır (Daşdemir, 1992; Güner ve ark., 2015). Mevcut çalışmada dışardan uygulanan prolinin karaçam tohumlarının kuraklık stresine

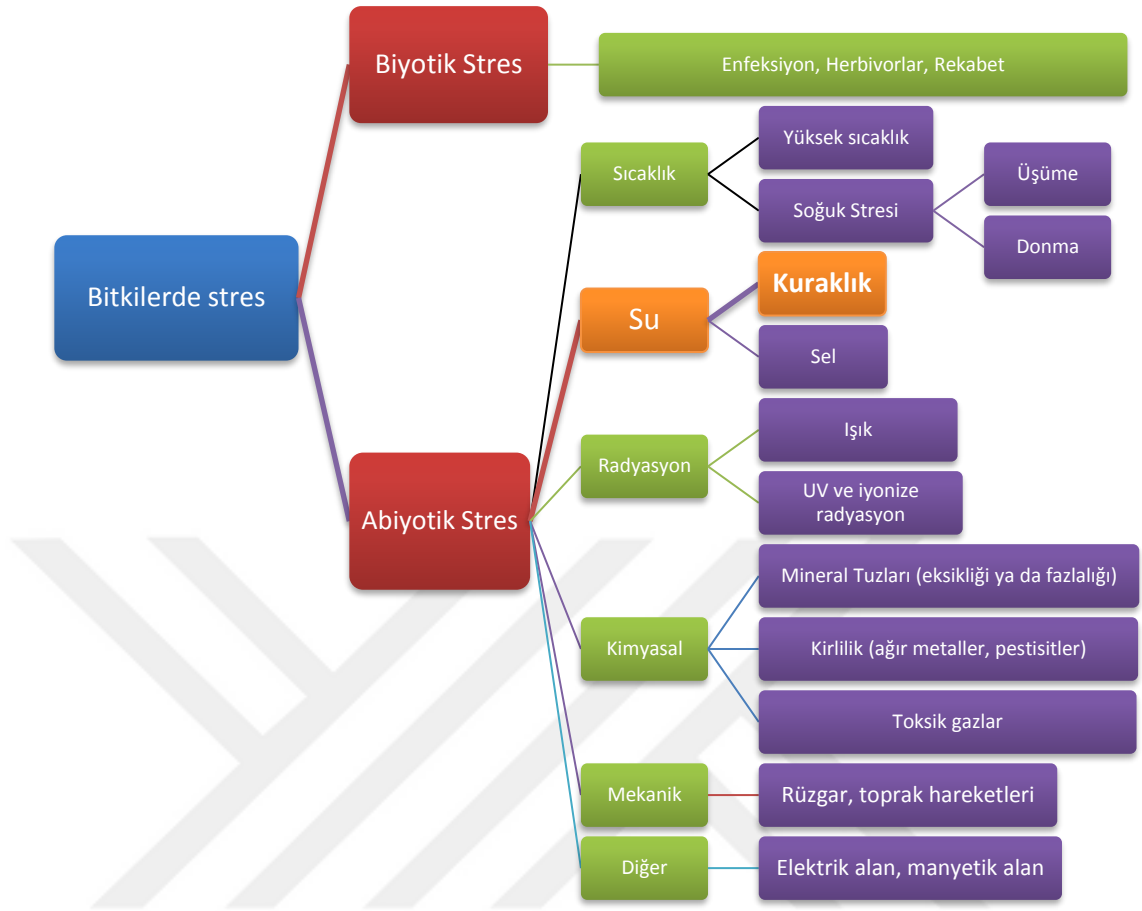
karşı çimlenme kabiliyetini arttıracakı öngörölmüştür. Aynı zamanda literatürde çimlenme aşamasında dışardan uygulanan prolinin kurak koşullarda yetişen karaçam tohumları üzerine etkilerinin belirtildiğı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışma ile ulaşılan sonuçların hem bilimsel literatüre hem de ölkemiz ormancılık faaliyetlerine önemli katkılar sağlayacağı düşünölmektedir.

1.2 Bitkilerde Stres

Bitkilerde stres, bitkinin büyümesini, gelişmesini veya üretkenliğini olumsuz etkileyen çevresel koşullar olarak tanımlanabilir. Aynı zamanda bitkiler için stres, hücre metabolizmasında ve gen ifadelerinde birçok yanıtın oluşmasına neden olur. Bitkilerde stres, abiyotik ve biyotik stres olmak üzere iki ana kategoriye ayrılabilir (Verma ve ark., 2013).

Karasal bitkiler, ortaya çıktıklarından beri doğal olarak zor şartlar altındaki ortamlarda yaşamaktadır. Kuraklık (su azlığı) veya sel (aşırı su), düşük veya yüksek sıcaklık, yüksek tuzluluk oranı, ağır metaller ve ultraviyole (UV) radyasyon gibi abiyotik stresler, bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkiler. Büyük mahsul verim kaybına neden olarak tarım ve ekosistem için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Stres, tohum çimlenmesi, fide oluşumu, vejetatif büyüme ve çiçek verimliliğini içeren yaşam döngüsüne büyük ölçüde etki eder (Mei ve ark., 2018).

Bitkilerdeki biyotik stres, canlı organizmalar, özellikle virüsler, bakteriler, mantarlar, nematodlar, böcekler, araknidler ve yabancı otlardan kaynaklanır. Biyotik strese neden olan ajanlar, konakçıları doğrudan besin maddelerinden mahrum eder ve bitkilerin ölümüne yol açabilir. Hasat öncesi ve sonrası kayıplar nedeniyle biyotik stres önemlidir. Uyarlanabilir bağışıklık sisteminden yoksun olmasına rağmen bitkiler, kendilerine belirli sofistike stratejiler geliştirerek biyotik streslere karşı koyabilirler. Biyotik stres, bitkiler üzerinde tuzluluk, güneş ışığı, sıcaklık, soğuk, kuraklık ve sel gibi canlı olmayan faktörler tarafından uygulanan abiyotik stresden tamamen farklıdır. (Gull ve ark., 2018). Bitkilerde görölen stres çeşitlerinin diyagramı şekilde (Şekil 1) verilmiştir (Schulze ve ark., 2005).



Şekil 1. Bitkilerde görülen başlıca stres çeşitleri

Sesil yapıları nedeniyle, bitkiler hayatta kalmak ve gelişmek için stresin olumsuz etkilerini önlemek veya tolere etmek için streslerle yüzleşmek ve güçlü adaptif taktikler geliştirmek zorundadır. Bitkiler strese karşı hücrel, fizyolojik ve morfolojik savunma sistemleri geliştirmiştir. (Mei ve ark., 2018).

1.2.1 Kuraklık Stresinin Bitkiler Üzerine Etkisi

Günümüzde yükselmeye devam eden sıcaklık ve atmosferik karbondioksit seviyesi, dünyanın her yerindeki iklimi değiştirmiştir. Kurak koşullarda, çoğu zaman bitkilerde meydana gelen ilk yanıt büyümenin durması ya da yavaşlamasıdır. Bu yanıtla bağlı olarak bitkilerde sürgün büyümesi yavaşlar ve dolayısı ile normal metabolizma talepleri azalır. Devamında ise ozmotik düzenlemeler için gerekli metabolitlerin sentezi artar (Mei ve ark., 2018).

Kuraklık dünyanın birçok yerinde, özellikle kurak ve yarı kurak alanlarda, bitkiler için en önemli ve yaygın stres faktörlerinden biridir. Bitkilerde su eksikliğinin çeşitli nedenleri vardır. Bunlar düşük yağış, tuzluluk, ekstrem sıcaklıklar ve yüksek ışık yoğunluğudur. Öte yandan, birçok durumda toprakta yeterli su olmasına rağmen bitkiler bu suyu alamayabilir. Bu tür su stresine yalancı kuraklık veya fizyolojik kuraklık denir. Kuraklık stresi çok boyutlu bir strestir ve genellikle bitkilerin fizyolojik, morfolojik, ekolojik, biyokimyasal ve moleküler yapılarında değişikliklere yol açar. Ayrıca, bitki büyümesini, verimliliğini ve ürün kalitesini olumsuz yönde etkileyebilir. Kuraklık stresine karşı verilen bitki yanıtları, stresin etkisinin süresine, şiddetine, bitkinin türüne, yaşına ve gelişim evresine bağlıdır. Birçok bitki kuraklık stresini tolere etmek için bitki türüne bağlı olmak üzere çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmiştir. Bitkilerde kuraklık stresine karşı tolerans yanıtında; gelişimsel, fizyolojik, morfolojik, ekolojik, biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar dahil olmak üzere birçok alternatif vardır. Genel olarak bitkilerde kuraklık stresine karşına tolerans gelişimde takip edilen bir yanıt yolu vardır. Öncelikli olarak kuraklık altında hücre içi homeostazi korunmaya çalışılır. Bu yol esas olarak su kaybına ket vurarak hücrelere su girişini arttırır. Sonuçta hücre normal fonksiyonlarına geri döner. Ayrıca kuraklık toleransından farklı olarak kuraklıktan kaçınma, tek yıllık bitkilerde yaygın olan kuraklığa karşı diğer direnç mekanizmalarından birisidir (Salehi-Lisar ve Bakhshayeshan-Agdam, 2016).

Genellikle kuraklık belirtileri arasında yaprakta turgor kaybı, sarkma, solma, sararma ve erken yaprak dökülmesi yer alır (Bernacchia ve Furini, 2004; Zare ve ark., 2011). Ayrıca, bazı olağandışı semptomlar olarak kabuk ve dallarda çatlama, sürgün uçlarının kuruması, zayıf yapılı ağaç oluşumu, ağaçlarda kanopinin düşük olması, yapraklarda nekroz, zayıf ve bodur gelişim meydana gelir. Son olarak, aşırı koşulların devamıyla birlikte bitki ölümü meydana gelir (Salehi-Lisar ve Bakhshayeshan-Agdam, 2016). Bitki büyümesi ve gelişimi hücre bölünmesine, uzamasına ve farklılaşmasına bağlıdır. Tüm bu süreçler, kuraklık koşullarında turgor kaybı, düzensiz enzim aktiviteleri ve azalan fotosentetik verimden olumsuz olarak etkilenir (Ding ve ark., 2013; Osakabe ve ark., 2014). Kuraklık etkisi altında oluşan dehidrasyon etkisiyle bitki su potansiyeli ve turgoru azalır ve bu nedenle, bitki hücreleri normal işlevlerini yerine getiremezler. Turgor kaybı, hücre genişlemesinin ve büyümesinin baskılanmasına neden olur.

Bununla birlikte hem hücre genişlemesi hem de büyümesi, bitki büyümesinin ve gelişmesinin ilk aşaması için gerekli süreçlerdir (Salehi-Lisar ve Bakhshayeshan-Agdam, 2016).

Kuraklık bitkilerin morfolojik ve anatomik özelliklerini etkileyebilir. Bir yaprağın anatomisi ve mikroskobik yapısı kuraklık stresi ile değişir (Sayed-lisar ve ark., 2012). Yaprak boyutunda küçülme, stoma açıklığında ve sayısında azalma, hücre duvarında kalınlaşması, yaprak kutikula tabakasının kalınlaşması ve iletim demetlerinin sayıca artması, yaprakların su depolayan ve kserofit karaktere bürünmesi ve tahıl türlerinde yaprakların tüp şeklinde kıvrılması kuraklığa maruz kalan bitkilerde meydana gelen bazı değişikliklerdir (Chernyad'ev, 2005; Jaleel ve ark., 2009). Ek olarak, su eksikliği durumlarında yaprak senesensi artar (Farooq ve ark., 2009). Optimal yaprak alanı gelişimi ve stoma açıklığı, bitkilerde optimal fotosentez için temel faktörlerdir (Jaleel ve ark., 2009). Bu nedenle, su azlığı bitkilerinde net fotosentez, düşük yaprak alanı, stomalarda gaz değişimine karşı daha yüksek direnç ve yaprak senesensindeki artış nedeniyle azalmaktadır (Mishra ve Singh, 2011). Kuraklık stresinin bitki morfolojisi üzerindeki ana etkisi büyümenin ve gelişimin indirgenmesidir. Kuraklık stresi ile birlikte meydana gelen metabolik düzensizlikler, klorofil sentezinin de sekteye uğramasına sebep olur. Klorofil içeriğinin azalması, kuraklık stresi altındaki bitkilerin morfolojisini değiştirebilecek tipik bir semptomdur (Mishra ve Singh, 2011; Arbona ve ark., 2013). Ek olarak azalan klorofil içeriğinin de nedenlerinden birisi olduğu düşük fotosentez oranı, bitki büyümesinin ve biyokütle üretiminin azalmasında etkili olan en önemli faktörlerden biridir. Bitkiler kurak ortamlara uyum sağlayabilmek ve su alımını arttırmak için kök gelişimlerini arttırır ve daha fazla dallanmış bir kök sistemi üretir. Bu uyumsal davranış modelinde bitkinin tamamı için ayrılmış yapı elamanları ve biyokütlenin büyük bir kısmı kökler için kullanılır ve bu durum çoğu zaman bitkin topraktaki su varlığından daha fazla yararlanmasını sağlar (Farooq ve ark., 2009). Bu durum düşük seviyeli kuraklık streslerinde pek gözlenmez. Fakat şiddetli dehidrasyonun yaşandığı kurak ortamlarda bitkilerin toprak altı ve toprak üstü sürgün oranları genellikle toprak altı lehine artar. Bununla birlikte, bitkilerin toplam biyokütlesi önemli ölçüde azalmaktadır (Shao ve ark., 2008; Akhtar ve Nazir, 2013).

Kuraklık stresinin bitkiler üzerindeki önemli göstergelerinden olan RWC (nisbi su içeriği), yaprak su potansiyeli, stoma direnci, terleme oranı, yaprak ve kanopi sıcaklığı

gibi parametreler bitki-su ilişkilerinde önemli faktörlerdir (Shao ve ark., 2008; Zlatev ve Lidon, 2012). RWC seviyesinin azalması kuraklığın bitkiler üzerindeki en ilk görülen belirtilerinden birisidir (Farooq ve ark., 2009). Düşük RWC seviyesi yaprak su potansiyelini azaldığını gösterir (Sayed-lisar ve ark., 2012; Bhargava ve Sawant, 2013).

Bitkiler sesil organizmalar oldukları için çevresel streslere karşı bulundukları yerde mücadele vermek zorundadırlar. Bu nedenle, kuraklık gibi çevresel streslere karşı bitkiler çok çeşitli yanıtlar geliştirmişlerdir. Bitkiler kuraklıkla başa çıkmak için kaçma, sakınma ve tolerans olmak üzere üç farklı strateji geliştirmiştir. Kaçma stratejisi genellikle bitkilerin sakınma stratejisinin bir parçası olmasına rağmen, kuraklıktan kaçan bitkiler aslında bir su açığına maruz kalmaz (Salehi-Lisar ve Bakhshayeshan-Agdam, 2016).

Kaçış olarak tanımlanan strateji türünde bitkinin yaşam süresi o kadar kısalmıştır ki, vejetasyon döngüsü kuraklık gelmeden önce bitkilerin üreme-çoğalma dönemini geçirmesini sağlayarak bitkinin kuraklıktan kurtulmasını mümkün kılar. Bitki yaşam döngüsü, bitkinin genotipine ve çevresel koşullara bağlıdır. Erken olgunlaşma ve çiçeklenme, bitkiyi kuraklıktan korumasına rağmen genellikle ürün verimini azaltır (Bray, 2001). Tek yıllık terofit bitkiler buna örnek verilebilir.

Sakınma olarak tanımlanan diğer bir strateji türünün temel amacı, bitki su potansiyelinin korunmasıdır. Bu stratejinin başlıca özelliği, terleme miktarını sınırlandırarak su kaybını azaltmak ve gelişmiş bir kök sistemi ile topraktan su alımını sürdürmektir. Derin ve yayvan bir kök sistemi, bitkinin suya ulaşmasını kolaylaştırır. Su kaybını sınırlayan kutikula tabakası ve tüylü yapraklar, bitki dokularındaki yüksek su potansiyelinin korunmasına yardımcı olur. Bitkinin suya ulaşması için üretilen bu yapıların üretilmesi için harcanan enerji ve kullanılan biyokütle nedeniyle bitki veriminde azalma görülür. Bu nedenle, su potansiyelini korumak için kaçınma stratejisini kullanan bitkilerin boyutları, strese maruz kalmayan türdeşlerine göre daha küçük olabilir (Farooq ve ark., 2009).

Tolerans, bitkilerin kuraklık stresinin etkileri ile başa çıkmak için devreye soktuğu önemli bir stratejidir. Kuraklık ile mücadele etmek için tolerans stratejisi kullanan bitkiler, yaprak sayısını ve alanını sınırlar. Ancak bu strateji de verim kaybına yol açar

(Akhtar ve Nazir, 2013). Ayrıca, kuraklığa karşı toleranslı bitkiler, tüylü yapraklar ve yaprakların her iki tarafında trikoma üretimi gibi bazı kseromorfik özellikler gösterebilir. Özellikle uzun süre devam eden vejetasyon dönemlerinde kuraklığa karşı toleranslı bitkiler yaprak gelişimini devam ettirmeye çalışırlar. Bu durum kök gelişiminde bazı olumsuz sonuçlar meydana getirirse de nihayetinde bitki kuraklığa karşı tolerans göstermiş olur ve hayatına devam eder (Farooq ve ark., 2009). Ek olarak, osmolit üretimi, osmotik uyum, antioksidan sistemin etkinleştirilmesi, kök/sürgün oranının artması ve stomaların kapatılması kuraklığa karşı gösterilen diğer tolerans stratejileridir (Salehi-Lisar ve Bakhshayeshan-Agdam, 2016).

Bitkilerin kuraklık gibi çevresel streslere maruz kalması, süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), alkoksi radikalleri (RO) ve tekli oksijen de dahil olmak üzere reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumuna yol açar (de Carvalho 2008). Oksidatif stres ikincil bir stres olarak bilinir ve hücrelerde oksidatif hasara neden olur. Reaktif oksijen türleri, proteinler, lipitler ve diğer önemli makromoleküller ile reaksiyona girebilir ve makromoleküllerin yapı ve fonksiyonlarını bozabilir. Kloroplastlar, mitokondri ve peroksizomlar gibi birçok hücre organeli kuraklık stresi altında normalinden daha fazla ROS üretir. Biyolojik sistemlerde ROS, hücrelerde oksijen konsantrasyonu gibi bazı faktörlere bağlı enzimatik olan ve enzimatik olmayan süreçler ile üretilir. Genel olarak ROS birikimi, DNA hasarına, amino asitlerin, proteinlerin ve fotosentetik pigmentlerin oksidasyonuna ve lipit peroksidasyonu gibi yıkım süreçlerine neden olur. Bitkiler ROS hasarını önlemek için bazı mekanizmalar geliştirmiştir. Tüm bu mekanizmalar hem enzimatik hem de enzimatik olmayan bileşenleri içeren bir antioksidan savunma sistemi oluşturur. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimatik bileşenler bitkilerin antioksidan savunma sisteminin önemli enzimleridir. Glutatyon, askorbik asit, karotenoidler ve α -tokoferol gibi bileşenler ise bitkilerin enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminde yer alan bazı bileşiklerdir (Salehi-Lisar ve Bakhshayeshan-Agdam, 2016).

1.2.2 Kuraklık Stresinin Ormanlar Üzerine Etkisi

Kurak alanlar günümüzde dünyada toplam karasal alanın yaklaşık %46,2'sini kapsamaktadır. Artan kuraklık bazı bölgelerde biyolojik çeşitliliğin azalmasına neden olmuştur. Kuraklık, istilacı türlerin yayılmasına neden olarak orman ekosistemini olumsuz etkilemiştir (IPPC, 2019). Uzaktan algılama yöntemleriyle elde edilen verilere göre de küresel arazi alanının yaklaşık %26'sında 1980 ve 2000 yılları arasında biyokütle verimliliğinde bir azalış olduğu belirlenmiştir (Bai ve ark., 2008; Le ve ark., 2016). Kuraklığın orman ağaçlarında kurumaya neden olarak bitki örtüsü sıklığını azaltır. Bu nedenle rüzgâr ve su erozyonunun artmasına neden olur (Prestemon ve ark., 2016). Kuraklığın ormanlar üzerindeki dolaylı etkileri de yıkıcı olabilir. Böcek, patojen salgınları ve orman yangınlarının artması bunlara dahildir (Kliejunas ve ark., 2009; Littell ve ark., 2016).

