



**ÜŞÜMEYE HASSAS OLAN BAZI BİTKİLERE
AKLİMASYON SAĞLAMAK AMACIYLA UV
IŞINLARININ KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Tuba AVCI

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Bilim Dalı

Doç. Dr. Rahmi DUMLUPINAR

2016

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÜŞÜMEYE HASSAS OLAN BAZI BİTKİLERE AKLİMASYON
SAĞLAMAK AMACIYLA UV IŞINLARININ KULLANIMININ
ARAŞTIRILMASI**

Tuba AVCI

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Botanik Bilim Dalı**

**ERZURUM
2016**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

ÜŞÜMEYE HASSAS OLAN BAZI BİTKİLERE AKLİMASYON
SAĞLAMAK AMACIYLA UV IŞINLARININ KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Rahmi DUMLUPINAR danışmanlığında, Tuba AVCI tarafından hazırlanan bu çalışma21....../...11....../..2016..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı – Botanik Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oybirliği/oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : ..Prof.Dr.Güleray AĞAR.....

İmza :

Üye : ...Doç.Dr.Rahmi DUMLUPINAR.....

İmza :

Üye : ...Prof.Dr.Hasan TÜRKEZ.....

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 08 / 12 / 2016 tarih ve 47 / 17 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÜŞÜMEYE HASSAS OLAN BAZI BİTKİLERE AKLİMASYON SAĞLAMAK AMACIYLA UV IŞINLARININ KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Tuba AVCI

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Rahmi DÜMLUPINAR

Bu çalışmada, üşüme sıcaklıklarına hassas olduğu bilinen bazı bitki türleri (fasulye, mercimek ve nohut) ve soğuğa dayanıklı bir buğday varyetesi seçildi ve araştırmalar bu bitkilerin fideleri üzerinde yürütüldü. Her bir türe ait 10 günlük fideler dört farklı sürede (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) UV uygulamalarına birer saat aralıklarla 5 defa maruz bırakılmış ve ardından soğuk kontrol grubu ve UV uygulanan fideler iklim dolabına aktararak üşüme sıcaklıklarında (10/4°C, 14/10 saat ışık/karanlık) 3 gün süre ile büyütülmüştür. Soğuk uygulamasının ardından herbir farklı uygulamaya ait fidelerin yaprakları antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, peroksidaz) aktiviteleri, total protein tayini ve lipid peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Kontrol fidelerine kıyasla, UV uygulaması olmaksızın sadece üşüme sıcaklığı uygulaması tüm fidelerin antioksidan enzim aktivitelerinde önemli derecede artışlara yol açtı. Diğer taraftan UV uygulandıktan sonra üşüme sıcaklıklarına maruz bırakılan bitki yapraklarındaki (UV+ soğuk) antioksidan enzim aktivitelerinin, genel kontrol ve soğuk kontrolle kıyaslandığında, uygulanan UV süresine bağlı olarak değişen artış ve azalışların olduğu belirlenmiştir. Antioksidan enzim aktivitelerindeki artışın yanı sıra soğuk kontrol bitkilerinde ki protein miktarları genel kontrole kıyasla artışla sonuçlanmıştır. Ayrıca bu protein artışlarının kontrole kıyasla UV+ soğuk uygulanan tüm bitki türlerinde de olduğu (Nohut hariç), ancak soğuk kontrole kıyasla, uygulanan UV süresine bağlı olarak değişen artış veya azalışların olduğu tespit edilmiştir. Düşük sıcaklık stresinin, kullandığımız bitkilerdeki hücre zarı hasarlarını belirlemek amacıyla tüm bitkilerdeki lipid peroksidasyon seviyeleri ölçüldü. Genel kontrole nazaran soğuk kontrol bitki yapraklarındaki LPO seviyelerinin önemli seviyelerde artmış olduğu belirlendi. Buğday bitkisi hariç diğer bitki türlerinde, uyguladığımız farklı UV sürelerine bağlı olarak, LPO seviyelerinin, soğuk kontrole göre düşüş gösterdiği belirlenmiştir.

Bu araştırmada, üşüme sıcaklıklarına aklımasyon sağlamak için düşük sıcaklık uygulamak yerine, UV uygulamalarının düşük sıcaklık aklımasyonunun yerini alıp alamayacağı belirlenmeye çalışılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlardan özellikle LPO seviyelerinde gözlenen değişiklikler dikkate alındığında, UV uygulamaları buğday bitkisi hariç diğer üşümeye hassas olan bitki türleri için ön stres olabileceği, böylece üşüme hasarına karşı hassas bitkilerin korunmasında, soğuk aklımasyonunun yerini alabileceği söylenebilir.

