



Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

Şeker Otu (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Bitkisinde Kuraklık Stresinin Fiziyojik ve Biyokimyasal Etkileri

 Vesile YALÇIN ^a,  Hülya TORUN ^{b,*},  Engin EROĞLU ^c,  Elmas Ülkühan USTA ^d

^a Biyoloji Bölümü, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

^b Biyosistem Mühendisliği Bölümü, Ziraat Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

^c Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Orman Fakültesi, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

^d Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Düzce Üniversitesi, Düzce, TÜRKİYE

* Sorumlu yazarın e-posta adresi: hulyatorun@duzce.edu.tr

DOI: 10.29130/dubited.1109502

ÖZ

Kuraklık son yıllarda endişe verici bir şekilde artmakta olup tarımsal ürünlerin verimliliğini sınırlandırmaktadır. Bu durum, kurak koşullara dayanıklı bitkilerin tespit edilmesine yönelik araştırmaların önemini artırmıştır. Bu çalışmada, *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisine ait iki çeşidin (Yalova ve STF-4) kuraklık stresi altında fiziyojik ve biyokimyasal tepkileri araştırılmıştır. Bitkiler kontrollü sera koşullarında 3 ay boyunca yetiştirilmiş ve sonrasında 3 hafta boyunca kuraklığa maruz bırakılmıştır. Üç hafta sonunda hasat edilen bitkilerden yaprak uzunluğu, ozmotik potansiyel, nisbi su içeriği (RWC), klorofil floresansı (Fv/Fm), prolin miktarı, hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarı ve lipid peroksidasyonu seviyesi ölçülmüştür. *S. rebaudiana* bitkisinin her iki çeşidinde de kuraklık stresi altında kontrol grubundaki bitkiler ile kıyaslandığında yaprak uzunluğunda azalma belirlenirken en çok azalma Yalova çeşidinde (%25,7) saptanmıştır. Bununla birlikte, her iki çeşit de kuraklık stresi altında su durumlarını korumuşlardır. Fv/Fm değeri STF-4 çeşidinde kuraklıktan etkilenmezken Yalova çeşidinde kontrole oranla düşüş göstermiştir. Prolin miktarında ise çeşitler arasında fark kaydedilmiştir. Kurak koşullar altında STF-4 çeşidinde prolin miktarında değişim gözlenmezken Yalova çeşidinde %42,9 artış meydana gelmiştir. Diğer taraftan, kuraklık stresi, yapraklardaki lipid peroksidasyon seviyesini önemli ölçüde artırmıştır. Bu artış, Yalova çeşidinde %41,2 iken STF-4 çeşidinde %21,1 olarak belirlenmiştir. İki çeşit arasında kuraklık stresine karşı farklı tepki H₂O₂ içeriğinde gözlenmiştir. Kuraklık stresi altında H₂O₂ miktarı Yalova çeşidinde %42,7 oranında azalırken STF-4 çeşidinde %5,5 artmıştır. Sonuç olarak, *S. rebaudiana* bitkisinin STF-4 çeşidinin ölçülen parametreler ışığında kuraklığa daha toleranslı olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Abiyotik stres, Kuraklık, *Stevia rebaudiana*, Şeker otu

Physiological and Biochemical Effects of Drought Stress in *Stevia rebaudiana* Bertoni

ABSTRACT

Drought has been limiting the productivity of agricultural crops by increasing alarmingly in recent years. This situation has increased the importance of research on the determination of plants resistant to arid conditions. In this study, two cultivars (Yalova and STF-4) of *Stevia rebaudiana* Bertoni plant were investigated physiological

*Bu çalışma 'Permakültür bahçelerinde kullanım potansiyeli olan *Stevia rebaudiana* Bertoni ve *Hypericum perforatum* L. Bitkilerinin Kuraklık Stresi Altında Büyüme Koşullarının Belirlenmesi' isimli yüksek lisans tezinden türetilmiştir.

Geliş: 28/04/2022, Düzeltme: 08/05/2022, Kabul: 12/05/2022

1165

and biochemical responses of under drought stress. Plants were grown in controlled greenhouse conditions for 3 months and then exposed to drought for 3 weeks. The plants harvested after three weeks were measured leaf length, osmotic potential, relative water content (RWC), chlorophyll fluorescence (Fv/Fm), proline amount, hydrogen peroxide (H₂O₂) amount and lipid peroxidation level. In both cultivars of *S. rebaudiana* plant, when compared to the plants in the control group under drought stress, while a decrease in leaf length was detected, the highest decrease was found in Yalova cultivar (25.7%). However, both cultivars maintained their water status under drought stress. While Fv/Fm value was not affected by drought in STF-4 cultivar, Yalova cultivar decreased compared to the control. In the amount of proline was a difference between the cultivars. While STF-4 cultivar under arid conditions no change was observed in the amount of proline, increase of 42.9% occurred in Yalova cultivar. On the other hand, drought stress significantly increased the lipid peroxidation level in leaves. While this increase was 41.2% in Yalova cultivar, it was 21.1% in STF-4 variety. Differential response to drought stress between the two cultivars, was observed in H₂O₂ content. The amount of H₂O₂ under drought stress, while decreased by 42.7% in Yalova cultivar it increased by 5.5% in STF-4 variety. As a result, in the light of the measured parameters the STF-4 cultivar of *S. rebaudiana* plant was revealed that more drought tolerant.