Biy çeşitliliğin yüksek olduğu bölgelerin %20'si kurak arazilerdedir (White ve Nackoney, 2003). Bu ekosistemlerdeki bitki türleri, iklim değişikliği ve çölleşme tehlikesi altındadır (Millennium Ecosystem Assessment, 2005; Maestre ve ark., 2012). Kuraklığın artması, başta küçük popülasyonlar veya sınırlı habitatlar nedeniyle tehdit altında olan türler olmak üzere bazı bitki türlerinin yok olma riskini artırır (Gitay ve ark., 2002). Kuraklık ve arazi kullanım değişiklikleri, biyolojik çeşitliliğin kaybına neden olmaktadır (Newbold ve ark., 2015).

Toprak organik karbonu, topraktaki organik maddenin karbon bileşenini ifade eder (ÇEM, 2018). Kurak alanlarda, karbonun çoğu biyokütle ve toprak organik karbonu şeklinde toprakta depolanır (D'Amore ve Kane, 2016). Kuraklık, topraktaki tuz miktarını ve toprak erozyonunu arttırarak toprak organik karbonunun ve topraktaki organik maddenin azalmasına yol açar. Bu da atmosferdeki CO₂ seviyesini arttırarak bir döngü yaratabilir. (IPPC, 2019).

Küresel ısınma ile artan kuraklık orman ekosistemlerinin enerji, su ve besin dengesini etkileyebilir. Ormanların devamlı olarak stres altında kalmaları, kabuk böcekleri gibi patojenlerin etkisiyle ikincil bir stres ile karşılaşılmasına yol açabilir (Rebetez ve ark., 2006). Olgun ağaçlar, derin köklere ve önemli miktarda karbonhidrat ve besin maddelerine sahip oldukları için kuraklığa karşı daha dayanıklıdır. Bununla birlikte,

şiddetli veya uzun süreli kuraklık, olgun ağaçları bile böceklerle veya hastalıklara karşı savunmasız hale getirebilir (Hanson ve Weltzin, 2016; Littell ve ark., 2016)

Kuraklık ağaçların toprak üstü biyokütle artımını büyük oranda düşürür ve türlerin doğal yayılış alanlarını daraltabilir (Çepel, 1989; Rebetez ve ark., 2006). Avrupa’da 2000’li yılların başında yaşanan kuraklığın etkisiyle Fransa’nın güney kıyı alanlarındaki çamlarda (*Pinus* sp.) ibrelerin ortalama %65 oranında döküldüğü gözlemlenmiştir (Vennetier ve ark., 2004). Kuraklığın ormanlardaki toplam odun üretiminde %40’lara varan düşüşlere neden olduğunu belirten raporlar mevcuttur (Tüfekçioğlu ve Tüfekçioğlu, 2018).

Kuraklığın ormanlar üzerindeki bir diğer etkisi de ağaçlarda görülen kurumalardır. Kuraklığın etkisiyle ağaçlarda kitlesel ve münferit kurumalar görülmüştür. Uzun ve şiddetli geçen kuraklıklara maruz kalan ağaçlar kurumaya başlamaktadır (Tüfekçioğlu ve Tüfekçioğlu, 2018). Guarin ve Taylor (2005), 3 yıldan uzun süren kuraklığın ağaçlarda kurumalarla neden olduğunu belirtmiştir. Ülkemizde 1990’dan sonra görülen kurak periyotlarda bazı bölgelerde ağaçlarda kurumalar meydana gelmiştir. Karadeniz’de sarıçam ve ladin, Ege’de kızılçam, İç Anadolu’da ise göknar, karaçam ve sarıçam türlerinde kurumalar gözlenmiştir (Altun ve ark., 2002; Semerci ve ark., 2004). İç Anadolu Bölgesindeki kurumaların %37’sinin kuraklık nedeniyle meydana geldiği belirtilmektedir (Semerci ve ark., 2004).

Kuraklık ve orman yangınları arasındaki ilişkiye bakıldığında yangın sayısı ve yanmış ormanların kuraklıkla beraber arttığı gösteren açık kanıtlar mevcuttur. Bu kanıtlar kuraklığın, yangınların başlaması ve yayılması aşamasında büyük bir rolünün olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, kuraklık yangın rejimlerini etkileyen faktörlerden sadece bir tanesidir ve tek başına yangın dinamiklerini ve etkilerini tahmin edebilmek için yetersizdir. Orman yangını sayısı veya yanmış ormanlar ile kuraklık alanı arasındaki ilişkiler iyi bilinirken, kuraklık ve yangın şiddeti arasındaki ilişki karmaşık olabilir (Littell ve ark., 2016).

Akarsu ve yeraltı sularının azalması doğrudan kuraklık ile beraber yağışın azalmasıyla da ilgilidir. Bitki örtüsünün su isteğine ve kuraklığın orman popülasyonu dinamiklerini nasıl etkilediğine bağlı olarak orman vejetasyonu kuraklığa karşı verilen yanıtı

değiştirebilir. Kuraklık su kalitesini etkileyebilir. Akarsulardaki su akışını azaltarak sediment birikmesine neden olması kuraklığın etkisidir (Vose ve ark, 2016).

Türkiye'nin kuraklık, arazi bozulumu ve çölleşmeye karşı oldukça savunmasız olduğu düşünülmektedir (Türkeş 1999). Ülkemiz karasal alanının yaklaşık %60'ı çölleşmeye elverişli hidroklimatolojik koşullar ile karakterizedir (Türkeş, 2013). ÇEMGM (2017), Türkiye karasal alanının yaklaşık yarısının (%48,6) orta ila yüksek çölleşmeye eğilimli olduğunu belirtmiştir. Türkiye'nin hemen hemen tüm bölgelerinde, önümüzdeki 30 yıllık dönem için yağışta güçlü bir düşüş beklenilmektedir (Türkeş ve ark., 2019). Yağış rejiminde öngörülen değişikliklerin gerçekleşmesi durumunda şiddetli yağış ve şiddetli kuraklıklar, ülkemizin toprak erozyonuna karşı duyarlılığını artırabilir (IPPC, 2019).

Türkiye'nin kurak ve yarı kurak bölgelerinde, ağaçlandırmanın amaçları; toprak koruma, erozyon kontrolü, su rejiminin düzenlenmesi ve yaban hayatının iyileştirilmesidir. Bununla birlikte, ağaçlandırma amacının odun üretimi olduğu derin topraklara ve 400-600 mm yağışa sahip belirli alanlar da vardır. Ekolojik ve biyolojik koşullara bağlı olarak kurak alanların ağaçlandırılması için dikim veya ekim yöntemi kullanılabilir (Çalışkan ve Boydak, 2017).

Ağaçlandırma çalışmalarında yerli türlerin kullanılması, ağaçlandırmanın başarısını önemli ölçüde artırır. Bununla birlikte, ağaçlandırılacak alan yakınlarında bir orman meşçeresi mevcut değilse benzer iklim ve toprak koşullarına sahip ormanlardan elde edilecek tohum kaynakları, orijin denemeleri yapılarak kullanılabilir. Özellikle, yerli türlerden alınacak tohumların uygun bölgelerden (benzer yatay ve dikey yayılışa sahip) toplanması ağaçlandırmanın başarısını önemli ölçüde artırır (Boydak ve Çalıkoğlu, 2008).

1.3 Karaçam

Karaçam, Pinacea familyasından *Pinus* L. cinsine, *Pinus nigra* Arnold türüne ait önemli orman ağaçlarındandır (Stevens ve Enquist, 1998). Karaçam 5° batı meridyeninden (İspanya, Fas) Türkiye'nin 40° doğu meridyenine kadar yayılır. Güneyde 35° kuzey paralelinden (Fas, Kıbrıs) başlar ve 48° kuzey paraleline

(Avusturya) kadar yayılış gösterir (Isajev ve ark. 2008). Dünyada 6 alt türü olan karaçamın en geniş yayılış alanı Türkiye’dedir. Karaçamın yayılış haritası şekilde (Şekil 2) verildi. (EUFORGEN, 2009).

Ülkemizde Anadolu karaçamı [*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe] türü bulunur ve 5 varyetesi yayılış gösterir (Genç, 2004; Dağdaş, 2016). Türkiye ormanlarının %19’unu oluşturan karaçam ormanları ülkemizde genel olarak Doğuda Tokat ile Kahramanmaraş arasında çekilen bir hattın batısında kalan Trakya, Karadeniz, Ege, Marmara, İç ve Doğu Anadolu bölgelerinde bulunur. Karaçam ülkemizde 400-2100 m yükseltilerde yer alır. Genelde 700-1400 m arasında saf, 1400-1700 m arasında sarıçam, göknar ve ardıçlar ile, yüksek kesimlerde ise sedir ve göknar ile karışık ormanlar oluşturur. Kuzeyde dağların güney yamaçlarında, Toroslar’da Kuzey yamaçlarda ve dar vadilerde, Batıda ise doğuya bakan yüksek yerlerde yayılış göstermekte olup Anadolu bozkırlarına en çok sokulan türdür (Saatçioğlu, 1976; Alptekin, 1986; OGM, 2015).



Şekil 2. Karaçamın Türkiye ve Avrupa’daki yayılış alanları

Karaçam genellikle 30 m boya ulaşan, herdem yeşil ve kozalaklı bir ağaç türüdür. Kabuğu koyu grimsi kahverengiden siyaha dönen bir renkte ve derin girintilidir. Genç bireylerde taç koniktir, yaşlı bireylerde ise şemsiye şeklinde olur. Ortalama 3-4 yıl dökülmeyen ibreler (8 yıla kadar uzayabilir) ibreler 8-15 cm uzunluğunda, 1-2 mm çapında, düz ve kavisli, ince tırtıklıdır. Karaçam tek evcikli bir bitkidir. Erkek çiçek salkımları sarı, dişi çiçek salkımları ise kırmızımsıdır. Kozalakları sapsız, 4-8 cm

uzunluğunda, 2-4 cm genişliğinde ve sarı-kahverengi renktedir. Kozalaklar ikinci yılın sonbaharında olgunlaşırlar ve üçüncü yılda açılırlar. Bir kozalak 30-40 tohum içerir. Tohumlar 5-7 mm uzunluğunda, tohum kanatları ise 19-26 mm uzunlukta ve gri renktedir. Yaşam süresi 400 yıldan fazla olan karaçamın Almanya'daki bir örneğinin yaklaşık 1000 yaşında ve 7,3 m çapında olduğu raporlanmıştır. (Enescu ve ark., 2016)

Karaçam aşırı kuru ve nemli ortamlarda yaşayabilen, sıcaklık dalgalanmalarına toleransı olan bir bitkidir. Işık ağacı olan karaçam, gölgeye sarıçamdan daha fazla tolerans gösterir (Enescu ve ark., 2016). Karaçam çeşitli toprak ve anakayalar üzerinde gelişim gösterebilir (Saatçioğlu, 1976; Çalışkan ve ark., 2014)

Karaçam odunu geçmişte deniz inşaatı için yaygın olarak kullanılmıştır. Ekolojik esnekliğinin bir sonucu olarak, dünyada ağaçlandırma çalışmalarında en çok kullanılan ağaç türlerinden biridir ve gelecekteki iklim senaryoları altında Orta Avrupa'daki yerli iğne yapraklı türlerin potansiyel bir alternatifi olarak kabul edilmektedir. Köklerinin derinleri inmesi sayesinde toprak mukavemetinin artırılması için kullanılabilir. Bazı bozuk ormanlarda kullanılması sonucu karaçamın toprak erozyonunu, heyelanları kontrol etmek ve arazi rehabilitasyonu için etkili olduğu kanıtlanmıştır. Tuza dayanıklı alt türleri kıyı kumullarını stabilize etmek için kullanılmıştır. Ahşabı dayanıklıdır, reçine bakımından zengindir ve işlenmesi kolaydır. İç mekân döşemeleri için son derece uygundur. Sadece genel inşaat (kapılar, paneller, merdivenler, vb.) ve mobilyalar için değil, aynı zamanda yakacak odun ve kâğıt hamuru olarak da kullanılır. Karaçam, kirliliğe dayanıklılığı ve görsel formu sayesinde parklarda, kentsel ve endüstriyel alanlarda da yaygın şekilde kullanılmaktadır (Kuter ve Erdoğan, 2010; Enescu ve ark., 2016). Terkedilmiş maden bölgelerinin rehabilitasyonu süreçlerinde de kullanıldığı için oldukça değerli ve kullanışlı bir ağaç türüdür (Cindik ve Acar, 2010).

Orman varlığımızı korumak ve sürdürülebilir bir şekilde faydalanmak için ormanları oluşturan ağaç türlerinin fizyolojik özelliklerinin ve ekolojik toleranslarının detaylı bir şekilde bilinmesi gerekmektedir. Bu sayede orman varlığını artırma çalışmalarına hem düşük maliyetli hem de daha etkin katkılar yapılabilir. Karaçam, sahip olduğu düşük ekolojik istekleri sayesinde ülkemizde orman varlığını artırma çabalarında sıkça kullanılmaktadır (Saatçioğlu, 1979; Güner ve ark., 2011).

1.3.1 Karaçam Kuraklık İlişkisi

Şiddetli kuraklığa maruz kalan karaçam ormanlarının gelişimleri olumsuz yönde etkilenir (Amodei ve ark., 2012; Sánchez-Salguero ve ark., 2013; Guada ve ark., 2016; Herguido ve ark., 2016). İspanya Batı Akdeniz karaçam ormanlarında artan kuraklıkla birlikte radyal büyümede bir düşüş raporlanmıştır (Martin-Benito ve ark., 2011). Marqués ve ark. (2016), farklı yükseltilerde karaçamın kuraklıkla ilişkisini araştırmış ve alçak kesimlerde yetişen karaçamın kuraklığa karşı daha yüksek bir tolerans gösterdiğini tespit etmiştir. Móricz ve ark. (2018), Macaristan'ın güneybatısında yetişen karaçam türleri üzerinde uzaktan algılama yöntemlerini kullanarak yaptıkları bir araştırmada, son 30 yılda görülen 3 kurak dönemde (1992-1993, 2000-2003 ve 2011-2012) karaçamın kuraklığa toleransının gittikçe azaldığını tespit ederek bazı makalelerde geçen karaçamın Alpin ve Akdeniz bölgesinde olası bir alternatif tür olabileceği önerisinin yeniden gözden geçirilmesi gerektiğini savunmuştur. Sangüesa-Barreda ve ark. (2019), Fransa'dan Türkiye'ye kadar uzanan 77 adet karaçam ormanında yaptıkları çalışmada, iklim değişikliği nedeniyle artan kuraklığın etkisiyle doğu ve batıdaki karaçam ormanlarının senkronize şekilde gelişimlerinin 1970'lerden bozulduğunu tespit etmişlerdir. Lapa ve ark. (2017), kuraklık stresinin karaçamda tipik bir kuraklıktan kaçınma stratejisi ile stomaların kapanmasına yol açarak fotosentezi azalttığını tespit etmiştir.

Anadolu karaçamının kuraklıktan olumsuz etkilendiğine dair bazı raporlar mevcuttur. Kalıpsız (1963), karaçamın yayılış alanında yıllık yağışın 600-1600 mm olduğunu, 1000 mm olarak normal kabul edilen değerden uzaklaştıkça toprağın su ve sıcaklık durumunun önemli olduğunu belirtmiştir. Özdemir (1980), yarı nemli olan bir bölgede (Eskişehir) yapılan ağaçlandırmalarda yaklaşık %90 başarı yakalanmışken kurak bir bölgede (Konya-Ereğli) yapılan ağaçlandırmalarda ise yaklaşık %12 tutma başarısı yakalandığını raporlamıştır. Karaçamın gelişiminde nem koşulları önemli rol oynamaktadır (Eruz, 1984). Şimşek ve ark. (1995), İç Anadolu'daki deneme alanlarında yapılan orijin denemelerinin diğer bölgelere göre daha düşük tutma oranına sahip olduğunu belirtmiştir. Karabulut (2001), Eskişehir'de karaçam ağaçlandırma sahalarını incelemiş ve yıllık ortalama sıcaklığın arttıkça yıllık halka genişliğinin azaldığını raporlamıştır. Tilki (2002), benzer bir tür olan sarıçam üzerinde yaptığı çalışmada kuraklık stresinin (-6 bar) çimlenme oranını %55 oranında

azalttığını raporlamıştır. İç Anadolu bölgesinde karaçam ağaçlandırma sahalarında görülen kurumaların, bölgede birkaç yıl süren kuraklık nedeniyle olduğu belirtilmiştir (Çelik ve ark., 2002). Güner ve ark. (2016), karaçam ağaçlandırma alanlarının verimlilikleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, meşçere üst boyu ile yıllık yağış ve en kurak ayın yağış miktarı arasında pozitif yönde bir ilişki belirleyip yıllık yağışı 400 mm'den fazla olan ve ağustos-eylül aylarındaki yağış miktarı en az 10 mm olan alanlarda karaçamın daha iyi gelişim gösterdiğini belirtmişlerdir. Janssen ve ark. (2018), Göller Yöresinden 61 karaçam deneme alanı belirleyip artım kalemleri almış ve 1970'lere kadar artan büyüme eğiliminin 1970'lerden sonra yaz aylarında artan sıcaklık ve kuraklık nedeniyle azalma eğilimi gösterdiğini belirlemişlerdir. Doğan ve Köse (2019), Türkiye'nin güneybatı dağlık bölgelerinde (Sandras Dağı, Muğla) farklı yükseltilerde yaptıkları çalışmada yaz sıcaklıklarının artmasıyla şiddetlenen kuraklığın karaçamda radyal büyümeyi olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir.

Türkiye'de Ormancılık Araştırma Enstitülerinin araştırmaları sonucunda kurak ve yarı kurak bölgelerini kapsayan üç bölgede kullanılabilecek ağaç türleri belirlenmiştir. Güneydoğu Anadolu'nun kuzeyi ve Doğu Anadolu'nun güneyi bölgelerinde kullanılması önerilen türler arasında Anadolu karaçamı (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) türü bulunmaktadır. (Çalışkan ve Boydak, 2017).

1.4 Prolin

Çok fonksiyonlu amino asit olarak prolin, stres koşulları altında proteinlerin, hücre zarının ve hücre altı yapıların stabilizasyonu ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizlenmesiyle hücresel fonksiyonların korunması gibi çeşitli rollere sahip olduğu kabul edilmektedir (Taiz ve Zeiger, 2010). Prolin, ozmotik düzenleme yeteneği sayesinde hücre stoplazmasındaki ozmotik potansiyelin koordinasyonundan sorumlu birincil derecede önemli bir bileşiktir. Prolin birikiminin, stres toleransında önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (Shakeri ve ark., 2019). Kloroplastlarda şartlar olumsuz hale geldiğinde elektron taşıma zinciri doymuş hale gelir ve aşırı indirgeme potansiyeli birikir. Bu durum fotosentetik mekanizmanın zarar görmesine neden olur. Prolin sentezi ve birikimindeki artış kloroplastlarda oluşan bu aşırı indirgeme potansiyelini dağıtarak redoks dengesinin stabilizasyonuna ve hücresel homeostazın korunmasına katkıda bulunabilir (Kaur ve Asthir, 2015). Ayrıca prolin, ozmotik koruyucu rollerine

ek olarak strese yanıt veren genleri düzenleyen sinyal iletim yollarının bir bileşeni olarak da hareket edebilir (Mattioli ve ark., 2008; Mattioli ve ark., 2009).

Prolin ayrıca stres koşullarında hücrel genişleme için gerekli turgor sağlayan hücrel ozmolariteyi (turgor basıncı) artırır (Júnior ve ark., 2018). Toleransı yüksek bitkilerin abiyotik stres etkenlerine maruz kalmaları durumunda içsel prolin seviyelerinde önemli artışlar gözlemlendiği bilinmektedir (Ashraf ve Foolad, 2007). Stres koşulları altında bitkilerde prolin birikimi seviyesi türden türe değişir ve kontrol bitkilerinden 100 kat daha fazla olabilir (Hunt ve ark., 2017). Birçok bitki türünde stres altında prolin birikimi, stres toleransı ile ilişkilendirilmiştir ve konsantrasyonunun strese toleranslı bitkilerde strese karşı hassas bitkilerde olduğundan daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Saed-Moucheshi ve ark., 2013). Prolin bir ozmolit olmasının yanı sıra, bir metal şelatlayıcı, antioksidatif savunma molekülü ve stres sırasında sinyal molekülü olarak da önemli bir rol oynar (Demiralay ve ark., 2017).