2016, 106 sayfa

Anahtar Kelimeler: Reaktif oksijen türleri, antioksidan enzim, katalaz, peroksidaz, lipid peroksidasyon, aklımasyon, soğuk stres

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

THE INVESTIGATION OF USING UV LIGHT TO ENSURE ACCLIMATION ON SOME CHILLING-SENSITIVE PLANTS

Tuba AVCI

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Botany of Science

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Rahmi DÜMLÜPINAR

In this study, some chilling-sensitive plant species; bean (*Phaseolus vulgaris*), lentil (*Lens culinaris*), chickpea (*Cicer arietinum*) and chilling-tolerant wheat variety (*Triticum aestivum*) seedlings were selected and the investigations were carried out on seedlings of these plants.

The 10-d old seedlings of each species were exposed to UV application for four different times (5, 10, 15 and 20 second) for five times at 1-h interval and then they were transferred to climate cabin set up 10/4°C for temperature and 14/10 h for day/night period. These seedlings were grown for 3 day in this media. On the other hand, control seedlings were grown at optimal conditions for plants. After chilling stress, activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, peroxidase and catalase), total protein content and lipid peroxidation levels were determined in the plant leaves obtained from each different application. Compared to the control seedlings, the chilling-stresses without UV pre-treatments led to an important increase in antioxidant enzymes' activities of all seedlings. On the other hand, the antioxidant enzyme activities in UV pre-treated seedlings exhibited different changes depending on application time. Besides the increases in antioxidant enzyme activities, chilling stress resulted in a marked elevation in the protein content in comparison to their controls. Also, this protein increases were determined in all (except chickpea) of UV+cold applications as compared to control. Whereas, UV application had different effect on the protein content depending on application time in all plants as compared with the chilling-stressed seedlings alone. To determine membrane damage, lipid peroxidation levels were also measured in the all used plants. As compared to the control, chilling stress caused to significant increases in the LPO levels in the all used plants. Depending on application time, UV pre-treatment markedly suppressed this elevation in LPO levels in all seedlings except wheat.

The present findings based on the changes in LPO content particularly showed that UV applications may be used as a precursor stress and replace cold acclimations to protect chilling-sensitive plants from cold damage.

2016, 106 pages

Keywords: Reactive oxygen species, antioxidant enzyme, catalase, peroxidase, lipid peroxidation, acclimation, cold stress

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinden tezimin bitimine kadar benden hiçbir yardımı esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Rahmi DUMLUPINAR hocama, mevcut imkânları kullanmamda her zaman yardımcı olan Bitki Fizyoloji Laboratuvarında çalışan tüm hocalarıma ve Arş. Görevlisi Sayın Yahya TEPE hocama içtenlikle teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarım boyunca laboratuvarı bana zaman zaman destek olan güzel yürekli arkadaşım Dr. Deniz TİRYAKİ'ye yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca bıkmadan, usanmadan sabırla yanımda olan ve fedakârca desteklerini esirgemeyen anneme, eşime ve manevi desteğiyle hep yanımda olan biricik yavrum Yiğit ALP'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Tuba AVCI

Aralık, 2016

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Stres Fazları ve Etkileri	3
1.1.1. Tepki fazı (stresin başlaması).....	3
1.1.2. Onarım fazı (devam eden stres).....	4
1.1.3. Bitiş fazı (uzun süreli stres).....	4
1.1.4. Rejenerasyon fazı	4
1.2. Stres Faktörleri	5
1.2.1. Stres faktörlerinin sınıflandırılması.....	5
1.3. Strese Dayanıklılık	6
1.3.1. Kaçış (escape).....	7
1.3.2. Sakınım (avoidance).....	7
1.3.3. Tolerans	7
1.4. Soğuk (Üşüme) Stresinin Bitkiler Üzerinde Etkileri.....	11
1.5. UV-B Stresi	16
1.5.1. UV-B stresinin bitkiler üzerine etkisi.....	17
1.5.2. UV-B stresinin bitkilerdeki fizyolojik etkileri	18
1.6. Radikaller	20
1.6.1. Radikal Kavramı ve Reaktif Oksijen Türleri	20
1.6.2. Enzimatik antioksidant sistemler.....	30
2. KAYNAK ÖZETLERİ	37
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	45
3.1. Yararlanılan Cihazlar	45
3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları.....	45