Keywords: Abiotic stress, Drought, *Stevia rebaudiana*, *Stevia*

I. GİRİŞ

Stevia cinsi dünyanın farklı yerlerinde kültürü yapılan sağlık ve gıda sektörü açısından önemli bir endüstri bitkisidir [1]. *Stevia rebaudiana* Bertoni Asteraceae (Compositae) familyasına ait çok yıllık, otsu, çalı formunda önemli bir tıbbi ve aromatik bitki türüdür [2-4]. Yaprak içeriğindeki steviol glikozitler ile karakterize edilen bitki, tatlı yaprak, tatlı ot ve bal yaprak olarak da bilinmektedir [5-7]. Steviol glikozitler, sakkarozdan yaklaşık 250-350 kat daha tatlı olup [8], kalorisiz doğal tatlandırıcı özelliğe sahiptir [3]. Bu sebeple, gıda maddelerinde en çok tercih edilen tatlandırıcılardan biri olacağı varsayılmaktadır [9]. *Stevia* bitkisi steviol glikozitlerin yanı sıra flavonoid, fenolik bileşik ve alkaloid içermesinden dolayı tıbbi açıdan da büyük bir önem taşımaktadır [10,11]. *Stevia* bitkisinin biyoaktif bileşenlerinin kan basıncını ve kan şekerini düşürücü [8], bağışıklığı iyileştirici [12], kardiyovasküler ve renal sistemleri indükleyici [13] ve antitümör, antikaryojenik, antiinflamatuvar [6] etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Sıcak, soğuk, tuzluluk, kuraklık ve ağır metal toksisitesi gibi çeşitli abiyotik stres faktörleri bitkilerin büyümesini ve gelişmesini sınırlandırarak sürdürülebilir tarım açısından tehdit oluşturmaktadır [14]. Özellikle kuraklık, bitkinin yeterli su alımını engelleyerek büyümeyi, besin emilimini, gen ifadesini, ürün verimini ve kalitesini olumsuz etkilemektedir [15]. Kuraklık, bitkide lipid, protein ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyerek membran kararlılığı, stoma iletkenliği, transpirasyon, fotosentez ve solunum gibi pek çok fizyolojik olayın aksamasına neden olmaktadır [16-21]. Dolayısıyla, bitkiler yaşamları için uygun olmayan koşullar altında yaşadıkları stres durumunda morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal bir takım stratejiler geliştirmektedir [19]. Sitoplazmada çözünebilir şeker, prolin gibi ozmotik düzenlenmenin sağlanmasında görev alan ozmolitlerin sentezi, antioksidan sistemin uyarılması gibi önemli ve etkili mekanizmalar bitkilerin kuraklık stresi ile mücadele yöntemlerindedir [5,22].

İklim değişikliği nedeniyle daha şiddetli ve uzun süren hava sıcaklıkları kurak alanların yayılmasına neden olmaktadır [23]. Bu durum kuraklığa dayanıklı bitki türlerinin keşfedilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Kuraklık stresinin *Mentha piperita* L. [24], *Lavandula latifolia* Medik. [25], *Ocimum basilicum* L.[26] ve *Thymus vulgaris* L. [27] gibi tıbbi ve aromatik bitkiler üzerindeki etkisi ile ilgili çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Ancak *Stevia* üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde, çalışmalar, bitkinin kimyasal bileşimi, sekonder metabolit içeriği ve farmakolojik özellikleri üzerinde yoğunlaşmaktadır. Bu çalışmanın amacı, kuraklık stresi altında yetiştirilen *Stevia rebaudiana* çeşitlerinde stresin meydana getirdiği fizyolojik ve biyokimyasal etkileri ortaya koymaktır. Bu bağlamda, yaprak uzunluğu, ozmotik potansiyel, nispi su içeriği (RWC), klorofil floresansı (Fv/Fm), prolin miktarı, hidrojen peroksit (H₂O₂) içeriği ve lipid peroksidasyonu (TBARS) ölçülerek bitkinin kuraklığa karşı tolerans durumu aydınlatılmaya çalışılmıştır.

II. MATERYAL VE METOT

A. BİTKİ MATERYALİ VE BÜYÜME ŞARTLARI

Çalışmada kullanılan *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisine ait tohumlar Manisa-Akhisar ve Yalova illerinden temin edilmiştir. Çalışma, Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi bünyesinde bulunan tam ve kontrollü sera ortamında (18-25 °C ve %60-70 nemde) gerçekleştirilmiştir. Ekim öncesinde tohumlar 15 dakika boyunca %5'lik sodyum hipoklorit solüsyonunda bekletilmiş ardından tohumlar distile su ile yıkanmıştır. Sterilizasyonun ardından tohumlar torf:perlit:kum (1:1:1) karışımının yer aldığı viyollere ekilmiştir. Ekimden 3-4 gün sonra çimlenme gözlemlenmiş ve çimlenmeden itibaren 15 gün sonra homojen fideler seçilerek saksılara şaşırtılmıştır. Toplamda 90 gün boyunca yetiştirilen bitkiler 21 gün boyunca kuraklığa bırakılmıştır. Kontrol bitkilerine iki üç günde bir sulama yapılırken, kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde sulama işlemi yapılmamıştır. Hasat öncesi kontrol ve kuraklık stresi altındaki bitkiler fotoğraflanmış ve cetvel ile yaprak uzunlukları ölçülmüştür. 21 gün sonra hasat edilen yapraklar sıvı azot ile (-196 °C) fikse edilerek analizler başlayıncaya kadar -80 °C de muhafaza edilmiştir.

B. YÖNTEM

B. 1. Nisbi Su İçeriği (RWC)

Yapraklara ait nisbi su içeriği Smart ve Bingham [28] tarafından belirlenen yöntemle ölçülmüştür. Hem kontrol hem kuraklık stresi altındaki bitkilerin yapraklarının taze ağırlığı tartıldıktan sonra yapraklar distile su içerisinde bekletilerek turgid ağırlıkları belirlenmiştir. Ardından, yaprakların kuru ağırlığının belirlenmesi için 70 °C'de 72 saat bekletilerek ağırlıkları kaydedilmiştir. Elde edilen veriler aşağıda yer alan formülde yerine konularak RWC değerleri hesaplanmıştır:

$$RWC(\%) = [(Taze ağırlık - Kuru ağırlık) / (Turgid ağırlık - Kuru ağırlık)] \times 100$$

B. 2. Ozmotik Potansiyel

Ozmotik potansiyel buhar basıncı ozmometresi cihazı ile ölçülmüştür. Her bir deneme grubundan eşit miktarda alınan yaprak örnekleri 2ml'lik endoportta cam bağıet yardımı ile ezilerek 5000 rpm'de 5 dk satrifüj edilmiştir. Sonuçlar Santa-Cruz ve ark. nın [29] kullandığı yöntemle hesaplanmıştır.

B. 3. Klorofil Floresansı (Fv/Fm)

Fotosistem II fotokimyasının maksimum kuantum verimliliğini (Fv/Fm) belirlemek amacı ile florometre cihazı yardımıyla ölçüm gerçekleştirilmiştir. Ölçüm öncesi kontrol ve kuraklık stresi altındaki yaprakların klips yardımıyla kapatılarak 20 dakika boyunca karanlığa adapte olmaları sağlanmıştır. Süre bitiminde cihaz yardımıyla Fv/Fm değerleri kaydedilmiştir.