1.4.1 Prolinin Kuraklık Stresi ve Çimlenme Üzerindeki Etkisi

Belirli stres şartlarında, dışardan prolin uygulamasının çimlenme oranını arttırdığına dair bazı raporlar mevcuttur. Posmyk ve Janas (2007), soğuk stresine maruz kalan tohumlardaki prolin içeriğiyle çimlenme arasında pozitif bir korelasyon olduğunu belirlemiştir. Soğuk stresi uygulanan *Vigna radiata* tohumlarında düşen çimlenme oranı, prolin uygulaması yapıldığında ise doza bağlı olarak artmıştır (Posmyk ve Janas, 2007). Bar-Nun ve Poljakoff-Mayber (1977), bezelye tohumlarında yaptıkları çalışmada tuz stresine karşı uygulanan prolinin çimlenmeyi önemli derecede arttırdığını belirtmişlerdir. Hare ve ark. (2003), *Arabidopsis thaliana* bitkisinde tohum çimlenmesinin dışardan uygulanan prolin ile arttığını gözlemlemiştir. Hua-long ve ark. (2014), tuzluluk stresine maruz bırakılmış pirinç tohumlarında gerçekleştirilen prolin solüsyonunda bekletme uygulamasının çimlenme oranı ve çimlenme enerjisini arttırdığını göstermişlerdir. Singh ve ark. (2018), pirinç tohumlarına prolin uygulamasının tuz stresi altında çimlenmeyi ve tohum canlılık indeksini arttırdığını saptamışlardır. Mevcut bilgiler ışığında, prolin sentezinin çimlenmeyi desteklemede önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Ayrıca, tohumların prolin solüsyonlarında bekletilme işleminin, stresin çimlenmeyi indirgeyici etkisini hafifletebileceği kanısını güçlendirmektedir. Bununla beraber dışardan prolin uygulamasının tohumlarda iç

ozmotik potansiyeli düzenleyerek stres koşulları altında gerekli suyun alınmasına olanak verdiği düşünülebilir (Shakeri ve ark., 2019).

Dışarıdan uygulandığında prolinin abiyotik stres etkenlerine karşı koruyucu ve tolerans etkiler gösterdiğini bildiren birçok araştırma mevcuttur (Ahmed ve ark. 2010; Moustakas ve ark., 2011; Ali ve ark., 2013, Shahbaz ve ark., 2013; Molla ve ark., 2014; Demiralay ve ark., 2017).

Bitkiler, ozmotik stresle mücadele etmek için prolin gibi organik ozmolitlerin sentezinden ve birikmesinden yararlanabilir (Yoshida ve ark., 1997; Hare ve Cress, 1997). Kuraklık stresine karşı bitkide prolin birikiminin arttığı bilinmektedir (Choudhary ve ark., 2005; Hunt ve ark., 2017). Prolin birikiminin kurak koşullarda lipid peroksidasyonunu azaltarak hücre zarını koruduğu rapor edilmiştir (Molinari ve ark., 2007). Moustakas ve ark., (2011), kuraklık stresi altındaki *A. thaliana* bitkilerinde, prolin uygulanmayan bitkilere kıyasla %29 oranında MDA düşüşü belirlemişlerdir. Kuraklığa dayanıklı buğday ve pirinç çeşitlerinde kuraklığa duyarlı olanlardan daha fazla prolin birikimi bulunmuştur (Saed-Moucheshi ve ark., 2013; Hunt ve ark., 2017). Prolinin kuraklık koşullarına maruz kalan bitkilerde bir ozmoprotektan olarak hareket ettiğine inanılmaktadır (Hayat ve ark., 2012). Ekim öncesi prolin solüsyonunda bekletme işlemine tabi tutulmuş *Triticum aestivum* L. tohumlarında kuraklık stresinin yol açtığı olumsuz etkilerinin hafifleyerek büyüme ve verimde artış sağlanmıştır (Kamran ve ark., 2009). Ali ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada su eksikliği koşullarında büyüme dönemindeki mısır fidelerinde dışardan sprey yöntemiyle uygulanan prolinin bitki büyümesini arttırdığını rapor etmişlerdir. Dışardan uygulanan prolin bazı iyonların bitkiye alınmasını teşvik eder. Örnek vermek gerekirse; Ali ve ark. (2008), kuraklık şartları altındaki mısır bitkilerine dışardan prolin uygulamasının K^+ , Ca^{2+} , P ve N gibi mikro besinlerin alımını teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Son yıllarda yapılan çalışma ve tartışmaların odak noktası, bitkilerin çevresel streslere karşı fizyolojik yanıtlarının ve özellikle küresel ısınma karşısında öngörülen su kıtlığı ve buna bağlı ozmotik stresin iyileştirilmesi olmuştur (Moustakas ve ark., 2011). Bununla birlikte literatür bilgisi, bu amaçla yapılan çoğu çalışmanın model ya da tarım bitkileri üzerinde gerçekleştirildiğini göstermektedir. Yaptığımız literatür

araştırmada, prolin uygulamasının karaçam tohum çimlenmesi üzerinde denenmediği ve kurak koşullarda davranışının araştırılmadığı görülmüştür. Ek olarak karaçam, lkemiz orman varlığı için oldukça önemli bir ağaç türüdür ve kurak koşullarda çimlenme kabiliyetinin arttırılabilmesi önemli bir ekonomik çıktıdır. Mevcut alışma ile dışarıdan prolin uygulamasının kuraklığa maruz kalmış karaçam tohumlarında iyileştirici etkilerini araştırması yönüyle literatüre katkı yapmayı amaçlamaktadır.



2 MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Deney Materyalinin Elde Edilmesi ve Deneyin Tasarımı

2.1.1 Çalışmada Kullanılacak Orijinin Belirlenmesi

Çalışmada 3 farklı orijinden elde edilen tohumlar kullanıldı. Adana Orman Bölge Müdürlüğü Osmaniye Fidanlığından TM 65 (Adana-Akören Şefliği, 2017 üretim yılı) orijinli tohumlar, Amasya Orman Bölge Müdürlüğü Amasya Fidanlığından TM 137 (Çorum-Kargı Şefliği, 2016 üretim yılı) orijinli tohumlar, Isparta Orman Bölge Müdürlüğü TB 50 (Sütçüler-Tota Şefliği, 2016 üretim yılı) orijinli tohumlar, Orman Genel Müdürlüğü, Fidanlık ve Tohum İşleri Dairesi Başkanlığından Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dekanlığı aracılığıyla tahsis edildi. Tohumların orijinleri hakkında genel bilgiler tabloda verildi (Tablo 1).

Tablo 1. Tahsis edilen tohumlara ait bilgiler

Gen kaynağının Orijini	Yüksekliği	Bakısı	Toplama yılı
Adana/Aladağlar Milli Parkı (TM-65)	1350	Kuzey	2017
Amasya/Kargı Orman İşletme Şefliği (TM-137)	1600	Batı	2016
Isparta/Eğirdir/Sütçüler-Tota Şefliği (TB-50)	650	Kuzey	2016

Çalışmada kullanılacak orijinin seçilmesi için, her üç orijinde de çimlenme deneyleri gerçekleştirildi. Buna göre hangi orijinin daha yüksek çimlenme oranı gösterdiği test edildi ve en yüksek çimlenme oranı sergileyen orijin çalışmanın deney materyali olarak seçildi.

2.1.2 Tohumlara Uygulanacak Kuraklık Şiddetinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılacak orijin belirlendikten sonra, çimlenmeyi ve gelişimi önemli derecede indirgeyen kuraklık seviyesinin belirlenmesi işlemine geçildi. Mevcut çalışmada tohum çimlenme ortamında kuraklık stresinin etkilerini simüle etmek için PEG 6000 kullanıldı. Bunun için tohumlar 24 saat suda bekletildikten sonra kontrol (%0), %5, %10, %15, %20 ve %30 PEG 6000 (polietilen glikol 6000) içeren petrilere ekildi. Petri kaplarında bulunan filtre kağıtları (Ağırlık:82 GSM, Kalınlık: 0,18 mm)

kontaminasyonu engellemek için ve PEG şiddetini sabit tutabilmek belirli için aralıklarla değiştirildi. Çimlenme sürelerinin sonunda tohumlarda çimlenmeyi önemli derecede etkileyen kuraklık şiddetine karar verildi.

2.1.3 Prolin Etkisinin Belirlenmesi

Çimlenmeyi önemli derecede engelleyen kuraklık şiddeti seçildikten sonra, son olarak kurak koşullarda çimlenmeyi teşvik eden ve kuraklık stresinin olumsuz etkilerini azaltan prolin konsantrasyonunun belirlenmesi aşamasına geçildi. Bunun için seçilen orijin ve karar verilen kuraklık şiddeti koşullarında farklı konsantrasyonlarda prolin uygulaması gerçekleştirildi. Tohumlar önce 24 saat suda bekletildi. Sonrasında içerisinde kontrol (sadece su), 0,1 mM, 0,5 mM, 1 mM, 5 mM ve 10 mM prolin solüsyonları bulunan petri kaplarına ekildi. Bir hafta boyunca kuraklık uygulaması yapılmadan sadece prolin uygulaması gerçekleştirildi. Tohumlara 7'inci günün sonundan itibaren prolin ile kuraklık uygulaması birlikte yapıldı. Tohumların çimlenme şartları 21 °C ve %65 nem olarak belirlendi. Çimlenmeler 28 gün süre ile takip edildi ve belirli aralıklarla çimlenme sayıları kaydedildi. Çimlenme süresinin sonunda hasat edilen bitkilerde kök boyları ölçüldü ve kaydedildi. Çalışmada deneyin tasarımına ait özet durum, tabloda verildi (Tablo 2).

Tablo 2. Deneyin tasarımını gösteren özet şablon

	Deney Grupları					
	İlk 7 Gün					
	Kontrol (Sadece su)	0,1 mM Prolin	0,5 mM Prolin	1 mM Prolin	5 mM Prolin	10 mM Prolin
Petri 1 (50 tohum)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Petri 2 (50 tohum)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Petri 3 (50 tohum)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	7'inci günden itibaren					
	Kontrol (PEG)	0,1 mM Pro+PEG	0,5 mM Pro+PEG	1 mM Pro +PEG	5 mM Pro+PEG	10 mM Pro+PEG
Petri 1 (50 tohum)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Petri 2 (50 tohum)	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Petri 3 (50 tohum)	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Çalışmanın tüm aşamaları 3 tekrarlı olmak üzere 50'şer tohum kullanılarak gerçekleştirildi. Ayrıca her deney seti de en az 3 kez tekrarlandı. Tohumlar 15 mm

apındaki petri kaplarında nemlendirilmiş filtre kağıtlarına ekildi. imlendirme periyodu sonunda (28. gün) sonunda hasat edilen örnekler sonraki analizler için sıvı azotta dondurulup -20  C’de saklandı.

2.2 Çimlenme Hızı, imlenme Oranı ve Kök Gelişimi

Tohumlar imlenme ortamına ekildikten sonra 4, 7, 10, 14’nc günlerde ve sonrasında haftada bir defa olmak üzere çimlenme sayıları ölçüldü. İlk 7 günde imlenen tohum sayısı belirlenerek çimlenme hızı bulundu. Toplam imlenme süresi 28 gün olarak belirlendi. Çimlenme süresi sonunda imlenen tohumların toplam sayısı belirlenerek çimlenme oranı hesaplandı. Ayrıca imlenen tohumlarda kök boyları belirlendi. Kök boyları ölçülürken ISTA standartlarına göre radikul uzunluğunun 2 mm’nin üzerinde olmasına dikkat edildi (ISTA, 2009).

2.3 Taze Ağırlık ve Nisbi Su İçeriğinin (RWC) Belirlenmesi

Taze ağırlığın belirlenebilmesi için her petride ayrı ayrı olmak üzere imlenen tohumların toplam ağırlıkları ölçüldü.

Çalışmada prolin uygulamasının bitki su durumuna üzerindeki etkilerini gözlemlemek için nisbi su ieriğ-i ölçüldü. Bu amaçla yaş ağırlıklarının belirlenmesi için imlenen tohumların hipokotil kısımlarından 0,1 gr örnek alındı ve 16 saat saf suda 4  C’de bekletildikten sonra turgit ağırlıkları tartıldı. Turgit rnekler 72 saat 65  C’de bekletilerek tüm su içerikleri uzaklaştırıldı ve kuru ağırlık miktarları tartıldı. Elde edilen veriler Smart ve Bingham (1974) denklemi (formül 1) kullanılarak deney gruplarında imlenen tohumların nisbi su içerikleri belirlenmiş oldu. Denklem formülü aşağıda verildi. YA: Yaş ağırlığı, KA: Kuru ağırlığı, TA: Turgit Ağırlığı ifade etmektedir.

$$\text{Nisbi Su İeriğ-i (RWC \%)} = [(YA-KA)/(TA-KA)] \times 100 \quad (1)$$

2.4 Stres Parametrelerinin Belirlenmesi

Mevcut alışmada Prolin uygulamasının kuraklık stresine karşı iyileştirici etkilerini gözlemlemek için yaygın olarak kullanılan bazı temel stres parametreleri analiz edildi.

2.4.1 Lipid Peroksidasyonu

Çimlenme aşamasında prolin uygulamasının kuraklık stersine karşı hücre zarındaki iyileştirici etkilerini belirleyebilmek için lipid peroksidasyonu ölçüldü (Heath ve Packer, 1968). Hipokotillerden alınan 0,1 gr numuneler sıvı azot ile homojenize edildikten sonra üzerlerine 1,8 ml %0,1'lik trikloro asetik asit eklendi. Tekrar homojenize edilen örnekler 4 °C'de 10 dk süreyle 15000 g'de santrifüj edildi. Santrifüj edilen örneklerden 1 ml süpernatant alınarak üzerlerine %0,5'lik tiobarbiturik asit içeren %20 trikloro asetik asit karışımından 4 ml eklendi. Örnekler vortekslendi ve 95 °C sıcaklıkta 30 dk boyunca inkübe edildi. Sonrasında reaksiyonun durdurulması için örnekler buz banyosuna transfer edildi. Soğutulan örneklerin absorbansları spektrofotometrede spesifik 532 nm ve spesifik olmayan 600 nm'de ölçüldü. Delta absorbans (532 nm-600 nm) değerleri, $\Delta = \epsilon \cdot c \cdot l$ formülüne göre hesaplandı ($\Delta = A_{532} - A_{600}$, ϵ : Absorbsiyon katsayısı ($155 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), c: konsantrasyon).

2.4.2 Hidrojen Peroksit İçeriği

Karaçam tohumlarının çimlendirilmesi aşamasında dışardan uygulanan prolinin iyileştirici etkisini incelemek için hidrojen peroksit içerikleri ölçüldü. Çimlenen tohumların hipokotillerinden 0,1 gr örnek alınarak sıvı azot ile homojenize edildi. Daha sonra üzerine %0,1 trikloro asetik asit eklenerek tekrar homojenize edilen numuneler 4 °C'de 10 dk süreyle 15000g'de santrifüj edildi. Santrifüj edilen örneklerden 1 ml süpernatant alındı ve üzerine 1ml potasyum fosfat tamponu (10mM) ve 1,5 ml potasyum iyodür (1mM) eklendi. Bu karışımın absorbansı 390 nm'de spektrofotometrede okunarak “µmolgram-1” biriminde belirlendi (Velikova ve ark., 2000).

2.4.3 Prolin İçeriği

Çalışmada kuraklık stresine karşı dışardan uygulanan prolinin iyileştirici etkilerini belirleyebilmek için prolin içerikleri ölçüldü. Çimlenen örneklerin hipokotillerinden alınan 0,1 gr numuneler sıvı azot ile homojenize edildi. Homojenize olan örneklerin üzerine 1,8 ml %40'lık alkol eklenerek tekrar homojenize edildi. 1 gece 4 °C'de çalkalayıcıda bekletilen homojenat, 4 °C'de 10 dk süreyle 15000g'de santrifüj edildi ve 1 ml süpernatantları alındı. Üzerlerine 2 ml asit ninhidrin çözeltisi eklenerek

vortekslendi ve 95 °C’de 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra oda sıcaklığında soğutmaya bırakılan örnekler tekrar vortekslendi. Son olarak spektrofotometrede absorbansları 520 nm’de okundu. Oluşturulmuş standartlara göre hesaplanan sonuçlar “mgml⁻¹tazeağırlık⁻¹” olarak verildi (Carillo ve Gibon, 2011).

2.4.4 Antioksidan Enzim Aktivitelerin Belirlenmesi

Mevcut çalışmada çimlenen karaçam tohumlarının kuraklık stresine karşı verdikleri yanıtların ve prolinin iyileştici etkilerinin belirlenebilmesi için belirli antioksidan enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Çimlenen örneklerin hipokotillerinden alınan 0,1 gr numuleler sıvı azot ile homojenize edilerek üzerlerine 1,8 ml ekstraksiyon tamponu (100 mM potasyum fosfat, 0,1 mM EDTA pH 7,0 ve %0,1’lik Triton) eklendi (Aebi, 1983). Daha sonra 4 °C’de 10 dk süreyle 15000g’de santrifüj edilen homojenattan alınan süpernatantlar enzim aktivitesi analizlerinde kullanmak için -20 °C’de bekletildi.

2.4.4.1 Toplam Protein Miktarının Belirlenmesi

İlk olarak, çimlenme aşamasında antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenebilmesi için toplam protein miktarları ölçüldü (Bradford, 1976). Önceden hazırlanmış 30 µl örnek ekstraksiyon tamponu, 170 µl distile su ve 1000 µl G250 protein boyası karıştırılarak vortekslendi. Belirlenmiş standartlara göre spektrofotometrede absorbansları okunarak belirlendi. Enzim aktivitelerinin hesaplanmasında sonuçlar “mgml⁻¹” olarak verildi.

2.4.4.2 Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi

Strese karşı prolinin iyileştirici etkilerini belirlemek için süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) aktivitesi ölçüldü (Beauchamp ve Fridovich, 1971). Enzim analizi için ve 50 µl ekstrakt, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,8), 13 mM metiyonin, 0,1 mM EDTA ve 75 µM nitrobluetetrazolyum içeren 1 ml reaksiyon ortamına 2 µM riboflavin eklenerek reaksiyon başlatıldı. Bu karışım 10 dakika süre 375 µmol m⁻²s⁻¹ şiddetinde beyaz ışık altında bekletilmesinin ardından 560 nm’de okutulan absorbans değerleri alındı.

2.4.4.3 Katalaz Aktivitesi

Çalışmada prolin uygulamasının kuraklık koşullarında çimlenen karaçam tohumları üzerindeki etkilerini belirleyebilmek amacıyla katalaz enzim aktivitesi (EC 1.11.1.6) ölçüldü (Aebi, 1983). Analiz için 20 µl örnek ekstratı, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 30 mM H₂O₂ içeren 1 ml'lik reaksiyon ortamı oluşturuldu. Spektrofotometrede absorbans değerlerindeki azalış 240 nm'de 3 dk süreyle izlendi. Katalaz aktivitesi H₂O₂ için $\epsilon=39,4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ tükeniş katsayısı kullanılarak hesaplandı.

2.4.4.4 Guaikol Peroksidaz Aktivitesi

Dışardan uygulanan prolinin kuraklık stresi koşullarında çimlendirilen karaçam tohumlarında yaptığı etkiyi belirleyebilmek için guaikol peroksidaz (EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi ölçüldü. Enzim aktivitesi ölçümü için 50 µl enzim ekstratı, 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,00), 0,1 mM EDTA, 5 mM guaikol ve 15 mM H₂O₂ içeren 1 ml'lik reaksiyon ortamı oluşturularak spektrofotometrede 1 dk süreyle absorbans değerinin azalışı 470 nm dalga boyunda okundu. Guaikol peroksidaz (GPX) aktivitesi $\epsilon=26,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ tükeniş katsayısı kullanılarak belirlendi (Urbanek ve ark., 1991).

2.4.4.5 Askorbat Peroksidaz Aktivitesi

Mevcut çalışmada, kuraklık stresi koşullarında çimlenen karaçam tohumlarına dışardan prolin uygulamasının iyileştirici etkilerini incelemek için askorbat peroksidaz aktivitesi (EC 1.11.1.11) ölçüldü. Bu amaçla 20 µl enzim örneği, 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 0,5 mM askorbat ve 0,1 mM H₂O₂ içeren reaksiyon ortamı oluşturuldu. Spektrofotometrede 290 nm dalga boyunda 2 dakika boyunca absorbanstaki azalış izlendi. Askorbat peroksidaz aktivitesi $\epsilon=2,8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ tükeniş katsayısı kullanılarak hesaplandı ve “µmol ASC min⁻¹ mg⁻¹” olarak verildi. (Nakano ve Asada, 1981).