3.3. Yöntemler	47
3.3.1. Bitkilerin büyütülmesi	47
3.3.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi	48
3.3.2.a. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi	48
3.3.2.b. Peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi	49
3.3.2.c. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi	50
3.3.2.d. Çözünebilir protein miktarının tayini	51
3.3.2.e. Lipid peroksidasyon aktivitesinin belirlenmesi	52
3.4. İstatistiksel analiz	52
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	53
4.1. Antioksidan Enzim Aktivitesi Sonuçları	53
4.1.1. Katalaz aktivitesine ait sonuçlar	53
4.1.2. Peroksidaz aktivitesine ait sonuçlar	57
4.1.3. Süperoksitdismutaz aktivitesine ait sonuçlar	62
4.1.4. Toplam çözülebilir protein miktarına ait sonuçlar	66
4.1.5. Lipid peroksidasyon LPO (MDA) miktarına ait sonuçlar	71
4.2. Morfolojik Bulgular	76
4.2.1. UV-B uygulaması ve bir saat soğuk stresi sonrası	76
4.2.2. UV uygulaması ve 2.bir saat soğuk stresi sonrası	78
4.2.3. UV uygulaması ve 3. bir saat soğuk stresi sonrası	79
4.2.4. UV uygulaması ve 4. bir saat soğuk stresi sonrası	80
4.2.5. UV uygulaması ve 5. bir saat soğuk stresi sonrası	81
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	85
KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	107

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
1 O ₂	: Singlet oksijen
ABS	: Absorbans
APX	: Askorbat peroksidaz
CAT	: Katalaz
Dk	: Dakika
E.Ü.	: Enzim ünitesi
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
GR	: Glutasyon redüktaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
LPO	: Lipid peroksidasyon
M	: Molar
MDA	: Malondialdehid
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmol	: Milimol
NBT	: Nitroblue tetrazolium chloride
O ₂ -	: Süperoksit Radikal
OH-	: Hidroksil Radikal
pH	: Asitlik-Baziklik Faktörü
POD	: Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirrolidon
ROT	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbutirik asit

TCA	: Trikloroasetik asit
UV	: Ultraviyole
μg	: Mikrogram
μM	: Mikromolar



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.2. UV-B radyasyonu doğrudan ROS oluşumunu tetikler	17
Şekil 1.3. Haber–Weiss ve fenton reaksiyonu.	27
Şekil 3.1. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik	49
Şekil 3.2. Protein tayini için hazırlanmış olan standart grafik	51
Şekil 4.1. Dört farklı sürelerde (5 sn, 10 sn,15 sn,20 sn) UV uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi	54
Şekil 4.2. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi	55
Şekil 4.3. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi	56
Şekil 4.4. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi	57
Şekil 4.5. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye (Phaseolusvulgaris) bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	58
Şekil 4.6. Dört farklı zamanda UV (5 sn ,10 sn,15 sn,20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	59
Şekil 4.7. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	60
Şekil 4.8. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	61

Şekil 4.9. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi	62
Şekil 4.10. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi	63
Şekil 4.11. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	64
Şekil 4.12. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi	65
Şekil 4.13. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi	67
Şekil 4.14. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi	68
Şekil 4.15. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi	69
Şekil 4.16. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi	71
Şekil 4.17. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi	72
Şekil 4.18. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi	74

Şekil 4.19. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi	75
Şekil 4.20. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi	76
Şekil 4.21. Genel kontrol-Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10sn UV	77
Şekil 4.22. Genel kontrol-Kontrol-15 sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV	77
Şekil 4.23. Genel kontrol-Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10sn UV	78
Şekil 4.24. Genel kontrol-Kontrol-15 sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV	78
Şekil 4.25. Genel kontrol-Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10sn UV	79
Şekil 4.26. Genel kontrol-Kontrol-15sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV	79
Şekil 4.27. Genel kontrol-Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10 sn UV	80
Şekil 4.28. Genel kontrol-Kontrol-15 sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV	80
Şekil 4.29. Genel kontrol- Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10 sn UV	81
Şekil 4.30. Genel kontrol-Kontrol-15 sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV	81
Şekil 4.31. Buğday bitkisi genel kontrol.....	82
Şekil 4.32. Buğday bitkisi soğuk kontrol.....	83
Şekil 4.33. Buğday bitkisinde 5 Sn UV uygulamasından sonraki görüntü.....	83
Şekil 4.34. Buğday bitkisinde 10 sn UV uygulamasından sonraki görüntü	84
Şekil 4.35. Buğday bitkisinde 15 SN sn UV uygulamasından sonraki görüntü	84
Şekil 4.36. Buğday bitkisinde 20 sn UV uygulamasından sonraki görüntü	84