B. 4. Prolin İçeriği

Serbest prolin içeriği Bates vd. [30]'e göre belirlenmiştir. Kontrol ve kuraklık stresi altında yetiştirilen bitkilerin yapraklarından 0,5 gr tartılarak %3'lük sülfosalisilik içerisinde homojenize edildikten sonra süzölmüştür. Süzölen özütten 2 mL alınarak üzerine 2 mL asit-ninhidrin çözeltisi ve 2 mL glasiyel asetik asit eklenmiş ve karışım 95 °C'de 1 saat bekletilmiştir. Soğuyan karışıma 4 mL toluen ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Ölçümler spektrofotometre cihazı ile 520 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Prolin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar µmol prolin g⁻¹ taze ağırlık olarak ifade edilmiştir.

B. 5. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) İÇeriği

Hidrojen peroksit (H₂O₂) içeriği Liu ve ark. nın [31] belirlediği yöntemle lmlmştr. Kontrol ve kuraklık stresi altında yetiştirilen bitkilerin yapraklarından 0,5 gr tartılarak %1'lik trikloroasetik asit içerisinde homojenize edildikten sonra santrifüjlenmiştir. ztten 1 mL alınarak üzerine 0,5 mL %0,1'lik TiCl₄ ilave edilmiştir. Spektrofotometre cihazı ile 410 nm dalga boyunda absorbens değeri lmlenerek sonuçlar μmol/g H₂O₂ olarak ifade edilmiştir.

B. 6. Lipid Peroksidasyonu

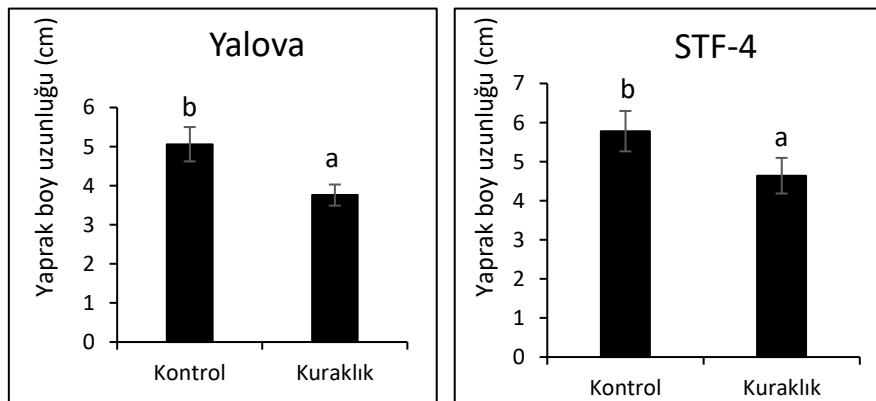
Lipid peroksidasyonu miktarı tiobarbitürik asit reaktif maddelerinin (TBARS) lmlmesiyle elde edilmiştir [32]. Kontrol ve kuraklık stresi altında yetiştirilen bitkilerin yapraklarından 0,5 gr tartılarak %0,1'lik trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. zt %0,5 tiyobarbitürik asit içeren %20 TCA ile karıştırılarak 90 C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında karışım buzda bekletilerek reaksiyon durdurulmuştur. Spektrofotometre cihazı ile 532 ve 600 nm dalga boylarında absorbens değerleri lmlmştr.

B. 7. İstatiksel Analizler

Kontrol ve kuraklık stresi altındaki bitki örneklerinden gerçekleştirilen her bir deneme 2 kez biyolojik ve 3 kez teknik tekrar (n = 6) olacak şekilde yapılmıştır. Denemelerden elde edilen tüm veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One way ANOVA) ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan Testi ile karışlaştırılmıştır. *P* < 0,05 olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir. Bütün şekillerdeki hata çubukları ortalama ± standart sapmayı gösterecek şekilde belirtilmiştir.

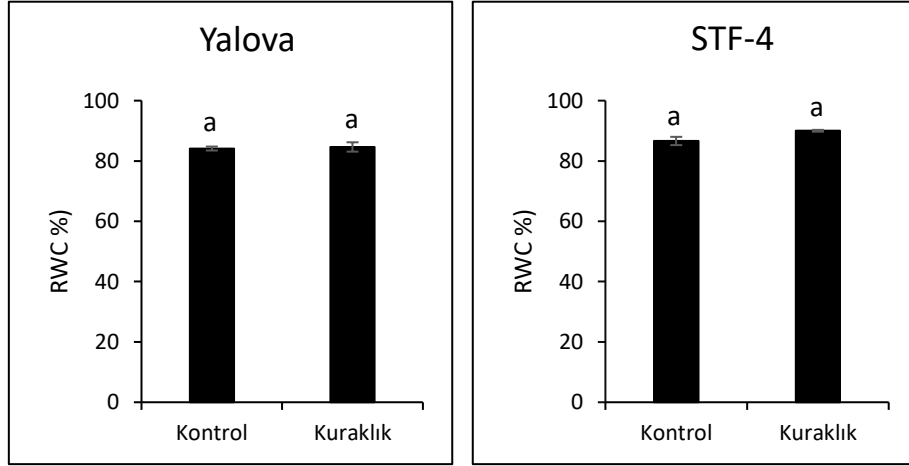
III. BULGULAR VE TARTIşMA

Su kıtlığı bitkilerin tüm fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerini doğrudan ya da dolaylı olarak etkilemektedir [33]. Bu çalışmada elde edilen veriler kuraklık stresi altında yetişen *Stevia rebaudiana* bitkisinin fizyolojisinin değiştiği ortaya konulmuştur. Kuraklığın en önemli etkileri hüresel su miktarının azalması sonucu turgorun azalması ile sonuçlanan değişimlerdir. *S. rebaudiana* bitkisinin her iki çeşidinde de kuraklık stresi bitkinin morfolojisinde önemli indirgemelere neden olmuştur. Kuraklık stresi yaprak boy uzunluğunu her iki çeşitte de azaltmıştır (şekil 1). Ancak, kontrol bitkileri ile kıyaslağında uzunluk %25,7'lik azalma ile Yalova eşidinde tespit edilmiştir. Sonuçlarımız, polietilen glikol (PEG) uygulaması altında yetiştirilen *S. rebaudiana* ile benzer sonuçlar göstermektedir [34]. Ayrıca, *Triticum aestivum* [35], *Zea mays* [36], *Cephalaria duzceensis* [37], *Seseli resinosum* [37] ve *Capsicum annuum* [38] bitkilerinde de kuraklık stresi büyüme parametrelerinde azalmaya neden olmuştur.