2.4.4.6 İstatiksel Analizler

Elde edilen veriler “IBM SPSS Statistics Version 25” paket istatistik programı ile analiz edildi. Grup sayısının 3'ten fazla olması nedeniyle Tek Faktörlü Varyans

Analizi (One-Way ANOVA) kullanıldı. Gruplar arasındaki farkı belirleyebilmek için ise varyansların eşit olduğu durumlarda kullanılan post-hoc istatistik türlerinden Duncan testi kullanıldı ($p < 0.05$).



3 BULGULAR

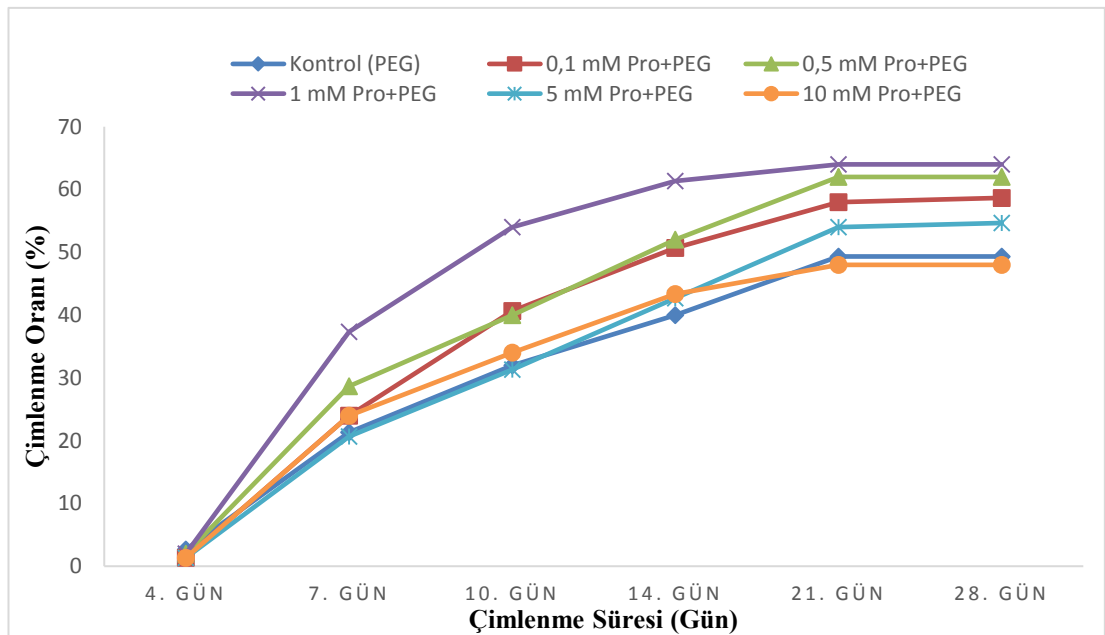
3.1 Orijin Seçimi ve Etkin Kuraklık Şiddetinin Belirlenmesi

Çalışmanın ilk aşaması olan orijin seçimi için çimlendirme deneyleri yapıldı ve belirlenen üç orijin (TM-65, TM-137, TB-50) içinde en yüksek çimlenme oranına sahip olan Adana/Aladağlar Milli Parkı (TM-65) orijinli tohumlar deney materyali olarak seçildi.

Etkin kuraklık şiddetinin belirlenmesi için kontrol (%0), %5, %10, %15, %20 ve %30 PEG içeren gruplarda çimlendirme deneyleri yapıldı. Çimlenmeyi ve gelişimi önemli derecede indirgeyen kuraklık seviyesinin %15 PEG grubunda olduğu görüldü ve bu PEG seviyesi çalışmanın etkin kuraklık şiddeti olarak seçildi.

3.2 Çimlenme Hızı, Çimlenme Oranı ve Kök Gelişimi

Tamamlanan çimlenme süreci sonunda, çimlenme hızı (ilk 7 günlük çimlenme), çimlenme oranı ve kök gelişimleri gözlemlendi. Çimlenme sayıları belirli günlerde ölçülerek çimlenme hızı ve çimlenme oranı tespit edildi (Şekil 3).



Şekil 3. Karaçam tohumlarında güne bağlı olarak ölçülmüş çimlenme sayıları

Yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre gruplar arasında çimlenme hızı ve çimlenme oranı bakımından anlamlı bir fark olduğu ($p<0,001$) tespit edildi. Çimlenme hızının 1 mM prolin uygulanan grupta en yüksek olduğu belirlendi. Çimlenme oranının ise 0,5 mM ve 1 mM prolin verilen gruplarda en yüksek olduğu tespit edildi. Çimlenme hızı ve çimlenme oranına ait analiz sonuçları tabloda verildi (Tablo 3).

Tablo 3. Çimlenme hızı ve çimlenme yüzdelerine ilişkin Duncan testi sonuçları

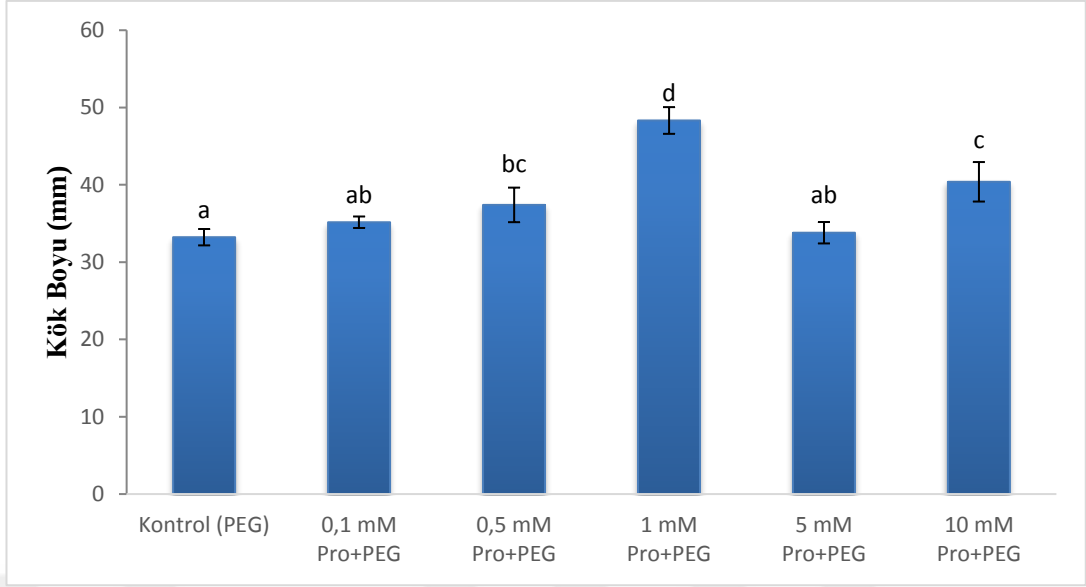
Gruplar	Çimlenme Hızı (%)	Çimlenme Oranı (%)
Kontrol (PEG)	21,33±1,89 a	49,33±2,49 a
0,1 mM Pro+PEG	24,00±1,63 a	58,67±3,40 bc
0,5 mM Pro+PEG	28,67±0,94 b	62,00±1,63 cd
1 mM Pro+PEG	37,33±0,94 c	64,00±1,63 d
5 mM Pro+PEG	20,67±2,49 a	54,67±1,88 b
10 mM Pro+PEG	24,00±1,63 a	48,00±1,63 a

Prolin uygulaması yapılmayan kontrol (sadece PEG) grubu ve dışardan prolin uygulamasıyla beraber %15 PEG uygulaması yapılan 1 mM Pro+PEG gruplarından birer örnek petri, şekilde gösterildi (Şekil 4).



Şekil 4. Kontrol (sadece PEG) grubu ve 1 mM Pro+PEG grubu

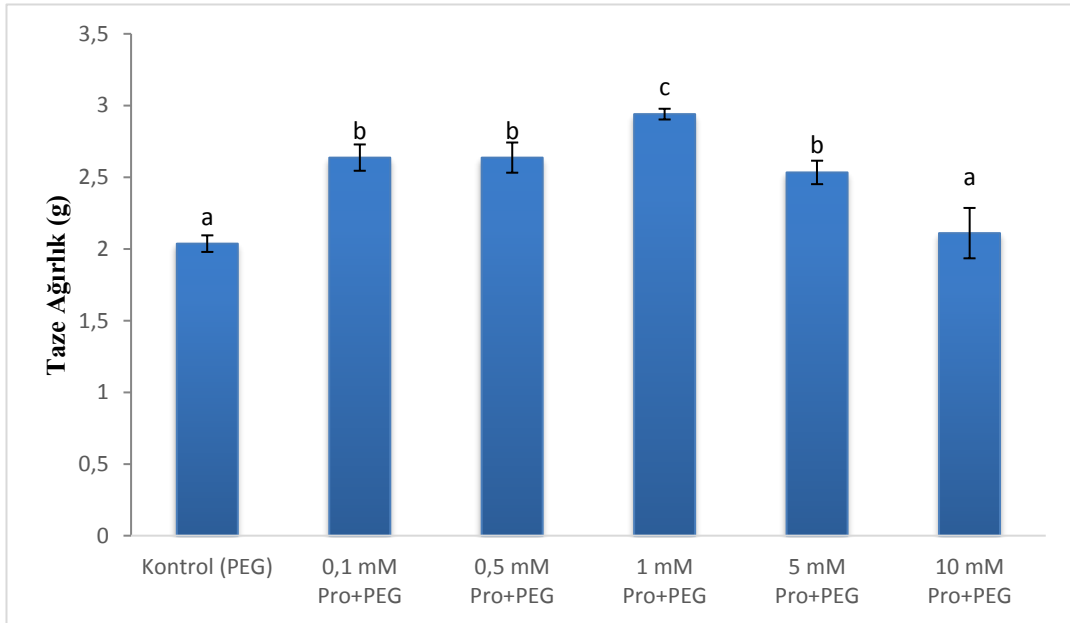
Kök boyu uzunlukları incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu ($p<0,001$) tespit edilerek 1 mM prolin uygulamasında en yüksek kök boyu ortalaması elde edildi (Şekil 5).



Şekil 5. Kök boyu uzunlukları

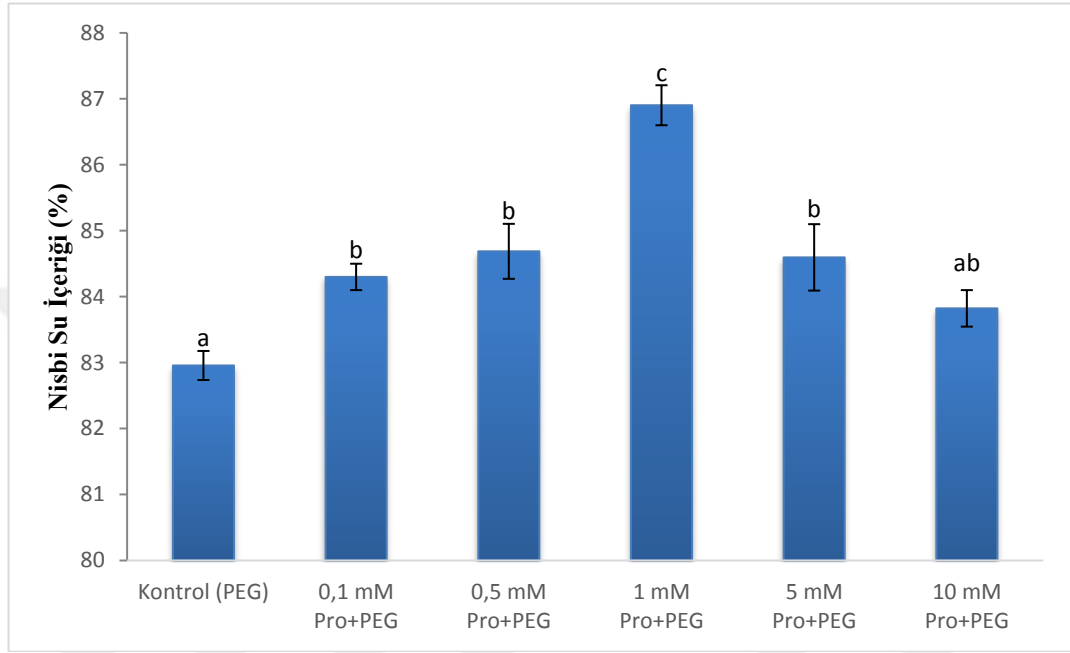
3.3 Taze Ağırlık ve Nisbi Su İçeriği (RWC)

Çalışmada, çimlenen tohumların taze ağırlıkları ölçüldü. Taze ağırlık bakımından gruplar arasında bir fark olduğu ($p < 0,001$) belirlendi. En yüksek taze ağırlık 1 mM prolin grubunda, en düşük taze ağırlık ise kontrol ve 10 mM prolin gruplarında görüldü (Şekil 6).



Şekil 6. Taze ağırlıklar

Kuraklık stresine karşı prolin uygulamasının bitkideki su durumu etkisini belirleyebilmek için nisbi su içeriği ölçüldü (Şekil 7). Gruplar arasında anlamlı bir fark ($p<0,05$) belirlendi. Buna göre 1 mM prolin uygulamasının bitki su durumunu diğer gruplara göre daha iyi düzenlediği tespit edildi.



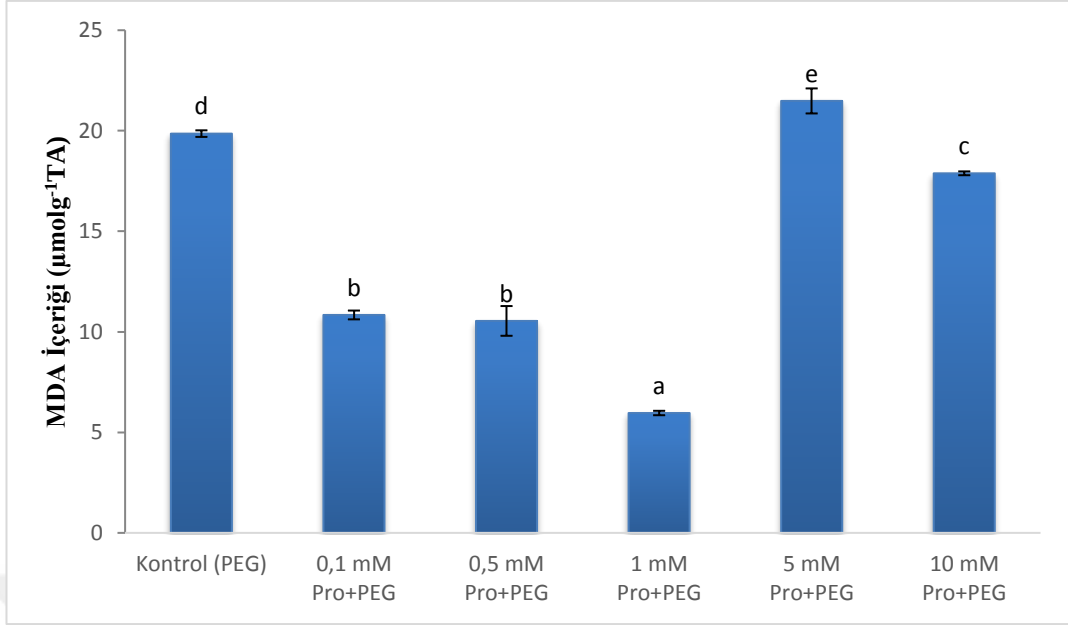
Şekil 7. Nisbi su içeriği

3.4 Stres Parametreleri

Çalışmada, prolin konsantrasyonlarının çimlenme sırasındaki stres durumuna olan etkilerini belirlemek amacıyla bazı yaygın stres parametreleri ölçüldü.

3.4.1 Lipid Peroksidasyonu

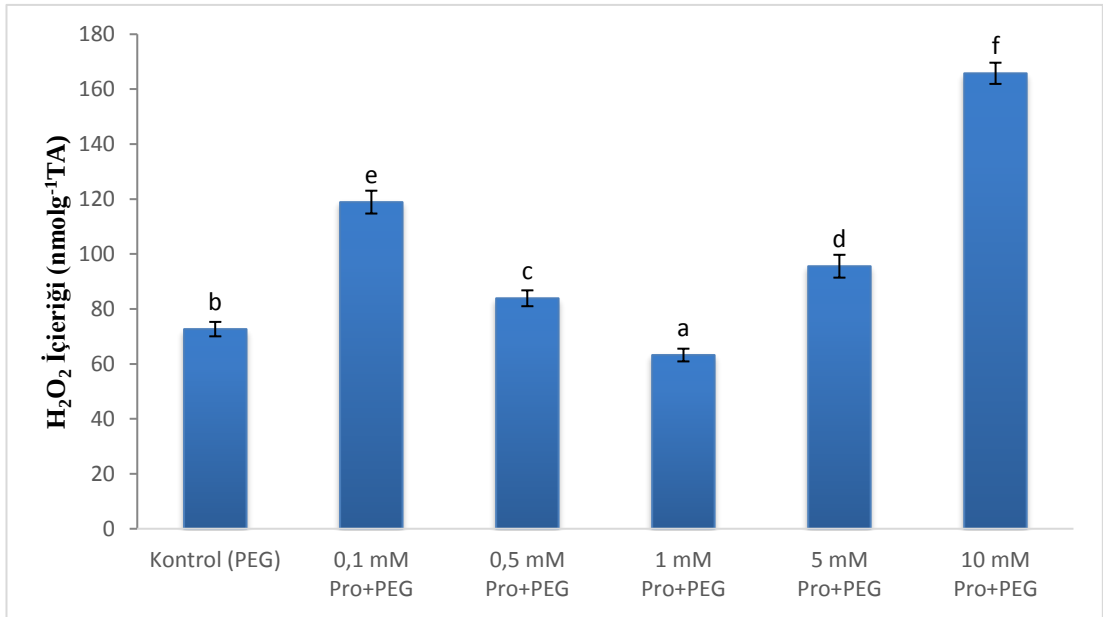
Çalışmada prolin uygulamasının kuraklık stresine karşı etkilerini gözlemleyebilmek için lipid peroksidasyonu seviyesi ölçümü yapıldı. Buna göre gruplar arasında bir fark olduğu ($p<0,001$) belirlenerek 1 mM prolin uygulaması grubunda en düşük lipid peroksidasyonu tespit edildi. Hücre zarındaki en yüksek hasar ise sırasıyla 5 mM, kontrol ve 10 mM prolin gruplarında görüldü (Şekil 8).



Şekil 8. Lipid peroksidasyonu seviyesi (MDA)

3.4.2 Hidrojen Peroksit İçeriği

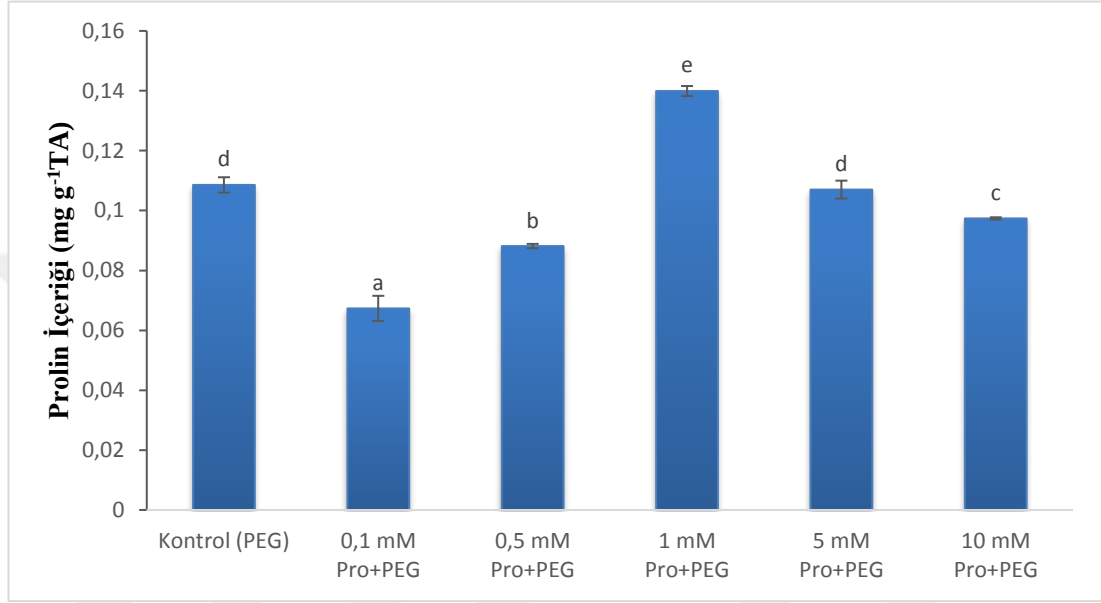
Mevcut çalışmada hidrojen peroksit içerikleri (H_2O_2) ölçüldü. Deney grupları arasında anlamlı bir fark ($p < 0,001$) görüldü. Kuraklık stresi altında çimlenen karaçam tohumlarında en düşük H_2O_2 içeriğinin 1 mM prolin grubunda olduğu gözlemlendi. En yüksek hidrojen peroksit içeriğinin ise 10 mM prolin uygulaması yapılan grupta olduğu belirlendi (Şekil 9).