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Lichdenthaller (1996) göre stres faktörlerinin sınıflandırılması.....	5
Çizelge 4.1. Dört farklı zamanda UV (5sn, 10sn, 15sn, 20sn) uygulanan fasulye (<i>Phaseolusvulgaris</i>) bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi	54
Çizelge 4.2. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn,15 sn,20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi	55
Çizelge 4.3. Dört farklı zamanda UV (5 sn ,10 sn,15 sn,20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi	56
Çizelge 4.4. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi	57
Çizelge 4.5. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye (<i>Phaseolusvulgaris</i>) bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	58
Çizelge 4.6. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	59
Çizelge 4.7. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	60
Çizelge 4.8. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi	61
Çizelge 4.9. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi	62

Çizelge 4.10. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi	63
Çizelge 4.11. Dört farklı zamanda UV (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi	64
Çizelge 4.12. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi	65
Çizelge 4.13. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi	66
Çizelge 4.14. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi	68
Çizelge 4.15. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi	69
Çizelge 4.16. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi	71
Çizelge 4.17. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi	72
Çizelge 4.18. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi	73
Çizelge 4.19. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi	75

Çizelge 4.20. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi	76
---	----



1. GİRİŞ

Tüm canlı organizmalar, değişebilen çevresel koşullara tepkiler vermek suretiyle yaşamlarına yön vermekte ve hayatlarını sürdürebilmektedir. Bitkiler en iyi gelişimlerini kendileri için optimum olan şartlarda gösterirler. Normal metabolizmanın işleyişinde tepkisel farklılıklar oluşturma yeteneğine bağlı olarak, günlük ve mevsimsel değişimler karşısında canlılıklarını ve gelişimlerini devam ettirebilirler.

Bitkiler hareketsiz olduklarından dolayı istenmeyen çevresel koşullara bulundukları yerde sabit kalarak maruz kalırlar. Bitkilerin yetiştiği ortamlarda genellikle bazı faktörler eksik ve bazı faktörlerde ideallikten oldukça uzaktır. Beklenmedik bir koşula sürekli veya kısa süreli maruz kalmaları sonucunda, gelişimlerini ve hayatta kalmalarını etkileyecek hastalıklar, hasarlar veya fizyolojik değişimler meydana gelebilir (Shao *et al.* 2008). Bu elverişsiz koşullara sebep olan faktörlere “stres” denir. Diğer bir tanımla stres; bitkilerin düzenli işleyen biyolojik sistemlerini ve normal fonksiyonlarını kısıtlayan veya engelleyen koşullardır (Jones *et al.* 1984).

Ayrıca doğadaki çok çeşitli biyotik ve abiyotik çevre etmenleri bitkilerde strese neden olmaktadır. Levitt’e göre stres, biyotik ve abiyotik faktörlerin tek tek ya da birlikte fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda belli değişimleri meydana getirmesi ya da organizmada hasar oluşturmalarıdır (Levitt 1980). Bir diğer ifadeyle bitkide metabolizmayı, büyüme ve gelişmeyi etkileyen veya engelleyen uygun olmayan herhangi bir durum ya da madde stres sebebi olarak kabul edilir (Lichtenhaler 1998). Stres herhangi bir biçimde tüm organizmalar üzerinde güçlü bir baskı uygular (Gaspar *et al.* 2002). Hale ve Orcutt (1987) ise stresi, çevresel ya da biyolojik faktörlerin etkisiyle bitkilerde fizyolojik anlamda oluşan anormal değişimler olarak tanımlamışlardır. Bu stres faktörleri bitkilerin biyosentetik kapasitelerini azaltıp, normal fonksiyonlarını değiştirerek, bitkide ölüme yol açacak hasarlara sebep olabilmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005).

Stres; bitkilerin fizyolojisini etkiler, onların genetik ifadelerini değiştirerek, verimliliklerini kısıtlar ve ölümlerine yol açarak büyük oranlarda ürün kayıplarına neden olur (Kırbağ vd 2003) Ayrıca; stres faktörleri yapısal ve metabolik hasarlara neden olmaktadır (Koç ve Üstün 2008). Stresin şiddeti, süresi, strese maruz kalan doku ya da organ tipi ile bitkinin stres koşulları altında iken bulunduğu gelişim evresi ve aynı türe ait farklı çeşit veya genotipler bu faktörler arasındadır (Bray *et al.* 2000).