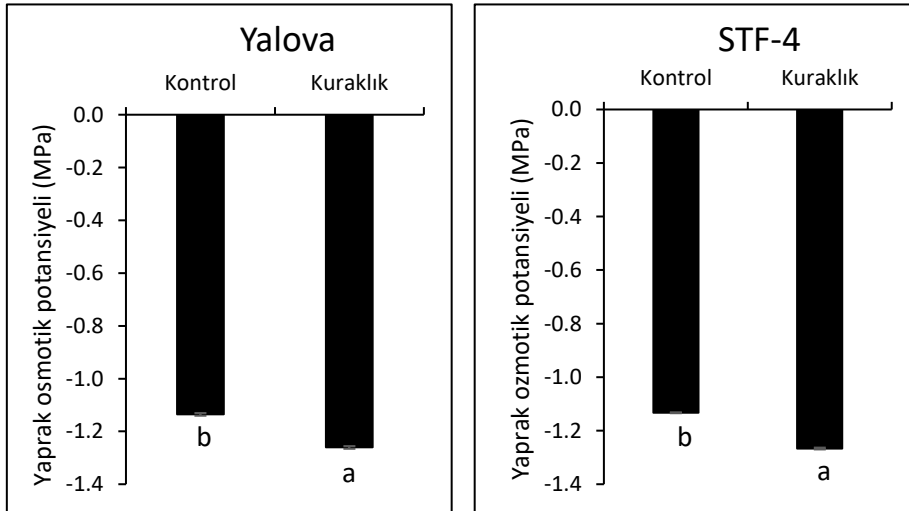
şekil 1. Kuraklık stresi altındaki *Stevia rebaudiana* eşitlerinde (Yalova ve STF-4) yaprak boy uzunluğu

Kuraklık stresinin bitkinin içsel su durumuna olan etkisini belirlemek için yaprak nisbi su içeriği (RWC) ölçülmüştür (Şekil 2). *S. rebaudiana*'nın her iki çeşidinde de kuraklık stres altında RWC miktarları kontrol bitkileri ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemli ölçüde ($P < 0,05$) değişim göstermemiştir. Bu durum, stres koşullarında bitkinin bünyesindeki suyu koruyabildiğinin, yani bitki tarafından alınan su ile transpirasyon ile kaybedilen su arasında bir denge kurulduğunun göstergesi olduğu düşünülmektedir. Çalışma sonuçlarımıza paralel olarak Kıran ve ark. nın [39] kurak koşullarda yetiştirilen dört farklı kavun genotipinde Midyat ve Şemame genotiplerinin yaprak su potansiyellerini önemli ölçüde korudukları kaydedilmiştir.



Şekil 2. Kuraklık stresi altındaki *Stevia rebaudiana* çeşitlerinde (Yalova ve STF-4) yaprak nisbi su içeriği

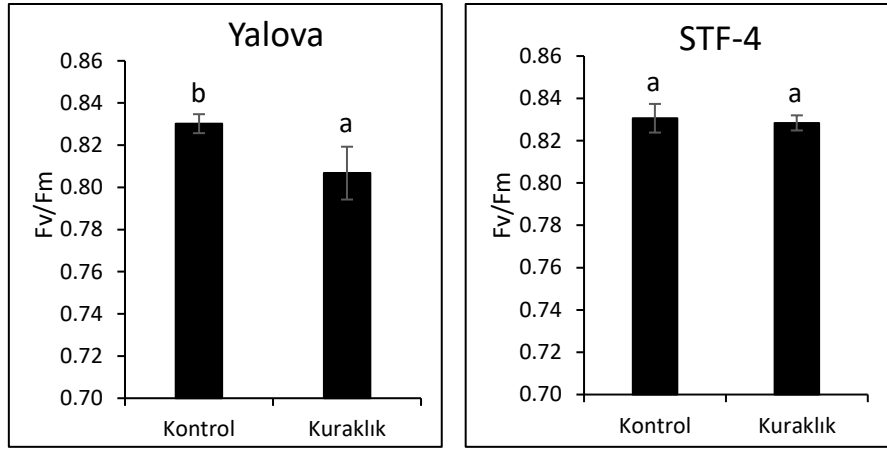
Nisbi su içeriği kuraklık stresi altında önemli değişim göstermezken yaprak ozmotik potansiyeli her iki *S. rebaudiana* çeşidinde de azalmıştır (Şekil 3). Kontrol bitkileri ile kıyaslandığında bu düşüş Yalova çeşidinde %11,1 iken STF-4 çeşidinde %11,8 olarak belirlenmiştir. Çalışmamızla benzer şekilde farklı karpuz çeşitlerinin kuraklık toleranslarının belirlendiği bir çalışmada Splendit çeşitinin yaprak ozmotik potansiyelinin azaldığı tespit edilmiştir [40].



Şekil 3. Kuraklık stresi altındaki *Stevia rebaudiana* çeşitlerinde (Yalova ve STF-4) yaprak ozmotik potansiyeli

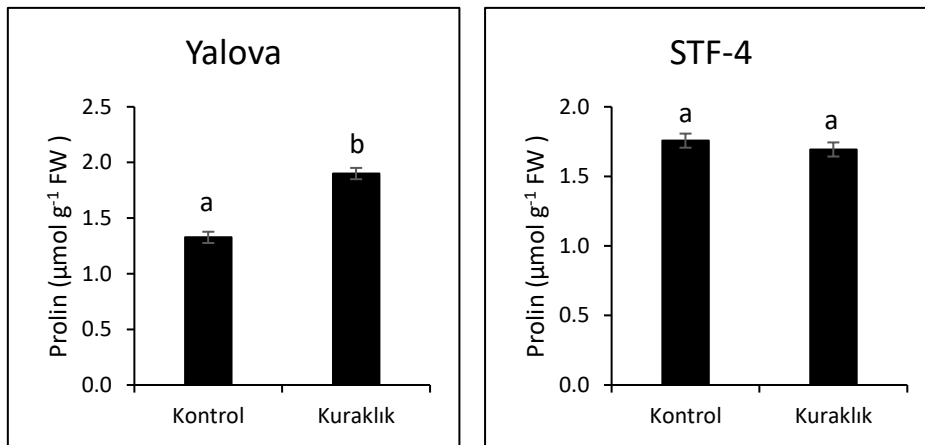
Fotosistem II'nin fotokimyasal etkinliğinin belirlenmesi çevresel streslere karşı bitkilerin tolerans derecelerinin ölçülmesinde kullanılan bir belirteçdir. Bu kapsamda çalışmamızda, kuraklık stresi altında yetişen *Stevia* çeşitlerinde Fv/Fm miktarları ölçülmüştür (Şekil 4). STF-4 çeşidinde kuraklık stresi Fv/Fm içeriğini istatistiksel olarak önemli ölçüde ($P < 0,05$) değiştirmezken Yalova çeşidinde Fv/Fm kontrol bitkileri ile kıyaslandığında %2,8 azalmıştır. Benzer şekilde, Hijahashemi ve Sofu