Şekil 9. Hidrojen peroksit (H_2O_2) İçeriği

3.4.3 Prolin İçeriği

Prolin içerikleri incelendiğinde deney grupları arasında anlamlı bir fark belirlenerek ($p<0,001$) 1 mM prolin grubunda en düşük prolin içeriği tespit edildi. En yüksek prolin içeriği ise 0,1 mM prolin grubunda görüldü. Kontrol, 5 mM ve 10 mM gruplarında istatistiki açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 10).



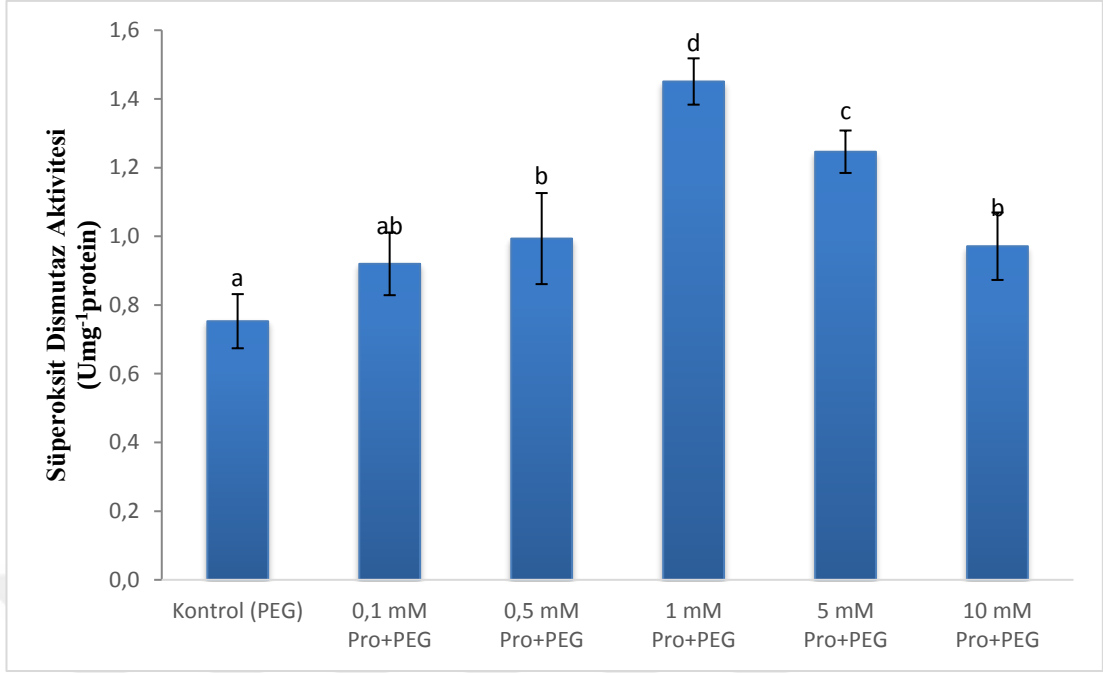
Şekil 10. Prolin içeriği

3.4.4 Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Mevcut çalışmada kuraklık stresi koşullarında çimlenen karaçam tohumlarında prolin uygulamasının etkilerinin belirlenebilmesi için belirli antioksidan enzim aktiviteleri ölçüldü.

3.4.4.1 Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi

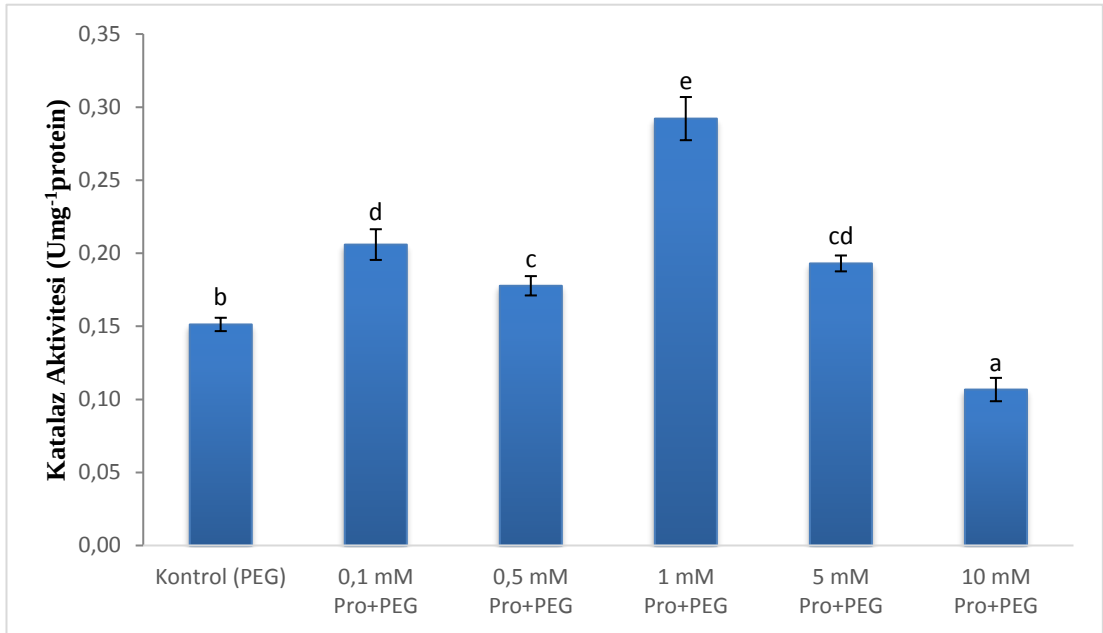
Deney gruplarında süperoksit dismutaz aktiviteleri ölçüldü. Yapılan analiz sonucu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p<0,001$) olduğu belirlendi. Buna göre en yüksek aktivite 1 mM prolin grubunda, en düşük enzim aktivitesi ise kontrol ve 0,1 mM prolin gruplarında görüldü (Şekil 11).



Şekil 11. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi

3.4.4.2 Katalaz Aktivitesi

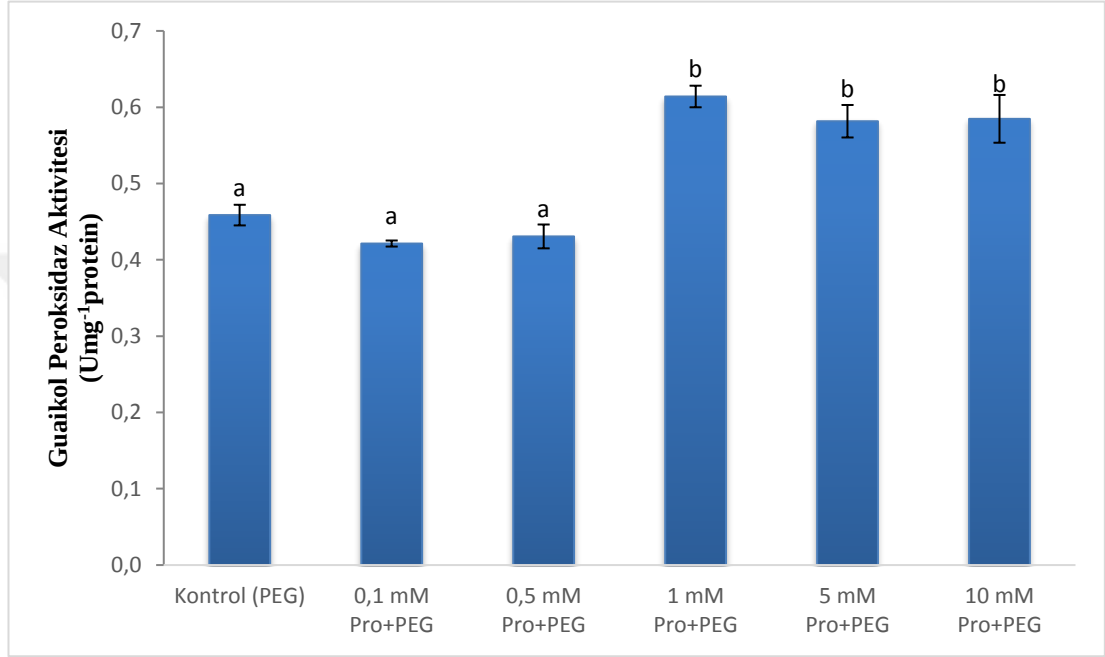
Mevcut çalışmada katalaz aktiviteleri belirlenerek gruplar arasında anlamlı bir fark ($p<0,001$) saptandı. Deney gruplarında en yüksek katalaz enzim aktivitesinin 1 mM prolin grubunda olduğu gözlemlendi. En düşük enzim aktivitesinin ise 10 mM prolin grubunda olduğu görüldü (Şekil 12).



Şekil 12. Katalaz aktivitesi

3.4.4.3 Guaikol Peroksidaz Aktivitesi

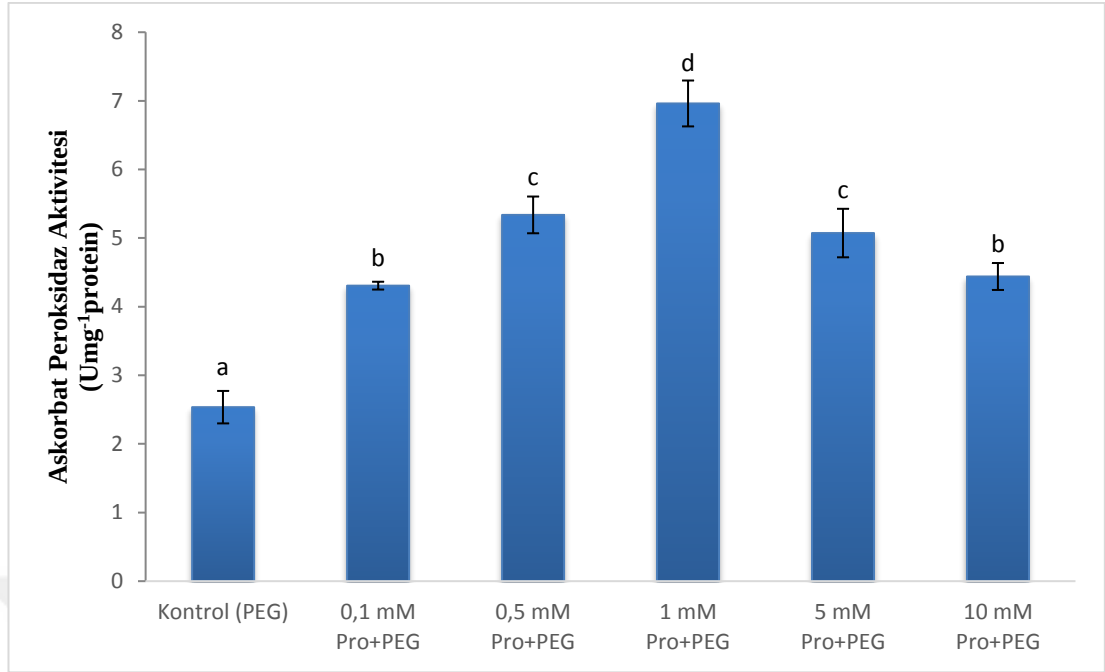
Çalışmada deney gruplarında guaikol peroksidaz aktivitesi ölçüldü. Gruplar arasında bir fark olduğu ($p<0,001$) tespit edildi. En düşük enzim aktivitesinin kontrol, 0,1 mM ve 0,5 mM prolin gruplarında, en yüksek aktivitenin ise 1 mM, 5 mM ve 10 mM prolin gruplarında olduğu tespit edildi (Şekil 13).



Şekil 13. Guaikol peroksidaz enzim aktivitesi

3.4.4.4 Askorbat Peroksidaz Aktivitesi

Çalışmada askorbat peroksidaz enzim aktiviteleri analiz edildiğinde deney grupları arasında anlamlı bir fark olduğu ($p<0,001$) belirlendi. Kontrol grubunda en düşük enzim aktivitesinin olduğu, 1 mM prolin grubunda ise en yüksek aktivitenin olduğu gözlemlendi (Şekil 14).



Şekil 14. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi

4 TARTIŞMA

Mevcut çalışma ile kuraklık stresi koşullarında çimlenen karaçam tohumlarında prolin uygulamasının iyileştirici etkileri araştırıldı. Bu amaçla bir deney düzeneği tasarlandı. Kuraklık stresini simüle etmek için farklı oranlarda “PEG 6000 (polietilen glikol)” kullanıldı. Ayrıca çalışmada antioksidan, ozmolit ve sinyal bileşiği gibi çeşitli rolleri olan prolin kuraklık stresine karşı tolerans arttırıcı bileşik olarak kullanıldı. Prolin uygulamasının hangi konsantrasyonlarda iyileştirici-yatıştırıcı etki gösterdiğini belirlemek için de farklı konsantrasyonlar denendi. Prolinin etkin konsantrasyonunun belirlenebilmesi için çimlenme hızı, çimlenme oranı, kök uzunluğu, taze ağırlık, nisbi su içeriği (RWC), lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve yaygın olarak bilinen bazı antioksidan enzim (süperoksit dismutaz, katalaz, guaikol peroksidaz ve askorbat peroksidaz) aktiviteleri gibi büyüme ve stres parametreleri ölçüldü.

Çalışma bulgularına bakıldığında, çimlenme hızının (ilk yedi günlük çimlenme sayısı) ölçüldüğü süreçte en iyi etki sırasıyla 1 ve 0,5 mM prolin uygulamalarında tespit edildi. Bununla beraber kontrol ve diğer prolin uygulama grupları arasında herhangi bir istatistiki fark bulunamadı. Mevcut çalışma bulgularına göre 28 günlük çimlenme süresi sonunda hesaplanan çimlenme oranının ise 0,5 mM ve 1 mM prolin grubunda en yüksek olduğu belirlendi. En düşük çimlenme oranına sahip deney grupları ise kontrol ve 10 mM prolin grupları oldu. Çimlenme hızı ve çimlenme oranı sonuçlarına bakılarak, prolin uygulamasının belirli konsantrasyonlarda çimlenme hızını teşvik ettiğini söylemek mümkündür. Bu durum prolin uygulamasının iyileştirici etkisinin sadece belirli konsantrasyonlarda gerçekleşebileceği kanısını oluşturmaktadır. Bu kanıyı destekler biçimde literatürde yapılmış bazı çalışmalara rastlamak mümkündür. Hua-long ve ark. (2014) yaptıkları bir çalışmada prolin ön uygulamasının stres şartları altında, çimlenmeyi teşvik ederek çimlenme oranını ve enerjisini (hızını) arttırdığını bildirmişlerdir. Yine başka çalışmalarda da prolin uygulama yöntemindeki farklılıkların da çimlenme (gelişme) hızını ve oranını etkilediğini rapor etmişlerdir (Hare ve ark., 2003; Posmyk ve Janas, 2007). Oldukça önemli bir fizyolojik süreç olan tohum çimlenmesinin, özellikle stres koşulları altında, prolin birikimi ile pozitif olarak

ilişkili olduğu bazı raporlarda bildirilmiştir. Fakat bu çalışmalar oldukça azdır ve prolinin çimlenmeye etkisi yeterli bir şekilde gösterilememiştir. Prolin birikiminin ya da prolin metabolizmasının, stres koşulları altındaki bitkilerde toleransı arttırdığı bilinmektedir. Ancak strese karşı artan toleranstaki bu genel etkiyi tohum çimlenmesi üzerindeki spesifik bir etkiden ayırt etmek güç olabilir (Trovato ve ark., 2019).

Çalışma bulgularına göre kök boyu uzunluklarına bakıldığında 1 mM prolin grubunda kök boyunun ve taze ağırlığın diğer gruplara göre yüksek olduğu görülmüştür. Kuraklık stresi şartlarında yetiştirilen bitkilerde prolin uygulamasının kök boyunu arttırarak büyüme ve gelişmeyi arttırdığı görülmektedir. Literatürde bazı stres koşulları altında uygulanan prolinin kök uzunluğunu ve biyokütleyi arttırdığına dair raporlar mevcuttur. Prolin, büyüyen herhangi bir dokuda protein biyosentezinin temel bir bileşeni olmasının yanı sıra, özellikle kök uzama bölgesinde hücre bölünmesinin bir düzenleyicisi olarak da rol oynuyor gibi görünmektedir (Trovato ve ark., 2001; Wang ve ark., 2014; Biancucci ve ark., 2015). Stres uygulanmamış *Arabidopsis* fidelerinde, mikromolar konsantrasyonda dışardan prolin desteğinin kök uzamasını ve dallanmayı indüklediği ancak milimolar konsantrasyonlarda dışardan prolin verilmesi durumunda ise hücre ölümüne benzeyen semptomlarla kök büyümesinin engellendiği belirtilmiştir (Mattioli ve ark., 2009; Hellmann ve ark., 2000). Butt ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada abiyotik stres altında bitkilere dışardan prolin uygulaması yapmış (0,4 mM, 0,6 mM, 0,8 mM, 1 mM ve 1,2 mM) ve 0,8 mM prolin konsantrasyonunun en iyi etkiyi yaparak biyokütle artışını sağladığı tespit etmiştir. Noreen ve ark. (2018), stres altındaki buğday bitkilerine uygulanan 80 mM prolinin bitkilerde kök boyunu ve taze ağırlığı arttırdığını raporlamıştır. Hoque ve ark. (2007), çalışmalarında prolin uygulamasının taze ağırlığı ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığını belirtmişlerdir. Bitkilerde hem çimlenme hızı hem de kök gelişimi bitkinin genel yaşam kalitesinin yüksek olduğunu ya da maruz kaldığı stres seviyesinin düşük olduğunu gösterir. Çünkü bu tür gelişimsel süreçlerin yüksek seviyede devam etmesi doğrudan biyokütle artışını etkiler. Genel olarak bir bitki ideal koşullara en yakın koşullarda en fazla biyokütle üretimi gerçekleştirir ve bu durum bitkinin sağlık durumunun da iyi olduğunu doğrudan gösterir. Mevcut çalışmada ise kurak koşullarda dışarıdan uygulanan prolinin belirli konsantrasyonlarda çimlenme sayısı ve hızına ek olarak kök gelişimini arttırması bitkinin genel durumundaki bir iyileşmeden ya da

tolerans artışından kaynaklanıyor olabilir. Prolin uygulaması ile tolerans seviyesi yükselen karaçam tohumlarının stresin olumsuz etkileri ile daha iyi başa çıkabildiğini ve biyokütle artışının belirteci olan kök gelişimini arttırdığını söylemek mümkün olabilir.