[41]'nin yaptığı çalışmada PEG-teşvikli kuraklık stresi *S. rebaudiana*'da Fv/Fm değerini düşürmüştür. Bu sonuçlar STF-4 çeşidinin Yalova çeşidine göre kuraklık stresine karşı PSII'yi daha iyi koruduğunu göstermektedir.



Şekil 4. Kuraklık stresi altındaki *Stevia rebaudiana* çeşitlerinde (Yalova ve STF-4) fotosentetik verim (Fv/Fm)

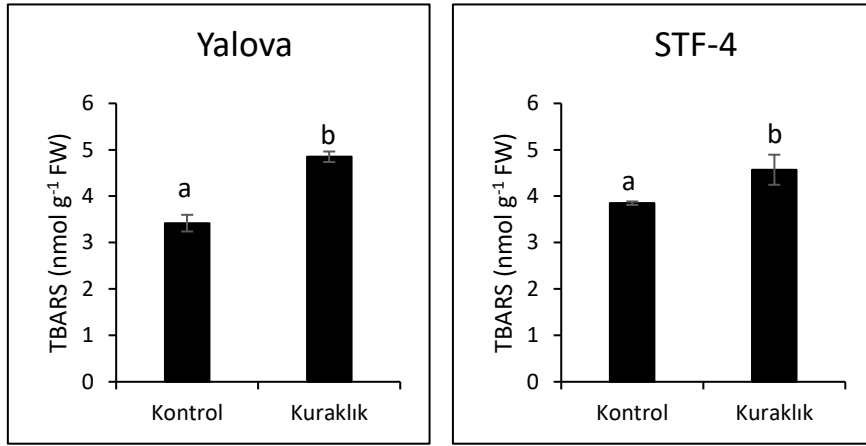
Stres altındaki bitkilerde ozmotik dengenin sağlanması ve hücrel yapıların korunması için amino asitler, şeker alkoller ve glisin betain gibi pek çok ozmolit sentezlenmektedir [42]. Kuraklık stresinde bitkilerde en çok biriktirilen ozmolitlerden biri de prolindir. Prolin miktarındaki artış ozmotik ayarlamaya katkı sağlamanın yanı sıra membranların, proteinlerin ve enzimlerin kararlılığını da sağlamakta ve antioksidan gibi görev yapmaktadır [43]. Çalışmamızda, *Stevia* çeşitleri olan Yalova ve STF-4'ün kuraklık stresi altında prolin birikiminde meydana gelen değişimler Şekil 5'te gösterilmiştir. Prolin miktarı kuraklık stresi altındaki STF-4 çeşidinde kontrol bitkileri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli ölçüde ($P < 0,05$) değişmemiştir. Diğer taraftan, Yalova çeşidinde ise prolin miktarı %42,9 artmıştır. Bulgularımızla benzer şekilde, *Oryza sativa* [44], *Populus euphratica* [45] ve *Quinoa* sp. [46] bitkilerinde de kuraklık stresi prolin miktarında artışa neden olmuştur. Stres altındaki prolin miktarında meydana gelen değişimler bitkinin türüne, stres çeşidine ve stresin yoğunluğuna bağlı olarak değişmektedir [47]. Örneğin, *Cenchrus pauciflorus* bitkisine hafif, orta ve şiddetli kuraklık stresi uygulandığında hafif stres altındaki bitkilerde prolin miktarının kontrol bitkileri ile benzer durum gösterdiği rapor edilmiştir [48]. Yalova çeşidinde kuraklık stresi altında prolin seviyesindeki artış, bu çeşitte stresinin ozmotik etkilerini azaltmada yardımcı olmuş ve bu sayede su durumunu korumuş olabilir.



Şekil 5. Kuraklık stresi altındaki *Stevia rebaudiana* çeşitlerinde (Yalova ve STF-4) prolin miktarı

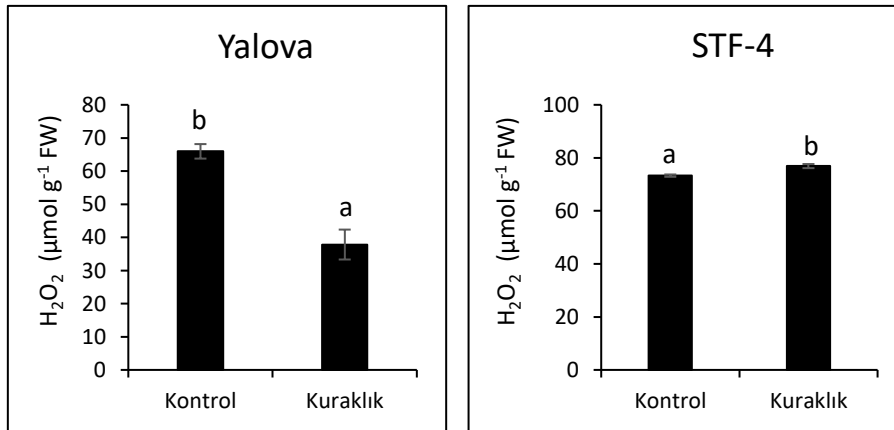
Lipid peroksidasyonu, stresin neden olduğu hasarın en önemli göstergelerinden birisidir. Çalışmamızda, kuraklık stresinin *Stevia* çeşitlerinde meydana getirmiş olduğu hasar tiyobarbitürik asit