Mevcut çalışma bulguları incelendiğinde nisbi su içeriğinin 1 mM prolin grubunda önemli derecede arttığı gözlemlendi. Bu veriler çalışmanın aynı prolin seviyesindeki kök gelişimi ile uyumluluk göstermektedir. En az nisbi su içeriği ise kontrol ve 10 mM prolin gruplarında ölçüldü. Çalışmanın diğer parametreleri ile birlikte düşünüldüğünde 1 mM prolin uygulamasının bitki su durumunu diğer prolin konsantrasyonlarında daha iyi bir şekilde düzenlediği kabul edilebilir. Ek olarak RWC değerlerinin kök boyu, taze ağırlık ve çimlenme hızı/oranı ile uyumlu olması prolinin belirli bir konsantrasyonda (1 mM) kuraklık stresine yanıt gelişimini daha iyi düzenlediğini göstermektedir. Bu durum prolinin oluşturduğu iyileştirici-yatıştırıcı etkinin konsantrasyon bağımlı olduğunu göstermektedir. Literatürde bu sonuçları destekler çalışmalar mevcuttur. Shahid ve ark. (2014), çalışmalarında tuz stresi altında yetişen İngiliz çimi (*Lolium perenne*) ve bezelye (*Pisum sativum*) bitkilerinde dışardan prolin uygulamasının nisbi su içeriğini arttırdığını belirtmişlerdir. Merwad ve ark. (2018), su eksikliği stresi altında yetişen börülce (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) bitkilerine spreay yöntemiyle uygulanan prolinin (2, 4 ve 6 mM) bitki büyüme özelliklerini iyileştirerek nisbi su içeriğini arttırdığını gözlenmemişlerdir. Ben Ahmed ve ark. (2011) ise zeytin türünde köklendirme ortamına dışardan prolin uygulamasının stres şartları altında büyüyen bitkilerde, fotosentetik aktiviteyi ve yaprak nisbi su içeriğini arttırdığını raporlamışlardır. Abdelaal ve ark. (2020), kuraklık stresinde yetişen bitkilerde prolin uygulamasının RWC'yi arttırdığını ve lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermişlerdir.

Serbest radikaller, bir organizmada lipid peroksidasyonu sürecini başlatır. Malondialdehit (MDA), hücrelerde çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunun son ürünüdür ve genel lipid peroksidasyonunun bir indeksi olarak kabul edilir (Hodges ve ark., 1999; Gawel ve ark., 2004). Bitki hücrelerinde oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonunun farklı biyotik ve abiyotik stresler altında, hücresel hasarın birincil nedenlerinden biri olduğu belgelenmiştir (Yu ve ark., 2017). Bu nedenle mevcut çalışmada lipid peroksidasyonu seviyesi ölçümü yapılarak kuraklık şartlarında

hücre zarındaki hasar ölçülmeye çalışıldı. Çalışma bulgularına bakıldığında en düşük MDA seviyesinin olduğu 1 mM prolin grubunun lipid peroksidasyonunu azaltarak hücre zarındaki hasarı engellediği söylenebilir. Belirli konsantrasyonlarda prolin uygulamasının serbest radikalleri temizleyerek strese karşı koruyucu etki gösterdiğini söylemek mümkündür. Ayrıca etkili prolin konsantrasyonunda taze ağırlık ve diğer bulgulardan elde edilen veriler de bunu desteklemektedir. de Freitas ve ark. (2019), tuz stresine maruz bırakılan bitkilere dışardan uygulanan prolinin membran hasarını azalttığını göstermişlerdir. Aggarwal ve ark. (2011), ağır metal stresine maruz kalan bitkilerin köklerine dışardan prolin uygulamasının belirli konsantrasyonda lipid peroksidasyonunu ve hidrojen peroksit içeriğini azalttığını belirlemişlerdir. Ghaffari ve ark. (2019), kuraklık stresine maruz kalan şeker pancarında (*Beta vulgaris* L.) dışardan prolin uygulamasının enzimatik antioksidan aktivitesini artırarak MDA seviyesini düşürdüğünü bildirmiştir. Literatür bilgileri değerlendirildiğinde dışardan prolin uygulamasının enzimatik antioksidan aktivitelerini düzenleyerek reaktif oksijen türlerini temizlediği ve hücre membran stabilitesini iyileştirdiği düşünülmektedir.

Hidrojen peroksit, bitkilerde normal metabolizma faaliyetleri (fotosentez süreçleri gibi) sırasında kendiliğinden oluşabildiği gibi NADPH (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat) oksidaz ve süperoksit dismutaz gibi enzim etkinlikleri ile de üretilirler. Ayrıca, bitki herhangi bir şekilde strese maruz kaldığında hücrede hidrojen peroksit seviyesi artar. Stres ile birlikte H₂O₂ seviyelerinin artmasının nedeni, stres sinyali olarak üretiminin artmasıdır. Ek olarak hem ağır stres koşulları nedeniyle hem de metabolizma faaliyetleri sırasında fazlaca biriken hidrojen peroksidin temizlenememesi, hidrojen peroksit seviyelerindeki artışın diğer bir önemli sebebidir (Nounjan ve ark., 2012; Hung ve ark., 2005; Sofo ve ark., 2015). Bu nedenle çalışmada kuraklık stresi koşullarında çimlendirilen karaçam tohumlarında hidrojen peroksit içeriği ölçülerek bitkilerin maruz kaldığı stresin şiddeti belirlendi ve prolinin iyileştirici etkileri gözlemlendi. En düşük H₂O₂ içeriği 1 mM prolin grubunda, en yüksek H₂O₂ içeriği ise 10 mM prolin grubunda görüldü. Stres etkilerinin azaldığı 1 mM prolin grubunda hidrojen peroksit içeriğinin de düşmesi literatür bilgileriyle uyusmaktadır. Hasanuzzaman ve ark. (2014), strese maruz bırakılan bitkilerde prolin uygulamasının H₂O₂ içeriğini azalttığını tespit etmişlerdir. Wutipraditkul ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, belirli konsantrasyonlarda uyguladıkları prolinin stres şartları altındaki

bitkilerde hidrojen peroksit seviyesini azalttığını ancak yüksek konsantrasyonda dışardan uygulanan prolinin ise H_2O_2 içeriğini arttırarak ters etki yaptığını belirlemişlerdir.

Mevcut çalışma ile prolin içeriği ölçülmüştür. Prolinin bitkilerde stresin şiddetine göre antioksidan veya ozmolit olarak görev yapabildiği birçok çalışmada rapor edilmiştir (Yoshiba ve ark., 1997; Shevyakova ve ark., 2009; Rana ve ark., 2017; Demiralay ve ark., 2017). Aynı zamanda literatür, maruz kalınan stres şiddetine göre prolinin bitkide sinyal molekülü olarak da görev yapabildiğini göstermektedir (Mattioli ve ark., 2008; Mattioli ve ark., 2009). Ek olarak prolin, protein bütünlüğünü koruyabilen ve farklı enzim aktivitelerini arttırabilen moleküler bir şaperon olarak işlev görmektedir (Slama ve ark., 2015). Prolin kuraklık stresi koşullarında birikir ve bir ozmoprotektan olarak işlev görür (Zhu, 2002; Verbruggen ve Hermans, 2008; Mata ve ark., 2016). Yapılan çalışma ile prolinin sadece belirli konsantrasyonlarda bitkide iyileştirici etki yapabildiğini (1 mM), diğer konsantrasyonlarda ise etkisinin olmadığı ya da zıt bir etki gösterip çimlenmeyi azaltarak büyümeyi ve gelişmeyi engellediği düşünülebilir. Bulgularımızı destekler nitelikte, Yamada ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada yabancı tür *Arabidopsis* ve petunya bitkilerine kuraklık stresi şartlarında dışardan uygulanan prolinin (0, 5, 10 ve 50 mM) büyümeyi şiddetli bir biçimde engellediğini ve yaprak yaşlanmasını hızlandırdığını bildirmişlerdir. Prolinin konsantrasyona bağlı olarak etki göstermesi sinyal bileşiği olarak rol alması ile açıklanabilir. Dahası başka çalışmalarda farklı konsantrasyonlarda olumlu etkiler göstermesi de bu durumu desteklemektedir. Örnek vermek gerekirse Moustakas ve ark. (2011) yapmış oldukları bir çalışmada, 10 mM prolin uygulamasının kuraklık stresi koşullarında bitkiyi koruduğunu göstermektedir. Ali ve ark. (2013) ise kuraklık stresine maruz bırakılan mısır bitkilerine spre yöntemiyle uygulanan 30 mM prolinin, kuraklığın olumsuz etkilerini iyileştirdiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda prolinin iyileştirici etkisini içsel hidrojen proksit seviyesinin azalması, RWC durumunun ve taze ağırlık miktarının artması ile gözlemlemek mümkündür. Bu durum mevcut çalışma için 1 mM prolin uygulamasının kurak koşullara karşı çimlenen tohumları, antioksidan sistemi teşvik ederek ve bitki su durumunu iyileştirerek koruduğunu gösterebilir. Dahası MDA seviyelerinin 1 mM prolin uygulamasında belirgin bir

şekilde diğer gruplara göre daha düşük çıkması bu düşüncüyü daha da kuvvetlendirmektedir.

Bu çalışmada uygulanan prolin (1 mM), reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi süreçlerini düzenleyerek karaçamın oksidatif hasara karşı toleransını artırmıştır. Bu bulgular, prolinin H₂O₂ içeriğini azaltarak ve enzimatik antioksidan savunma sistemini (SOD, CAT, GPX ve APX) artırarak kuraklığın neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermektedir. Antioksidan savunma sisteminin iyileştirilmesi bitkilerin strese karşı daha dirençli ve toleranslı olması açısından önemlidir (Nahar ve ark., 2016). Bu nedenle çalışmada, kendilerini güçlü bir antioksidan olarak kanıtlamış süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), guaikol peroksidaz (GPX) ve askorbat peroksidaz (APX) enzimleri ölçülmüştür.

Mevcut çalışmada süperoksit radikallerinin oksijen ve hidrojen perokside dönüştürülmesini katalize eden süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin (Bowler ve ark., 1994) iyileştirici konsantrasyon olarak düşünülen 1 mM prolin grubunda görülmesi çalışmanın diğer bulguları ile de desteklenmektedir. Dışardan verilen belirli konsantrasyonlarda prolin ile bu enzimin arttığı ve bitkinin strese karşı toleransının daha da geliştiğine dair literatür bilgileri mevcuttur. Islam ve ark. (2009), dışardan prolin uygulamasıyla SOD aktivitesinin arttığını ve bitkilerin stres ile daha iyi başa çıkarak taze ağırlıklarını arttırdıklarını tespit etmişlerdir. Yan ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada 0,2 mM prolin uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerini harekete geçirerek SOD aktivitesini arttırdığını gözlemlemişlerdir.

Katalaz, bitkilerde reaktif oksijen türlerinden olan H₂O₂ içeriğini azaltarak koruma sağlama kapasitesine sahip anahtar bir enzimdir (Willekens ve ark., 1997). Çalışmada en yüksek katalaz aktivitesinin 1 mM prolin grubunda bulunması diğer bulgular ile karşılaştırıldığında da bu konsantrasyonun bitkide iyileştirici etki yaptığını göstermektedir. Belirli konsantrasyonda dışardan verilen prolin diğer gruplara göre katalaz aktivitesini daha fazla arttırdığı belirlenmiştir. Bu nedenle hidrojen peroksidin hücre zarında yapacağı hasarın engellenerek hücre yapısının korunmasının sağladığı düşünülmektedir. Singh ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada abiyotik stres altındaki *Solanum melongena* L. fidelerine dışardan prolin uygulamasının katalaz aktivitesini yapraklarda ve köklerde arttırdığını göstermişlerdir. Ghaffari ve ark. (2019) yaptıkları

çalışmada kuraklık stresine karşı prolin uygulamış ve katalaz enzim aktivitesinin arttığını tespit etmiştir.

Enzimatik antioksidan türlerinden olan guaikol peroksidaz aktivitesinde kontrol grubuna göre artış olmasına karşın 1, 5 ve 10 mM prolin grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Bu durum karaçamın kuraklığa karşı dayanıklı ve toleranslı bir tür olması ile açıklanabilir (Saatçioğlu, 1976; Eilmann ve Rigling, 2012; Enescu ve ark., 2016; Móricz ve ark., 2018). Şöyle ki reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinde büyük bir rolü olan APX ve CAT enzimlerinin aktivasyonu kuraklığa karşı toleranslı bitkilerde daha güçlüdür. Bunun zıttı bir şekilde kuraklığa hassas türler ise GPX enzimi toleranslı türlere kıyasla daha fazla etkinleştirir (Laxa ve ark., 2019). Bu nedenle bu çalışmada da karaçam türünün kuraklık stresine karşı koyma sürecinde GPX enzimine kıyasla APX, CAT, SOD enzimlerini daha fazla kullandığı düşünülmektedir. Bekka ve ark. (2018) prolin uygulamasının kuraklığa karşı etkilerini araştırmak amacıyla 2 farklı türde yaptıkları çalışmada, bir türde (*Lens culinaris* Medik.) prolin uygulamasının CAT, APX ve GPX aktivitelerini arttırdığını, diğer türde (*Triticum aestivum* L.) ise CAT ve GPX enzimini arttırdığını APX enzimini ise değiştirmedikleri rapor etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Hurma ağacında (*Phoenix dactylifera* L.) prolin uygulamasının yapraklardaki SOD ve CAT enzim aktivitelerini arttırırken GPX enzimini anlamlı şekilde arttırmadığı tespit edilmiştir (Zouari ve ark., 2016).

Çalışmada askorbat peroksidaz enziminin aktivitesi en fazla 1 mM prolin grubunda bulunmuştur. Hidrojen peroksidin temizlenmesinden sorumlu önemli enzimlerden olan APX enziminin bu gruptaki artışı çalışmanın diğer bulgularıyla örtüşmektedir. Kuraklık koşullarında hücrede reaktif oksijen türlerinin birikimini baskılamak için detoksifikasyon kapasitesi yüksek olan APX, CAT gibi enzimlere gerek duyulur. Çeşitli stres şartlarına maruz kalan bitkilerde prolin uygulamasının belirli konsantrasyonlarda askorbat peroksidaz enzim aktivitesini arttırdığına dair literatürde de bazı raporlar mevcuttur (Yan ve ark., 2011; Bekka ve ark., 2018; Ghaffari ve ark., 2019).

Mevcut çalışmanın tüm bulguları prolin uygulamasının kuraklık stresi koşullarında karaçam tohumlarının çimlenmesini teşvik ettiğine işaret etmektedir. Fakat bu etki

uygulanan tüm konsantrasyonlarda gerçekleşmemiştir. Sonuçlar ancak belirli bir konsantrasyon değerinin söz konusu etkiyi yaptığını göstermektedir. Hem çimlenme parametreleri hem de büyüme ve temel stres parametreleri bu fikri güçlendirmektedir. Dahası mevcut çalışmanın metodolojisi ve elde edilen bulgular kuraklık stresi koşullarında prolin uygulamasının yine belirli konsantrasyonlarda iyileştirici-yatıştırıcı etki yaptığını işaret etmektedir. Söz konusu prolin uygulama konsantrasyon değeri 1 mM olup, bu değer kurak koşullarda hem çimlenmeyi teşvik etmiş hem de kuraklık stresi kaynaklı olumsuz etkilerin yatıştırılmasına yardımcı olmuştur. Böylece etkin konsantrasyon değerinde uygulanan prolinin çimlenen tohumların genel sağlık durumunu daha iyi hale getirdiği gözlenmiştir. Literatür incelendiğinde benzer durumlar gözlemek mümkündür. Literatürde farklı bitkilerle yapılan çalışmalar yine etkin konsantrasyon rapor etmekle birlikte bu değer çalışmaya göre değişiklik gösterebilmektedir. Burada dikkat edilmesi gereken husus etkin prolin konsantrasyonunun bitkinin türüne, yaşına, uygulama şekline, bitkinin hayat döngüsündeki evresine ve uygulanan organına-dokusuna göre değişiklik göstermesidir. Mevcut çalışmada prolin direk olarak çimlenme ortamına ilave edildiği için 1 mM prolin etkin konsantrasyon olarak gözlenmiştir. Özetle belirtmek gerekirse mevcut çalışma, seçilen yöntemle göre 1 mM prolin uygulamasının kurak koşullarda çimlenmeyi teşvik ettiğini belirtmektedir.

5 SONUÇ VE ÖNERİLER

Mevcut çalışma ile ulaşılan bilgiler, dışarıdan gerçekleştirilen prolin uygulamasının kurak koşullarda karaçam tohumlarının çimlenmesini teşvik ettiğine işaret etmektedir. Fakat bu teşvik edici etki prolinin tüm konsantrasyonlarında gerçekleşmemiş olup ancak belirli bir konsantrasyon aralığında meydana gelmektedir. Bu durum, çalışmada tespit edilen prolinin iyileştirici-yatıştırıcı etkisinin etkin bir konsantrasyona bağlı olduğunu göstermektedir. Literatür bilgisi de farklı bitkilerle yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar sunmaktadır. Dahası literatür bilgisi, mevcut çalışmada olduğu gibi prolinin farklı konsantrasyonlarda ya çok az etkili ya da olumsuz etkiler gösterdiğini belirtmektedir. Sonuç olarak mevcut çalışma verileri ve literatür bilgisi, prolinin iyileştirici etkisinin uygulamanın yöntemine, uygulanan bitkinin türüne, yaşına, uygulama konsantrasyonuna, uygulama dönemine ve süresine bağlı olarak farklı sonuçlar gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca yapılan çalışmaya ek olarak ileride bulguların daha iyi aydınlatılabilmesi ve tartışılabilmesi için aşağıda bazı kritik önerilerde bulunulmuştur.

Mevcut çalışmada;

1. Prolinin iyileştirici etkisinin daha detaylı araştırılabilmesi için çimlenen tohumlarda aktiviteleri ölçülen antioksidan enzimlerin gen ifade seviyesine bakılması önerilebilir. Aynı zamanda yine bu enzimlerin western blot analizleri ile spesifik miktarları da tayin edilebilir. Bu şekilde elde edilen sonuçlar ile prolinin iyileştirici etkisinin transkript seviyesinde mi yoksa translasyon seviyesinde mi olduğu daha detaylı anlaşılabilir.
2. Dışarıdan uygulanan prolinin iyileştirici etkisinin nasıl gerçekleştiğini açıklayabilmek adına deney gruplarından elde edilmiş örneklerde microarray ya da transkriptom sekans analizleri yapılabilir. Bu sayede özellikle konsantrasyona bağlı prolin uygulaması ile hangi genlerin hangi seviyede ifade edildiği anlaşılabilir. Böylece prolin etki mekanizmasının ve neden konsantrasyona bağlı olduğunun anlaşılması kolaylaşabilir.

3. Tohumlar biyokimyasal ve bazı büyüme parametreleri yönünden analiz edildi. Elde edilen veriler ışığında bitki su durumunun korunması, daha fazla kütle artışı ve stres parametreleri prolin uygulamasının belirli konsantrasyonlarda stres yükünü azalttığını göstermektedir. Sonuçlar dolaylı olarak fotosentez mekanizmasının da prolin uygulaması ile stres koşullarında korunduğunu göstermektedir. Bununla birlikte doğrudan sonuç elde edilmesi ve prolin etkisini doğrudan gözlemlemek adına gruplarda fotosentez hızı ve klorofil flüoresansı analizleri de yapılabilir. Bu sayede prolinin etki mekanizması hakkında daha detaylı bilgilere ulaşılmış olunabilir.
4. Mevcut çalışma ile elde edilen veriler prolinin belirli konsantrasyonlarda bitki genel durumunu kuraklık stresi baskısına karşı geliştirdiğine işaret etmektedir. Bu sebeple kuraklık stresinin olumsuz etkileri azaltılmış ya da yatıştırılmış ve sonuç olarak genel sağlık durumu iyileşen tohumlar daha iyi çimlenme sonuçları göstermiştir. Bunun yanında taze ağırlık ve bitki su içeriği gibi parametreler de bitki biyokütlesinin artışıyla açıklamaktadır. Ama prolinin çimlenmeyi doğrudan mı yoksa dolaylı olarak bitki sağlık durumunu iyileştirerek mi teşvik ettiği hala tam olarak belli değildir. Literatür bilgileri de benzer bir duruma işaret etmektedir. Bu nedenle prolin uygulamasının çimlenme ile ilişkili enzimlerinin (proteaz, lipaz, α -amilaz ve β -1,3-glukanaz gibi) üzerine olan etkilerinin çalışılması önemli olabilir (Renu, 2018). Böylece prolinin çimlenmeyi dolaylı olarak mı yoksa doğrudan gelişimsel olarak mı teşvik ettiği noktasında daha aydınlatıcı verilere ulaşılabilir.
5. Mevcut çalışma karaçam tohumlarında gerçekleştirilmiş olup 28 günlük çimlenme süresi sonunda analizler yapılmıştır. Elde edilen veriler çimlenme aşamasındaki kuraklığın karaçam üzerindeki etkisini göstermekte olup kuraklığa maruz bırakılan 1-2 yıllık veya daha büyük gelişim çağlarındaki karaçam ağaçlarına dışardan prolin uygulamasının etkisinin belirlenebilmesi literatüre ek katkılar sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- Abdelaal, K.A.A.; Attia, K.A.; Alamery, S.F.; El-Afry, M.M.; Ghazy, A.I.; Tantawy, D.S.; Al-Doss, A.A.; El-Shawy, E.-S.E.; M. Abu-Elsaoud, A.; Hafez, Y.M. 2020. Exogenous Application of Proline and Salicylic Acid can Mitigate the Injurious Impacts of Drought Stress on Barley Plants Associated with Physiological and Histological Characters. *Sustainability*, 12, 1736.
- Aebi, H.E., Catalase, 1983. Methods of Enzymatic Analysis, In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), Weinheim: Verlag, Chemie, 273-286 s.
- Aggarwal M, Sharma S, Kaur N, Pathania D, Bhandhari K, Kaushal N, Kaur R, Singh K, Srivastava A, Nayyar H (2011) Exogenous proline application reduces phytotoxic effects of selenium by minimising oxidative stress and improves growth in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Biol Trace Elem Res* 140:354–367
- Ahmed CB, Rouina BB, Sensoy S, Boukhriss M, Abdullah FB (2010) Exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. *J Agricult Food Chem* 58(7):4216–4222
- Akhtar I, Nazir N. Effect of waterlogging and drought stress in plants. *Int J Water Res Environ Sci.* 2013;2:34–40.
- Ali Q, Ashraf M, Athar HUR. Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. *Pak J Bot* 2007; 39:1133-44.
- Ali Q, Ashraf M, Shahbaz M, Humera H. Ameliorating effect of foliar applied proline on nutrient uptake in water stressed maize (*Zea mays* L.) plants. *Pak J Bot* 2008; 40:211-9.
- Ali, Q.; Anwar, F.; Ashraf, M.; Saari, N.; Perveen, R. Ameliorating Effects of Exogenously Applied Proline on Seed Composition, Seed Oil Quality and Oil Antioxidant Activity of Maize (*Zea mays* L.) under Drought Stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2013, 14, 818-835.
- Alptekin, Ü. 1986. Anadolu Karaçamı (*Pinus nigra* Arnold. ssp. *pallasiana* Lamb. Holmboe)'nın Coğrafik Varyasyonları, İ.Ü. Orman Fakültesi, Silvikültür Anabilim Dalı, Doktora Tezi (yayımlanmamış), İstanbul, 170 s.
- Altun, L., Yavuz, H., Baskent, E.Z., Yilmaz, M., 2002. Evaluating tree mortality in pure spruce stand using environmental and dendroclimatic factors. *Journal of Balkan Ecology*, 5(2):168-175.