reaktif maddelerinin (TBARS) miktarındaki değişimler ölçülerek belirlenmiştir. TBARS içeriğindeki değişimler, membran lipidlerinin peroksidasyon seviyelerinin, kuraklığın neden olduğu oksidatif hasarın şiddetinin ve bitkinin strese toleransının değerlendirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Kuraklık stresi altında her iki *Stevia* çeşidinde de lipid peroksidasyonu seviyesi artmıştır (Şekil 6). Bu artış Yalova çeşidinde %41,2 iken STF-4 çeşidinde %21,1 olarak belirlenmiştir. Kontrol bitkileri ile kıyaslandığında stres altındaki STF-4 çeşidindeki düşük TBARS miktarı, Yalova çeşidine göre kuraklığa toleranslı olduğunun ve bu durumun da STF-4 çeşidinde membranların işlevselliğinin korunduğunun göstergesi olabilir. Literatürde çalışmamıza benzer bulgular, *Triticum aestivum* [49], *Mentha pulegium* [50] ve *Gnetum gnemon* [51] gibi pek çok bitkide kaydedilmiştir.



Şekil 6. Kuraklık stresi altındaki *Stevia rebaudiana* çeşitlerinde (Yalova ve STF-4) TBARS miktarı

Kuraklık stresi bitkilerin ozmotik dengesini bozarak fotosentez hızını düşürmekte ve sonuç olarak elektron transferini olumsuz etkileyerek reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinen maddelerin oluşumuna neden olmaktadır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), bir ROS olup, kuraklık stresi altındaki bitkilerde sinyal molekülü olarak işlev görmektedir. Çalışmamızda *Stevia* çeşitleri arasında H_2O_2 miktarındaki değişim açısından iki farklı sonuç gözlenmiştir (Şekil 7). Kuraklık stresi altında H_2O_2 miktarı, kontrol bitkileri ile kıyaslandığında, STF-4 çeşidinde %5,5 artarken Yalova çeşidinde %42,7 azalmıştır. Literatürde, kuraklık stresinin *Phaseolus vulgaris* [52], *Ginkgo biloba* [53], *Vigna mungo* [54] ve *Solanum lycopersicum* [55] bitkilerinde H_2O_2 miktarında artışa neden olduğu rapor edilmiştir. STF-4 çeşidinde kuraklık stresi altında H_2O_2 miktarındaki artış, membran kararlılığının korunduğunu ve stresin meydana getirdiği hasarı tolere edebildiğini göstermektedir.



Şekil 7. Kuraklık stresi altındaki *Stevia rebaudiana* çeşitlerinde (Yalova ve STF-4) H_2O_2 miktarı

IV. SONUC

Bu çalışmada, tıbbi ve aromatik bir bitki olan *Stevia rebaudiana*'nın Yalova ve STF-4 çeşitlerinde kuraklık stresinin bitkide meydana getirdiği fizyolojik ve biyokimyasal değişimler tespit edilmiştir. Kuraklık stresi Yalova çeşidinde yaprak boy uzunluğunu, ozmotik potansiyeli ve klorofil floresansını azaltmıştır. Söz konusu çeşitte su durumunun kuraklık stresi altında korunmasının prolin miktarında görülen önemli orandaki artışla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, STF-4 çeşidine kıyasla kuraklık stresi Yalova çeşidinde membran lipidlerinin yüksek oranda peroksidasyonuna neden olmuştur. Diğer taraftan, kuraklık stresi altında yetişen STF-4 çeşidinde suyun korunduğu ve kuraklığın neden olduğu hafif hasarın üstesinden geldiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu veriler ışığında, STF-4 çeşidinin Yalova çeşidine kıyasla kuraklık direncinin daha yüksek olduğu belirlenmiş olup ıslah çalışmalarında kullanılabilirliği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR: Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2019.02.01.970). Yazar VY, 100/2000 YÖK doktora bursiyeridir.

V. KAYNAKLAR

- [1] N. Pradhan, P. Singh, P. Dwivedi and D. K. Pandey, "Evaluation of sodium nitroprusside and putrescine on polyethylene glycol induced drought stress in *Stevia rebaudiana* Bertoni under in vitro condition," *Industrial Crop and Products*, vol. 154, 2020.
- [2] J. Ahmad, I. Khan, R. Blundell, J. Azzopardi and M. F. Mahomoodally, "*Stevia rebaudiana* Bertoni.:an updated review of its health benefits, industrial applications and safety," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 100, pp. 177-189, 2020.
- [3] N. H. Samsulrizal, K. S. Khadzran, S. HN.Shaarani, A. L. Noh, T. CM. Sundram, M. A. Naim and Z. Zainuddin, "De novo transcriptome dataset of *Stevia rebaudiana* accession MS007," *Data in Brief*, vol. 28, 2020.
- [4] C. Clemente, L. G. Angelini, R. Ascrizzi and S. Tavarini, "*Stevia rebaudiana* (Bertoni) as a multifunctional and sustainable crop for the Mediterranean climate," *Agriculture*, vol. 11, no. 2, pp. 123, 2021.
- [5] S. Hajhashemi and A. A. Ehsanpour, "Influence of exogenously applied paclobutrazol on some physiological traits and growth of *Stevia rebaudiana* under in vitro drought stress," *Biologia*, vol. 68, no. 3, pp. 414-420, 2013.
- [6] V. Peteliuk, L. Rybchuk, M. Bayliak, K. B. Storey and O. Lushchak, "Natural sweetener *Stevia rebaudiana*: functionalities, health benefits and potential risks," *EXCLI Journal*, vol. 20, pp.1412-1430, 2021.
- [7] Y. Sun, X. Xu, T. Zhang, Y. Yang, H. Tong and H. Yuan, "Comparative transcriptome analysis provides insights into steviol glycoside synthesis in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) leaves under nitrogen deficiency," *Plant Cell Reports*, vol. 40, pp. 1709-1722, 2021.
- [8] Z. Li, L. An, S. Zhang, Z. Shi, J. Bao, M. Tuerhong, M. Abudukeremu, J. Xu and Y. Guo, "Structural elucidation and immunomodulatory evaluation of a polysaccharide from *Stevia rebaudiana* leaves," *Food Chemistry*, vol. 364, pp. 130310, 2021.

- [9] J. Wang, H. Zhao, Y. Wang, H. Lau, W. Zhou, C. Chen and S. Tan, "A review of stevia as a potential healthcare product: Up-to-date functional characteristics, administrative standards and engineering techniques," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 103, pp. 264-281, 2020.
- [10] S. Basharat, Z. Huang, M. Gong, X. Lv, A. Ahmed, I. Hussain, J. Li, G. Du and L. Liu, "A review on current conventional and biotechnical approaches to enhance biosynthesis of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana*," *Chinese Journal of Chemical Engineering*, vol. 30, pp. 92-104, 2021.
- [11] E. S. Ibrahim, E. M. Ragheb, F. M. Yousef, M. F. Abdel-Aziz and B. A. Alghamdi, "Nutritional value, cytotoxic and antimicrobial activities of *Stevia rebaudiana* leaf extracts," *Journal of Biochemical Technology*, vol. 11, no. 12, pp. 108-115, 2020.
- [12] S. Yu-ming, H. Xiao-lei, Z. Ting, Y. Yong-heng, C. Xiao-fang, X. Xiao-yang and Y. Hai-yan, "Potassium deficiency inhibits steviol glycosides synthesis by limiting leaf sugar metabolism in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) plants," *Journal of Integrative Agriculture*, vol. 20, no. 11, pp. 2932-2943, 2021.
- [13] E. Yıldız Öztürk, A. Nalbantsoy, O. Tag and O. Yesil Celiktas, "A comparative study on extraction processes of *Stevia rebaudiana* leaves with emphasis on antioxidant, cytotoxic and nitric oxide inhibition activities," *Industrial Crops and Products*, vol. 77, pp. 961-971, 2015.
- [14] M. K. Warsi, S. M. Howladar and M. A. Alsharif, "Regulon: An overview of plant abiotic stress transcriptional regulatory system and role in transgenic plants," *Brazilian Journal of Biology*, vol. 83, 2023.
- [15] R. Guo, L. X. Shi, Y. Jiao, M. X. Li, X. L. Zhong, F. X. Gu, Q. Liu, X. Xia and H. Li, "Metabolic responses to drought stress in the tissues of drought-tolerant and drought-sensitive wheat genotype seedlings," *AOB Plants*, vol. 10, 2018.
- [16] S. S. Gill and N. Tuteja, "Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 48, pp. 909-930, 2010.
- [17] M. W. Oh and S. Komatsu, "Characterization of proteins in soybean roots under flooding and drought stresses," *Journal of Proteomics*, vol. 114, pp. 161-181, 2015.
- [18] Z. Kolenc, D. Vodnik, S. Mandelc, B. Javornik, D. Kastelec and A. Čerenak, "Hop (*Humulus lupulus* L.) response mechanisms in drought stress: Proteomic analysis with physiology," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 105, pp. 67-78, 2016.
- [19] Z. Shu-han, X. Xue-feng, S. Yen-min, Z. Jun-lian and L. Chao-zhou, "Influence of drought hardening on the resistance physiology of potato seedlings under drought stress," *Journal of Integrative Agriculture*, vol. 17, no. 2, pp. 336-347, 2018.
- [20] X. Yang, M. Lu, Y. Wang, Y. Wang, Z. Liu and S. Chen, "Response mechanism of plants to drought stress," *Horticulturae*, vol. 7, no. 3, pp. 50, 2021.
- [21] Y. Zheng, Z. Xia, J. Wu and H. Ma, "Effects of repeated drought stress on the physiological characteristics and lipid metabolism of *Bombax ceiba* L. during subsequent drought and heat stresses," *BMC Plant Biology*, vol. 21, 2021.
- [22] M. Karimi, A. Ahmadi, J. Hashemi, A. Abbasi, S. Tavarini, A. Pompeiano, L. Guglielminetti and L. G. Angelini, "The positive role of steviol glycosides in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) under drought stress condition," *Official Journal of the Societa Botanica Italiana*, vol. 150, no. 6, pp. 1321-1331, 2016.

- [23] S. Backhaus, J. Kreyling, K. Grant, C. Beierkuhnlein, J. Walter and A. Jentsch, "Recurrent mild drought events increase resistance toward extreme drought stress," *Ecosystems*, vol. 17, pp. 1068-1081, 2014.
- [24] H. A. Alhaithloul, M. H. Soliman, K. L. Ameta, M. A. El-Esawi and A. Elkelish, "Changes in ecophysiology, osmolytes, and secondary metabolites of the medicinal plants of *Mentha piperita* and *Catharanthus roseus* subjected to drought and heat stress," *Biomolecules*, vol. 10, no. 1, 2020.
- [25] P. García-Caparrós, M. J. Romeo, A. Llanderal, P. Cermeño, M. T. Lao and M. L. Segura, "Effects of drought stress on biomass, essential oil content, nutritional parameters, and costs of production in six Lamiaceae species," *Water*, vol. 11, 2019.
- [26] A. G. Pirbalouti, F. Malekpoor, A. Salimi, A. Golparvar and B. Hamed, "Effects of foliar of the application chitosan and reduced irrigation on essential oil yield, total phenol content and antioxidant activity of extracts from green and purple basil," *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, vol. 16, no. 6, pp. 177-186, 2017.
- [27] A. Mahdavi, P. Moradi and A. Mastinu, "Variation in terpene profiles of *Thymus vulgaris* in water deficit stress response," *Molecules*, vol. 25, no. 5, 2020.
- [28] R. E. Smart and G. E. Bingham, "Rapid estimates of relative water content," *Plant Physiology*, vol. 53, pp. 258-260, 1974.
- [29] A. Santa-Cruz, M. M. Martinez-Rodriguez, F. Perez-Alfocea, R. Romero-Aranda, and M. C. Bolarin, "The rootstock effect on the tomato salinity response depends on the shoot genotype," *Plant Science*, vol. 162, pp. 825-831, 2002.
- [30] L. S. Bates, R. P. Waldren, and I. D. Teare, "Rapid determination of free proline for water stress studies," *Plant Soil*, vol. 39, pp. 205-207, 1973.
- [31] J. Liu, B. Lu, and A. L. Xun, "An improved method for the determination of hydrogen peroxide in leaves," *Progress in Biochemistry and Biophysics*, vol. 27, pp. 548-551, 2000.
- [32] K. V. Madhava Rao and T. V. S. Sresty, "Antioxidative parameters in the seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses," *Plant Science*, vol. 157, pp. 113-128, 2000.
- [33] Z. Ahmad, S. Anjum, E. A. Waraich, M. A. Ayub, T. Ahmad, R. M. S. Tariq, R. Ahmad and M. A. Iqbal, "Growth, physiology, and biochemical activities of plant responses with foliar potassium application under drought stress – a review," *Journal of Plant Nutrition*, vol. 41, no. 13, pp. 1734-1743, 2018.
- [34] S. Hajhashemi and J. M. C. Geuns, "Gene transcription and steviol glycoside accumulation in *Stevia rebaudiana* under polyethylene glycol-induced drought stress in greenhouse cultivation," *FEBS Open Bio*, vol. 6, pp. 937-944, 2016.
- [35] R. Ayrancı, "Farklı kuraklık tiplerinde ekmeklik buğday genotiplerinin fizyolojik, morfolojik, verim ve kalite özellikleri yönüyle ıslahatı kullanılabilecek uygun parametrelerin belirlenmesi," Doktora tezi, Tarla Bitkileri, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye, 2012.
- [36] B. Jiang, P. Wang, S. Zhuang, M. Li, Z. Li and Z. Gong, "Detection of maize drought based on texture and morphological features," *Computers and Electronics in Agriculture*, vol. 151, pp. 50-60, 2018.