- Amodei, Thomas & Guibal, Frederic & Fady, Bruno. (2013). Relationships between climate and radial growth in black pine (*Pinus nigra* Arnold ssp. *salzmannii* (Dunal) Franco) from the south of France. *Annals of Forest Science*. 70. 10.1007/s13595-012-0237-9.
- Arbona V, Manzi M, de Ollas C, Gómez-Cadenas A. Metabolomics as a tool to investigate abiotic stress tolerance in plants. *Int J Mol Sci*. 2013;14:4885–911.
- Bai, Z.G., D.L. Dent, L. Olsson, and M.E. Schaepman, 2008: Proxy global assessment of land degradation. *Soil Use Manag.*, 24, 223–234, doi:10.1111/j.1475-2743.2008.00169.x.
- Bar-Nun N. and Poljakoff-Mayber A. 1977. Salinity stress and the content of proline in roots of *Pisum sativum* and *Tamarix tetragyna*. *Ann. Bot.* 41: 173–179.
- Beauchamp, C. ve Fridovich, I., 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assays and An Assay Applicable to Acrylamide Gels, *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
- Beck, Erwin & Fettig, Sebastian & Knake, Claudia & Hartig, Katja & Bhattarai, Tribikram. (2007). Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *Journal of biosciences*. 32. 501-10. 10.1007/s12038-007-0049-5.
- Bekka, S., Abrous-Belbachır, O., & Djebbar, R. (2018). Effects of exogenous proline on the physiological characteristics of *Triticum aestivum* L. and *Lens culinaris* Medik. under drought stress. *Acta agriculturae Slovenica*, 111(2), 477-491.
- Ben Ahmed C, Magdich S, Ben Rouina B, Sensoy S, Boukhris M, Ben Abdullah F (2011) Exogenous proline effects on water relations and ions contents in leaves and roots of young olive. *Amino Acids* 40(2):565–573
- Bernacchia G, Furini A. Biochemical and molecular responses to water stress in resurrection plants. *Physiol Plant*. 2004;121:175–81.
- Bhargava S, Sawant K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. *Plant Breeding*. 2013;132:21–32.
- Biancucci M, Mattioli R, Moubayidin L, Sabatini S, Costantino P, Trovato M (2015) Proline affects the size of the root meristematic zone in *Arabidopsis*. *BMC Plant Biol* 15:263. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0637-8>
- Boydak M, Çalıkoğlu M (2008). *Biology and Silviculture of Lebanon Cedar (Cedrus libani A. Rich.)*. 1st ed. Ankara, Turkey: OGEM-VAK Press.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bray EA. Plant response to water-deficit stress. *Encycl Life Sci*. 2001. 10.1002/9780470015902.a0001298.pub2.

- Britta Eilmann, Andreas Rigling, Tree-growth analyses to estimate tree species' drought tolerance, *Tree Physiology*, Volume 32, Issue 2, February 2012, Pages 178–187, <https://doi.org/10.1093/treephys/tps004>
- Butt M, Ayyub CM, Amjad M, Ahmad R (2016) Proline application enhances growth of chilli by improving physiological and biochemical attributes under salt stress. *Pak J Agric Sci* 53:43–49
- Carillo, Petronia & Gibon, Yves & contributors, PrometheusWiki. (2011). PROTOCOL: Extraction and determination of proline. PrometheusWiki.,
- Chernyad'ev II. Effect of water stress on the photosynthetic apparatus of plants and the protective role of cytokinins: a review. *Appl Biochem Microbiol*. 2005;41:115–28.
- Choudhary, N.L. et al. (2005) Expression of delta1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene during drought in rice (*Oryza sativa* L.). *Ind. J. Biochem. Biophys.* 42, 366–370
- Chris Bowler, Wim Van Camp, Marc Van Montagu, Dirk Inzé & Professor Kozi Asada (1994) Superoxide Dismutase in Plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13:3, 199-218, DOI: 10.1080/07352689409701914
- Cindik, Y. and C. Acar. 2010. Rehabilitation of Quarries to Finished Re-Gaining Activity and the Nature, *A.C.U. Fac. For. J.*, 11(1):11-18
- Çalışkan, A., Güney, H., & Çalışkan, S. (2014). Farklı toprak işleme yöntemlerinin Anadolu Karaçamı (*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) gençleştirmesi üzerine etkisi.
- Çalışkan, S., and M. Boydak, 2017: Afforestation of arid and semi-arid ecosystems in Turkey. *Turkish J. Agric. For.*, 41, 317–330, doi:10.3906/tar-1702-39.
- Çelik, O., Semerci, A., Şanlı, B., Belindir, B., Gedik, Ö. 2002. Ankara Çevresinde Görülen Kurumaların Nedenleri, *Orman Mühendisliği Dergisi*, Mayıs 2002, Yıl:39, Sayı:5.
- ÇEM. 2018. “Toprak Organik Karbonu Projesi, Teknik Özet”, Çölleşme ve Erozyonla Mücadele Genel Müdürlüğü, Ankara, Türkiye
- ÇEMGM, 2017: Combating Desertification and Erosion Activities in Turkey. General Directorate of Combating Desertification and Erosion, Ministry of Forestry and Water Affairs, Republic of Turkey. Ankara, Turkey, 44 pp.
- Çepel, N., 1989. Orman Ekolojisi. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, No 3140/337, İstanbul.
- Çepel, N., 1989. Orman Ekolojisi. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, No 3140/337, İstanbul.

- Çınar, T, Gülsoy, S. (2019). Anadolu Karaçamı Meşçerelerinde Verimlilik İçin Gösterge Bitki Analizleri: Manisa-Demirci Yöresi Örneği . Journal of the Institute of Science and Technology, 9 (1) , 91-99 . DOI: 10.21597/jist.418309
- Dağdaş, S. (2016). Ehrami Karaçam ve Karaçamda Toplu Kurumalar <https://yayin.ogm.gov.tr/yaydepo/1481.pdf>. 23-33.
- D'Amore, D.; Kane, E. 2016. Climate Change and Forest Soil Carbon. (August, 2016). U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Climate Change Resource Center. www.fs.usda.gov/ccrc/topics/forest-soil-carbon
- Daşdemir, İ., 1992. Türkiye'deki Doğu Ladini (*Picea orientalis* L. Carr.) Ormanlarında Yetiştirme Ortamı Faktörleri–Verimlilik İlişkisi. Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Yayın No: 64, Ankara.
- de Carvalho M.H.C. (2008) Drought stress and reactive oxygen species, Plant Signaling & Behavior, 3:3, 156-165, DOI: 10.4161/psb.3.3.5536
- De Freitas PAF, De Carvalho HH, Costa JH, De Souza MR, Da Cruz Saraiva KD, De Oliveira FDB, Gomes Coelho D, Tarquinio Prisco J, Gomes-Filho E (2019) Salt acclimation in sorghum plants by exogenous proline: physiological and biochemical changes and regulation of proline metabolism. Plant Cell Rep 38:403–416
- de Freitas, P.A.F., de Souza Miranda, R., Marques, E.C., Prisco, J.T., and Gomes-Filho, E. 2018. Salt Tolerance Induced by Exogenous Proline in Maize Is Related to Low Oxidative Damage and Favorable Ionic Homeostasis. Journal of Plant Growth Regulation 27:1–14.
- Demiralay, M., Aluntas, C., Sezgin, A., and Terzi, R. 2017. Application of Proline to Root Medium Is More Effective for Amelioration of Photosynthetic Damages as Compared to Foliar Spraying or Seed Soaking in Maize Seedlings under Short-Term Drought. *Turkish Journal of Biology* 41, (4):649–660.
- Ding Y, Tao Y, Zhu C. Emerging roles of MicroRNAs in the mediation of drought stress response in plants. J Exp Bot. 2013;64:3077–86.
- Doğan, Mehmet & Köse, Nesibe. (2019). Influence of Climate on Radial Growth of Black Pine on the Mountain Regions of Southwestern Turkey. Plants. 8. 276. 10.3390/plants8080276.
- Ellen Janssen, Vincent Kinta, Jean-Daniel Bontempsb, Kürşad Özkanc, Ahmet Mertd, Nesibe Kösee, Bilgin Icelf, Bart Muysa, 2018. Recent growth trends of black pine (*Pinus nigra* J.F. Arnold) in the eastern mediterranean. Forest Ecology and Management 412 (2018) 21–28.
- Enescu, C. M., de Rigo, D., Caudullo, G., Mauri, A., Houston Durrant, T., 2016. *Pinus nigra* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A. (Eds.), European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp. e015138+

- Eruz, E. 1984. Balıkesir Orman Bölge Müdürlüğü'ndeki Saf Karaçam Meşcerelerinin Boy Gelişimi ile Bazı Edafik ve Fizyografik Özellikler Arasındaki İlişkiler, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, Yayın No: 3244.
- Estela Herguido, Elena Granda, Raquel Benavides, Ana I. García-Cervigón, J. Julio Camarero, Fernando Valladares. 2016. Contrasting growth and mortality responses to climate warming of two pine species in a continental Mediterranean ecosystem. *Forest Ecology and Management* 363 (2016) 149–158
- EUFORGEN, 2009. Distribution map of black pine (*Pinus nigra*). www.euforgen.org
- FAO and UNEP. 2020. *Forest Species and Genetic Diversity*. The State of the World's Forests 2020. Forests, biodiversity and people. Chapter 3. Rome. ISBN 978-92-5-132419-6. 35-55.
- FAO. 2020. Global Forest Resources Assessment 2020 – Key findings. Rome.
- Farooq M, Wahid A, Kobayashi N, Fujita D, Basra SMA. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.*, 29: 185-212
- Forlani, G., Bertazzini, M. and Cagnano, G. (2019), Stress- driven increase in proline levels, and not proline levels themselves, correlates with the ability to withstand excess salt in a group of 17 Italian rice genotypes. *Plant Biol J*, 21: 336-342. doi:10.1111/plb.12916
- Gabriel Sangüesa-Barreda a,b,□, J. Julio Camarero b, Raúl Sánchez-Salguero c, Emilia Gutiérrez d, Juan Carlos Linares c, Mar Génova e, Montserrat Ribas d, Pedro Antonio Tiscar f, José Antonio López-Sáez. 2019. Droughts and climate warming desynchronize Black pine growth across the Mediterranean Basin. *Science of the Total Environment* 697 (2019) 133989.
- Gaweł S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Dialdehyd malonowy (MDA) jako wskaźnik procesów peroksydacji lipidów w organizmie [Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker]. *Wiad Lek.* 2004;57(9-10):453-455
- Genç, M. 2004. Silvikültürün Temel Esasları, SDÜ. Orman Fakültesi, Yayın no: 44, Isparta, 341 s
- Ghaffari, H., Tadayon, M.R., Nadeem, M. et al. Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. *Acta Physiol Plant* 41, 23 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2815-z>
- Gitay, H., A. Suárez, R.T. Watson, and D.J. Dokken, 2002: Climate change and biodiversity. IPCC Technical Paper V, Intergovernmental Panel on Climate Change, World Meteorological Organization, Geneva, Switzerland. 77 pp.
- Guada, G.; Camarero, J.J.; Sánchez-Salguero, R.; Cerrillo, R.M.N. Limited Growth Recovery after Drought-Induced Forest Dieback in Very Defoliated Trees of Two Pine Species. *Front. Plant Sci.* 2016, 7, 1–12.

- Guarin, A., Taylor, A.H., 2005. Drought Triggered Tree Mortality in Mixed Conifer Forests in Yosemite National Park. California, USA.
- Gull, A.; Lone, A.A.; Wani, N.U.I. Biotic and Abiotic Stresses in Plants. Abiotic Biot. Stress Plants 2019, 1–6.
- Güner ŞT, Özkan K, Çömez A, Çelik N, 2011. İç Anadolu Bölgesi'nde Anadolu Karaçamı'nın (*Pinus nigra* subsp. *pallasiana*) Verimli Olabileceği Potansiyel Alanların Odunsu Gösterge Türleri. *Ekoloji*, 20(80): 51-58.
- Güner, Ş.T., Çömez, A., Özkan, K., Karataş, R., Çelik, N., 2016. Türkiye'deki karaçam ağaçlandırmalarının verimlilik modellemesi. *Journal of the Faculty of Forestry Istanbul University* 66(1): 159-172. DOI: 10.17099/jffiu.18731
- Hare, P., Cress, W. & van Staden, J. A regulatory role for proline metabolism in stimulating *Arabidopsis thaliana* seed germination. *Plant Growth Regulation* 39, 41–50 (2003). <https://doi.org/10.1023/A:1021835902351>
- Hare, P.D., Cress, W.A., 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regul.* 21, 79–102.
- Hasanuzzaman M, Alam M, Rahman A, Hasanuzzama M, Nahar K, Fujita M (2014) Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Biomed Res Int* 2014:Article ID 757219, 17 pages
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: a review. *Plant signaling & behavior*, 7(11), 1456–1466. <https://doi.org/10.4161/psb.21949>
- He Mei, He Cheng-Qiang, Ding Nai-Zheng. 2018. Abiotic Stresses: General Defenses of Land Plants and Chances for Engineering Multistress Tolerance. *Frontiers in Plant Science*. 9:1771.
- Heath, R.L. ve Packer, L., 1968. Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts. I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
- Hellmann H, Funck D, Rentsch D, Frommer WB (2000) Hypersensitivity of an *Arabidopsis* sugar signaling mutant toward exogenous proline application. *Plant Physiol* 123:779–789
- Hodges, D., DeLong, J., Forney, C. et al. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207, 604–611 (1999). <https://doi.org/10.1007/s004250050524>
- Hoque MA, Banu MNA, Okuma E, Amako K, Nakamura Y, Shimoishi Y, Murata Y (2007) Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt

tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. *J Plant Physiol* 164:1457–1468

Hua-long, Sha Han-jing, Wang Jing-guo, Liu Yang, Zou De-tang, Zhao Hong-wei, Effect of Seed Soaking with Exogenous Proline on Seed Germination of Rice Under Salt Stress, *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, Volume 21, Issue 3, 2014, Pages 1-6, ISSN 1006-8104, [https://doi.org/10.1016/S1006-8104\(14\)60062-3](https://doi.org/10.1016/S1006-8104(14)60062-3).

Hung S-H, Yu C-W, Lin CH (2005) Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Bot Bull Acad Sin* 46:1–10

Hunt, L., Amsbury, S., Baillie, A.L., Movahedi, M., Mitchell, A., Afsharinafar, M., Swarup, K., Denyer, T., Hobbs, J., and Swarup, R. 2017. Formation of the Stomatal Outer Cuticular Ledge Requires a Guard Cell Wall Proline-Rich Protein. *Plant Physiology* 42:715–729.

IPCC, 2019: Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems [P.R. Shukla, J. Skea, E. Calvo Buendia, V. Masson-Delmotte, H.-O. Pörtner, D. C. Roberts, P. Zhai, R. Slade, S. Connors, R. van Diemen, M. Ferrat, E. Haughey, S. Luz, S. Neogi, M. Pathak, J. Petzold, J. Portugal Pereira, P. Vyas, E. Huntley, K. Kissick, M. Belkacemi, J. Malley, (eds.)]. Chapter 3. In press. 249-344.

Isajev, V., Fady, B., Semerci, H. ve Andonovsk, V., 2008, European Black Pine.

ISTA, 2009. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association (ISTA), Zurichstr 50, CH-8303, Bassersdorf, Switzerland.

Jaleel CA, Manivannan P, Wahid A, Farooq M, Somasundaram R, Panneerselvam R. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int J Agric Biol*. 2009;11:100–5.

John T. Kliejunas, Brian W. Geils, Jessie Micales Glaeser, Ellen Michaels Goheen, Paul Hennon, Mee-Sook Kim, Harry Kope, Jeff Stone, Rona Sturrock, and Susan J. Frankel. (2009). Review of Literature on Climate Change and Forest Diseases of Western North America.

Júnior, D.F., Gaion, L., Júnior, G.S., Santos, D., and Carvalho, R. 2018. Drought-Induced Proline Synthesis Depends on Root-to-Shoot Communication Mediated by Light Perception. *Acta Physiologiae Plantarum* 40, (1):15.

Kalıpsız, A. 1963. Türkiye’deki Karaçam (*Pinu nigra* Arnold) Meğcerelerinin Tabi Büyümesi ve Verim Kudreti Üzerine Araştırmalar, Tarım Bakanlığı O.G.M. Yayını, Sıra No: 349, Seri No: 8.

Kamran M, Shahbaz M, Ashraf M, Akram NA. Alleviation of drought- induced adverse effects in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) using proline as a pre-sowing seed treatment. *Pak J Bot* 2009; 41:621-32.