- [37] H. Aydın, H. Torun ve E. Eroğlu, “*Cephalaria duzceënsis* N. Aksoy & R. S. Göktürk ve *Seseli resinosa* Freyn & Sint. endemik taksonlarının morfolojik ve fizyolojik özellikleri ile bitkilendirmede kullanılabilir potansiyelleri,” *D.Ü. Ormancılık Dergisi*, c. 16, s. 2, ss. 89-104, 2020.
- [38] Md. R. Molla, Md. M. Rohman, M. B. Monsur, M. Hasanuzzaman and L. Hassan, “Screening and assessment of selected Chilli (*Capsicum annuum* L.) genotypes for drought tolerance at seedling stage,” *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, vol. 90, no. 5, 2021.
- [39] S. Kıran, F. Özkay, Ş. Ellialtıoğlu ve Ş. Kuşvuran, “Kuraklık stresi uygulanan kavun genotiplerinde bazı fizyolojik değişimler üzerine araştırmalar,” *Toprak Su Dergisi*, c. 3, s. 1, ss. 53-58, 2014.
- [40] H. Y. Daşgan, M. Kılınç, S. Dere ve B. İkiz, “Çukurova ekolojik koşullarına uygun bazı karpuz çeşitlerinin kuraklığa tolerans seviyelerinin belirlenmesi,” *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, c. 7, s. 3, ss. 388-403, 2021.
- [41] S. Hajhashemi and A. Sofo, “The effect of polyethylene glycol-induced drought stress on photosynthesis, carbohydrates and cell membrane in *Stevia rebaudiana* grown in greenhouse,” *Acta Physiologiae Plantarum*, vol. 40, 2018.
- [42] M. Ashraf and M. Foolad, “Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance,” *Environmental and Experimental Botany*, vol. 59, no. 2, pp. 206-216, 2007.
- [43] N. Verbruggen and C. Hermans, “Proline accumulation in plants: a review,” *Amino Acids*, vol. 35, pp.753-759, 2008.
- [44] D. C. Dien, T. Mochizuki and T. Yamakawa, “Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in Rice (*Oryza sativa* L.) varieties,” *Plant Production Science*, vol. 22, no. 4, pp. 530-545, 2019.
- [45] C. Y. Zhao, J. H. Si, Q. Feng, T. F. Yu, H. Luo and J. Qin, “Ecophysiological responses to drought stress in *Populus euphratica*,” *Sciences in Cold and Arid Regions*, vol. 13, no. 4, pp. 326-336, 2021.
- [46] F. Nadali, H. R. Asghari, H. Abbasdokht, V. Dorostkar and M. Bagheri, “Improved Quinoa growth, physiological response, and yield by hydropriming under drought stress conditions,” *Gesunde Pflanzen*, vol. 73, no. 1, pp. 53-66, 2021.
- [47] Z. Adamipour, M. Khosh-Khui, H. Salehi, H. Razi, A. Karami and A. Moghadam, “Metabolic and genes expression analyses involved in proline metabolism of two rose species under drought stress,” *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 155, pp. 105-113, 2020.
- [48] L. Zhou, X. Tian, B. Cui and A. Hussain, “Physiological and biochemical responses of invasive species *Cenchrus pauciflorus* benth to drought stress,” *Sustainability*, vol. 13, no. 11, 2021.
- [49] M. Rehman, S. Syed, Q. Ali, Z. Haider, S. Kamal and M. Azeem, “Morphological and biochemical investigations of selected wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars for the drought tolerance potential: photosynthetic pigments and lipid peroxidation,” *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 30, no. 6, pp. 6155-6164, 2021.
- [50] N. Azad, M. Rezayian, H. Hassanpour, V. Niknam and H. Ebrahimzadeh, “Physiological mechanism of salicylic acid in *Mentha pulegium* L. under salinity and drought stress,” *Brazilian Journal of Botany*, vol. 44, pp. 359-369, 2021.

- [51] T. A. Siswoyo, L. S. Arum, B. R. L. Sanjava and Z. S. Aisyah, "The growth responses and antioxidant capabilities of melinjo (*Gnetum gnemon* L.) in different durations of drought stress," *Annals of Agricultural Sciences*, vol. 66, no. 1, pp. 81-86, 2021.
- [52] S. Caşka Kılıçarslan, E. Yıldırım, M. Ekinci ve R. Kul, "Kuraklık stresinin fasulyede bitki gelişimi, bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi," *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, c. 36, s. 2, 2020.
- [53] B. Chang, K. Ma, Z. Lu, J. Lu, J. Cui, L. Wang and B. Jin, "Physiological, Transcriptomic and metabolic responses of *Ginkgo biloba* L. to drought, salt and heat stress," *Biomolecules*, vol. 10, no. 12, 2020.
- [54] K. Jothimani and D. Arulbalachandran, "Physiological and biochemical studies of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) under polyethylene glycol induced drought stress," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 29, 2020.
- [55] S. Sundararajan, R. Shanmugam, V. Rajendran, H. P. Sivakumar and S. Ramalingam, "Sodium nitroprusside and putrescine mitigate PEG-induced drought stress in seedlings of *Solanum lycopersicum*," *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, doi: 10.1007/s42729-021-00710-x.