- Karabulut, S. 2001. Eskişehir Yöresi Makinalı Karaçam Ağaçlandırmalarında Arazi Hazırlama Yöntemlerinin 15 Yıllık Gelişimi Üzerindeki Etkileri, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- Kaur, G. and Asthir, B. 2015. Proline: A Key Player in Plant Abiotic Stress Tolerance. *Biologia Plantarum* 59, (4):609–619.
- Kliejunas, John & Geils, Brian & Glaeser, Jessie & Goheen, Ellen & Hennon, Paul & Kim, Mee-Sook & Kope, Harry & Stone, Jeffrey & Sturrock, Rona & Frankel, Susan. (2009). Review of Literature on Climate Change and Forest Diseases of Western North America.
- Kuter, N. and E. Erdogan, 2010. The Evaluation of Cankiri Urban Site in the Frame of Plant Material. *J. Tekirdag Agric. Fac.*, 7 (2): 105-111.
- Lapa, Gauthier & Morandini, Frederic & Ferrat, Lila. (2017). Sap flow and photosynthetic response to climate and drought of *Pinus nigra* in a Mediterranean natural forest. *Trees*. 31. 10.1007/s00468-017-1580-0.
- Laura Marqués , J. Julio Camarero, Antonio Gazol, Miguel A. Zavala. 2016. Drought impacts on tree growth of two pine species along an altitudinal gradient and their use as early-warning signals of potential shifts in tree species distributions *Forest Ecology and Management* 381 (2016) 157–167
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K. J. (2019). The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 8(4), 94. <https://doi.org/10.3390/antiox8040094>
- Le, Q., C. Biradar, R. Thomas, C. Zucca, and E. Bonaiuti, 2016a: Socio-ecological context typology to support targeting and upscaling of sustainable land management practices in diverse global Dryland. In: *Proceedings of the International Congress on Environmental Modeling and Software*, Paper 45, July 2016, Toulouse, France [Sauvage, S., J. Sanchez-Perez and A. Rizzoli (eds.)]. Brigham Young University, Utah, USA.
- Liang T, Zhang J, Tian L, Wang J, Yin Q, Cai X, Liu Y, Zhang S (2013) Effects of exogenous glycine betaine and proline on antioxidant metabolism of flue-cured tobacco under drought stress. *Tob Sci & Technol* 2013(2):68–71
- Littell, J.S., Peterson, D.L., Riley, K.L., Liu, Y. and Luce, C.H. (2016), A review of the relationships between drought and forest fire in the United States. *Glob Change Biol*, 22: 2353-2369. doi:10.1111/gcb.13275
- M. Ashiq Rabbani, Kyonoshin Maruyama, Hiroshi Abe, M. Ayub Khan, Koji Katsura, Yusuke Ito, Kyoko Yoshiwara, Motoaki Seki, Kazuo Shinozaki, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki. Monitoring Expression Profiles of Rice Genes under Cold, Drought, and High-Salinity Stresses and Absciscic Acid Application Using cDNA Microarray and RNA Gel-Blot Analyses. *Plant Physiology* Dec 2003, 133 (4) 1755-1767; DOI: 10.1104/pp.103.025742

- M. Singh, V.P. Singh, G. Dubey, S.M. Prasad Exogenous proline application ameliorates toxic effects of arsenate in *Solanum melongena* L. Seedlings *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 117 (2015), pp. 164-173
- M. Zouari, C.B. Ahmed, W. Zorrig, N. Elloumi, M. Rabhi, D. Delmail, B.B. Rouina, P. Labrousse, F.B. Abdallah Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm (*Phoenix dactylifera* L.) *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 128 (2016), pp. 100-108
- M.M. Islam, M.A. Hoque, E. Okuma, M.N.A. Banu, Y. Shimoishi, Y. Nakamura, Y. Murata Exogenous proline and glycine betaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells *J. Plant Physiol.*, 166 (2009), pp. 1587-1597
- Maestre, F.T. et al., 2012: Plant species richness and ecosystems multifunctionality in global drylands. *Science*, 335, 2014–2017, doi:10.1126/science.1215442.
- Martín-Benito, D., Kint, V., del Río, M., Muys, B., Cañellas, I., 2011. Growth responses of West-Mediterranean *Pinus nigra* to climate change are modulated by competition and productivity: past trends and future perspectives. *For. Ecol. Manag.* 262, 1030–1040
- Mata, Ana & Jorge, Tiago & Pires, Marcel & Antonio, Carla. (2016). *Drought Stress Tolerance in Plants: Insights from Metabolomics*. *Drought Stress Tolerance in Plants, Vol 2 Molecular and Genetic Perspectives* In: Hossain M.A. ve ark. (ed.), Chapter 7, Springer, Switzerland, ISBN 978-3-319-32423-4, 187-216.
- Mattioli R, Falasca G, Sabatini S, Altamura MM, Costantino P, Trovato M (2009) The proline biosynthetic genes P5CS1 and P5CS2 play overlapping roles in *Arabidopsis* flower transition but not in embryo development. *Physiol Plant* 137:72–85. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01261.x>
- Mattioli R, Marchese D, D'Angeli S, Altamura MM, Costantino P, Trovato M (2008) Modulation of intracellular proline levels affects flowering time and inflorescence architecture in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* 66:277–288
- Maurizio Trovato, Giuseppe Forlani, Santiago Signorelli, and Dietmar Funck., 2019. *Proline Metabolism and Its Functions in Development and Stress Tolerance*. *Osmoprotectant-Mediated Abiotic Stress Tolerance*. In: Hossain M.A. ve ark. (ed.), Chapter 2, Springer Nature Switzerland, Switzerland, ISBN 978-3-030-27423-8, 41-72.
- Merwad ARM, Desoky ESM, Rady MM (2018) Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. *Sci Hortic* 228:132–144
- Mika Yamada, Hiromasa Morishita, Kaoru Urano, Noriko Shiozaki, Kazuko Yamaguchi-Shinozaki, Kazuo Shinozaki, Yoshu Yoshida, Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress, *Journal of Experimental*

Botany, Volume 56, Issue 417, July 2005, Pages 1975–1981,
<https://doi.org/10.1093/jxb/eri195>

Millennium Ecosystem Assessment, 2005: Ecosystems and Human Well-Being: Desertification Synthesis. World Resource Institute, Washington, DC, USA, 26 pp.

Mishra AK, Singh VP. Drought modeling—a review. J Hydrol. 2011;403:157–75.

Molinari HBC, Marur CJ, Daros E, De Campos MKF, De Carvalho JFRP, Filho JCB, Pereira LFP, Vieira LGE (2007) Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiol Plant* 130:218–229

Molla, M. R., Ali, M. R., Hasanuzzaman, M., Al-Mamu, M. H., Ahmed, A., Nazim UD-Dowla, M. A. N., Rohman, Md. 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 North America*, 42(1), 73–80. doi:10.15835/nbha4219324

Monika Singh, AK Singh, Nikita Nehal and Nitish Sharma, 2018. Effect of proline on germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2018; 7(1): 2449-2452

Móricz, Norbert & Garamszegi, Balázs & Rasztoivits, Ervin & Bidló, András & Horváth, Adrienn & Jagicza, Attila & Illés, Gábor & Vekerdy, Zoltán & Somogyi, Zoltán & Gálos, Borbála. (2018). Recent Drought-Induced Vitality Decline of Black Pine (*Pinus nigra* Arn.) in South-West Hungary—Is This Drought-Resistant Species under Threat by Climate Change?. *Forests*. 9. 414. 10.3390/f9070414.

Moustakas, M., Sperdoulis, I., Kouna, T. et al. Exogenous proline induces soluble sugar accumulation and alleviates drought stress effects on photosystem II functioning of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant Growth Regul* 65, 315 (2011). <https://doi.org/10.1007/s10725-011-9604-z>

N. Nounjan, P.T. Nghia, P. Theerakulpisut Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes *Plant Physiol.*, 169 (2012), pp. 596-604

Nahar K., Hasanuzzaman M., Fujita M., 2016. *Roles of Osmolytes in Plant Adaptation to Drought and Salinity*. Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies. In: Iqbal N. ve ark. (ed.), Chapter 4, Springer (India), India, ISBN 978-81-322-2616-1, 37-68.

Nakano, Y., Asada, Y., 1981. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts, *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.

- Newbold, T. et al., 2015: Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. Nature, 520, 45–50, doi:10.1038/nature14324.
- Noreen S, Akhter MS, Yaamin T, Arfan M (2018) The ameliorative effects of exogenously applied proline on physiological and biochemical parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) crop under copper stress condition. J Plant Interact 13:221–230
- OGM., 2015. Türkiye Orman Varlığı 2015. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü., Ankara, 36 s.
- Ors, Selda & EKİNCİ, Melek. (2015). Kuraklık stresi ve bitki fizyolojisi. Derim. 32. 237. 10.16882/derim.2015.90060.
- Osakabe Y, Osakabe K, Shinozaki K, Tran LSP. Response of plants to water stress. Front Plant Sci. 2014;5:1–7.
- Özdemir, Ö. L. 1980. Türkiye'nin Önemli Kurak Mıntıkalarında Karçamla Ağaçlandırma Tekniğı Üzerine Bazı Denemeler, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Teknik Bülten No: 100, Ankara.
- Öztürk, K. (2002). Küresel İklim Değışikliğı ve Türkiye'ye Olası Etkileri. Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 22(1).
- P.J. Hanson, J.F. Weltzin Drought disturbance from climate change: response of United States forests Sci. Total Environ., 262 (2000), pp. 205-220
- Pichu Rengasamy, World salinization with emphasis on Australia, Journal of Experimental Botany, Volume 57, Issue 5, March 2006, Pages 1017–1023, <https://doi.org/10.1093/jxb/erj108>
- Posmyk MM, Janas KM (2007) Effects of seed hydropriming in presence of exogenous proline on chilling injury limitation in *Vigna radiata* L. seedlings. Acta Physiol Plant 29:509–517. <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0061-2>
- Prestemon, Jeffrey P.; Kruger, Linda; Abt, Karen L.; Bowker, J. M.; Brandeis, Consuelo; Calkin, David E.; Donovan, Geoffrey H.; Ham, Charlotte; Holmes, Thomas P.; Kline, Jeffrey; Warziniack, Travis. 2016. *Economics and societal considerations of drought*. In: Vose, J.; Clark, J.; Luce, C.; Patel-Weynand, T. Effects of Drought on Forests and Rangelands in the United States: A Comprehensive Science Synthesis. General Technical Report WO-93b. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. p. 253-281.
- Rana, V., Ram, S., & Nehra, K. (2017). Review proline biosynthesis and its role in abiotic stress. International Journal of Agriculture Innovations and Research, 6(3), 2319-1473.
- Rebetez M., Mayer H., Dupont O., Schnindler D., Gartner K., Kropp J., Menzel A., Heat and drought 2003 in Europe: a climate synthesis, Ann. For. Sci. 63 (2006) 567–575.

- Renu J. (2018). Role of Enzymes in Seed Germination. International Journal of Creative Research Thoughts (2320-2882). 6. 1481-1485.
- Saatcioglu F, 1979 Silvikültür Tekniği. İstanbul Üniversitesi, Orman Fakültesi Yayın No: 2490/268, İstanbul.
- Saatçioğlu, F., 1976. Silvikültür I, Silvikültürün Biyolojik Esasları ve Prensipleri, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, Yayın No: 2187/222, İstanbul.
- Saed-Moucheshi, A., Heidari, B., Zarei, M., Emam, Y., and Pessarakli, M. 2013. Changes in Antioxidant Enzymes Activity and Physiological Traits of Wheat Cultivars in Response to Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis in Different Water Regimes. Iran Agricultural Research 31, (2):35–50.
- Sánchez-Salguero, R., Camarero, J.J., Dobbertin, M., Fernández-Cancio, Á., Vilà-Cabrera, A., Manzanedo, R.D., Zavala, M.A., Navarro-Cerrillo, R.M., 2013. Contrasting vulnerability and resilience to drought-induced decline of densely planted vs. natural rear-edge Pinus nigra forests. Forest Ecol. Manage. 310, 956–967.
- Sayed-lisar SY, Motafakkerazad R, Hossain MM, Rahman IMM. 2012. *Water stress in plants: causes, effects and responses*, Water Stress. In: Rahman I. M. M. , (eds). Introductory Chapter, InTech, ISBN 978-953-307-963-9. 1-16
- Sayed-Lisar, S. Y. & Bakhshayeshan-Agdam, H. (2016). *Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance*. Drought Stress in Plants: Causes, Consequences, and Tolerance. In: Hossain, M. A. (ed.), Chapter 1, Springer, Springer International Publishing Switzerland 2016. Switzerland, ISBN: 978-3-319-28897-0, 1-16.
- Schulze, E.D., Beck, E. ve Müller-Hohenstein, K., 2005. Plant Ecology, ISBN: 978-3-540-20833-4, Birinci Baskı, Bölüm 1.1., Springer
- Seki SK, Reddy KR, Li J. Absciscic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. Frontiers in Plant Science. 2007;7:571
- Semerci, A., Çelik, O., Şanlı, B., Eczacıbaşı, B., Şahin, Ö, 2004. Drought induced damages and mortalities in Pinus nigra Arn. subsp. pallasiana (Lamb.), Pinus sylvestris L. and Abies cilicica (Ant. et Kotschy.) Carr. species in Semiarid Central Anatolia Region of Turkey. Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forests, 17-19 November 2004, Freiburg, Germany.
- Shahbaz, M., Mushtaq, Z., Andaz, F., Masood, A., 2013. Does proline application ameliorate adverse effects of salt stress on growth, ions and photosynthetic ability of eggplant (Solanum melongena L.). Sci.Hortic.164,507–511.
- Shahid MA, Balal RM, Pervez MA, Abbas T, Aqeel MA, Javaid MM, Garcia-Sanchez F (2014) Exogenous proline and proline-enriched Lolium perenne leaf extract protects against phytotoxic effects of nickel and salinity in Pisum sativum by altering polyamine metabolism in leaves. Turk J Bot 38:914–926

- Shakeri, Ehsan & Mozafari, Ali & Sohrabi, F. & Saed-Moucheshi, Armin. (2019). Role of Proline and Other Osmoregulatory Compounds in Plant Responses to Abiotic Stresses.
- Shao HB, Chu LY, Jaleel CA, Zhao CX. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *C R Biol.* 2008;331:215–25.
- Shevyakova, N. I., Bakulina, E. A., & Kuznetsov, V. V. (2009). Proline antioxidant role in the common ice plant subjected to salinity and paraquat treatment inducing oxidative stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 56(5), 663-669.
- Singh, M., Singh, A. K., Nehal, N., & Sharma, N. (2018). Effect of proline on germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 2449-2452.
- Slama I, Abdelly C, Bouchereau A, Flowers T, Saviouré A (2015) Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of Botany* 115(3):433–447
- Smart, R.E., Bingham, G.E., 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiol.* 53, 258–260.
- Sofo, A.; Scopa, A.; Nuzzaci, M.; Vitti, A. Ascorbate Peroxidase and Catalase Activities and Their Genetic Regulation in Plants Subjected to Drought and Salinity Stresses. *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 13561-13578.
- Srivastava, A., Gupta, M., & Srivastava, S. (2017). Os (VIII) Catalyzed Oxidative Cleavage of Pyrrolidine Ring in L-Proline by Sodium Periodate (NaIO₄) in Alkaline Medium.
- Stevens, G. C., Enquist, B. J. 1998. Macroecological limits to the abundance and distribution of *Pinus*. *Ecology and Biogeography of Pinus*. Richardson, D. M., (eds.), Cambridge University Press, pp. 183-190.
- Şimşek, Y., Erkuloğlu, Ö. S., Tosun, S. 1995. Türkiye’de Karaçam (*P. nigra* Arn. ssp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) Orijin Denemelerinin İlk Sonuçları, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Teknik Bülten No: 247, Ankara.
- Taiz L, Zeiger E. 2010. Responses and adaptations to abiotic stress. In: *Plant Physiology*, Fifth Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc. pp. 755-778. ISBN 978-0-87893-866-7.
- Taiz L, Zeiger E. *Plant physiology*. 5th ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates; 2010.
- Tilki, F. (2002). Türkiye’de Sarıçam (*Pinus Sylvestris* L.) Tohum Üzerine Teknolojik Araştırmalar. Doktora Tezi (Yayımlanmamış), İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği ABD, İstanbul, 152 s.
- Topacoglu, O., Sevik, H., Akkuzu, E., 2016. Effects of water stress on germination of *Pinus nigra* Arnold. seeds. *Pak. J. Bot.* 48, 447–453.

- Trovato M, Maras B, Linhares F, Costantino P (2001) The plant oncogene rolD encodes a functional ornithine cyclodeaminase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:13449-13453. <https://doi.org/10.1073/pnas.231320398>
- Tüfekçioğlu, A , Tüfekçioğlu, M . (2018). Kuraklık ve orman ekosistem dinamikleri etkileşimi . *Turkish Journal of Forestry* , 19 (1) , 103-108 . DOI: 10.18182/tjf.342931
- Türkeş, M., 2013: İklim Verileri Kullanılarak Türkiye'nin Çölleşme Haritası Dokümanı Hazırlanması Raporu. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Çölleşme ve Erozyonla Mücadele Genel Müdürlüğü Yayını, Ankara, Turkey, 57 pp.
- Türkeş, M., M. Turp, T. An, N. Ozturk, and M.L. Kurnaz, 2019: Impacts of climate change on precipitation climatology and variability in Turkey. In: *Water Resources of Turkey* [Harmancioglu, N.B. and D. Altinbilek, (eds.)]. Springer International Publishing, New York, USA. Pages 467–491.
- Türkeş. M., 1999: Vulnerability of Turkey to desertification with respect to precipitation and aridity conditions. *Turkish J. Eng. Environ. Sci.*, 23, 363–380.
- UN. 2017. United Nations Strategic Plan for Forests 2017–2030. In: United Nations Department of Economic and Social Affairs – Forests [online]. New York, USA. [Cited 5 January 2020]. www.un.org/esa/forests/documents/un-strategic-plan-for-forests-2030/index.html
- Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska, E., Herka, K., 1991. Elicitation of Defense Responses in Bean Leave By Botrytis cinerea Polygalacturanase, *Acta Physiologiae Plantarum*, 13, 43-50.
- Velikova, V., Yordanov, I. ve Edreva, A., 2000, Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-treated Bean Plants: Protective Roles of Exogenous Polyamines, *Plant Science*, 151, 59-66.
- Vennetier, M., Vila, B., Keller, T., Eryuan, L., Guibal, F., 2004. Impact of 2003 climate conditions on radial growth and state of health according to soil water balance for the main coniferous species of French Mediterranean area. Impacts of the Drought and Heat in 2003 on Forests, 17-19 November, 2004, Freiburg, Germany.
- Verbruggen N, Hermans C (2008) Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids* 35:753–759
- Verma S, Nizam S, Verma PK. Biotic and abiotic stress signalling in plants. *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective*. 2013;1:25-49
- Vose, James & Miniati, Cheryl & Luce, Charles & Asbjornsen, Heidi & Caldwell, Peter & Campbell, John & Grant, Gordon & Isaak, Daniel & Loheide, Steven & Sun, Ge. (2016). Ecohydrological implications of drought for forests in the United States. *Forest Ecology and Management*. 380. 10.1016/j.foreco.2016.03.025.

- Wang G et al (2014) Proline responding1 plays a critical role in regulating general protein synthesis and the cell cycle in Maize. *Plant Cell* 26:2582–2600. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.125559>
- White, R., and J. Nackoney, 2003: *Drylands, People, and Ecosystem Goods and Services: A Web-Based Geospatial Analysis*. World Resource Institute, Washington, DC, USA, 40 pp.
- Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inzé, D. and Van Camp, W. (1997), Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. *The EMBO Journal*, 16: 4806-4816. doi:10.1093/emboj/16.16.4806
- Wutipraditkul N, Wongwean P, Buaboocha T (2015) Alleviation of salt-induced oxidative stress in rice seedlings by proline and/or glycinebetaine. *Biol Plant* 59:547–553
- Yan, Z., Guo, S., Shu, S., Sun, J., Tezuka, T.: Effects of proline on photosynthesis, root reactive oxygen species (ROS) metabolism in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.) under NaCl stress. - *Afr. J. Biotechnol.* 10: 18381-18390, 2011.
- Yoshida, Y., Kiyosue, T., Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. *Plant Cell Physiol.* 38, 1095–1102.
- Yu, X., Lin, Y., Fan, W., Lu, M., 2017. The role of exogenous proline in amelioration of lipid peroxidation in rice seedlings exposed to Cr(VI). *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 123, 106–112.
- Zare M, Azizi MH, Bazrafshan F. Effect of drought stress on some agronomic traits in ten barley (*Hordeum vulgare*) cultivars. *Tech J Eng Appl Sci.* 2011;1:57–62.
- Zhu J-K (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol* 53:247–273
- Zlatev Z, Lidon FC. An overview on drought induced changes in plant growth, water relations and photosynthesis. *Emir J Food Agric.* 2012; 24:57–72.

ÖZGEÇMİŞ

Fotoğraf

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KILIÇ, Burak
Uyruğu : T. C.
Doğum tarihi ve yeri : 13.07.1988 / Trabzon
Medeni hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 535 472 46 76
Faks :
e-posta : kilicburak@outlook.com

Eğitim

Derece

Eğitim Birimi

Mezuniyet Tarihi

Lisans

Karadeniz Teknik Üniversitesi

.....

Yayınlar

.....

.....

Tez Yazım Şablonunun Alındığı	Karar Tarihi	Oturum No	Karar No
Fen Bilimleri Enstitüsü Kurulu	21.04.2016	2016-5	1
Artvin Çoruh Üniversitesi Üniversite Senatosu	11.05.2016	2016-4	6
Tez Yazım Şablonunda Yapılan Değişikliklerin	Karar Tarihi	Oturum No	Karar No
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu			
Artvin Çoruh Üniversitesi Üniversite Senatosu			