Stres tipine bağlı olarak çevresel değişikliklere yanıtın türden türe değiştiği çok açıktır. Çevresel stres incelenirken “ne zaman?” sorusu önem teşkil etmektedir. Çevresel değerler ne kadar süre devam ederse durum stres halini alır. Strese karşı verilen tepki, doku ve organın stresten etkilenmesine, stresin seviyesine ve süresine bağlı olarak değişir.

Biyolojik stres kuvvetinin hesaplanması oldukça zordur. Çünkü biyolojik koşullar bir bitki türünde stres oluştururken, farklı bir tür için normal olabilmektedir (Mahajan and Tuteja 2005).

Bitkiler doğal ve tarımsal koşullarda, sürekli veya aralıklarla fiziksel, kimyasal veya biyolojik streslere maruz kalabilirler. Bu değişiklikler belirli değerlerin üzerinde olduğunda, bitkiler genellikle çeşitli stres yanıtları yani tepki verirler. Bitkiler stresten sakınmak veya stresin oluşturduğu zararları azaltmak için etkili mekanizmalar geliştirmiştir. Bilindiği gibi stres etmenlerinin oluşturduğu zarar bitkinin genetik olarak çevreye adaptasyon yeteneğine bağlı olarak değişmektedir. Bu yetenek farklı bitkilerin değişik çevresel koşullara sahip bölgelerde en iyi şekilde yetiştirmelerinin izahını sağlayan en temel faktördür. Herhangi bir organizma hayatta kalmak için kaçınma, karşı koyma ya da tolerans mekanizmaları geliştirir. Burdan anlaşılıyor ki bitkilerin strese verdikleri cevaplar farklı şekillerde olabilmektedir (Taiz and Zeiger 2002).

Bitkide stres kavramını tanımlayan üç terim vardır. Bunlar stres, tepki ve zarardır. Stres, bitki büyüme ve gelişmesini engelleyen madde veya durumdur. Tepki, bitkinin maruz

kaldığı olumsuz koşula karşı gösterdiği cevaptır. Zarar ise bitkinin daha fazla üstesinden gelemediği çok yüksek stresin sonucudur (Lichtenthaler 1998).

Stres koşulları bitkilerin hem büyüüp gelişmesini hem de verimliliğini olumsuz yönde etkilemekte, yeryüzündeki yayılışlarını sınırlamaktadır. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, ürün kalitesinin ve miktarının azalmasına, bitkinin veya organlarının ölümüne yol açabilmektedir.

Dünyada kullanılabilinen alanların farklı stres faktörlerinden etkilenme oranlarına bakıldığında; kuraklık %26 oranla en yüksek paya sahipken, bunu %20 oranla mineral madde stresi, %15 oranla soğuk ve don stresi takip etmektedir. Bunların dışında kalan %29'luk alan diğer stres etmenlerinden etkilenirken toplam kullanılabilen alanların sadece %10'luk kısmı herhangi bir stres etkisi altında değildir (Blum 1986; Kalefetolu ve Ekmekçi 2005).

Bitkisel üretimde amaç, birim alandan maksimum ürün elde edebilmektir. Bu amacı gerçekleştirmek için de bitkinin ihtiyaç duyduğu optimum koşulların sağlanması, bitki gelişiminin stres faktörleri etkisinden uzak tutulması gerekmektedir.

Stres faktörleri; bitkide tepki, onarım ve bitiş fazı olmak üzere üç farklı fazı tetiklemektedir. Zarar çok şiddetli yani öldürücü ölçüde değilse stres etmenlerinin ortamdan uzaklaştırılmasından sonra dördüncü faz olan rejenerasyon fazı devreye girer.

1.1. Stres Fazları ve Etkileri

1.1.1. Tepki fazı (stresin başlaması)

Alarm reaksiyonu olarak karşımıza çıkar. Yaşamsal etkinlikler azalmaya başlar. Katabolizmanın anabolizmaya üstün olduğu bir stres reaksiyonu ile başlayan bu fazda,

normal yaşamsal etkinlikler için gereksinim duyulan yapısal (protein, biyo-membranlar) ve fonksiyonel (biyokimyasal olaylar, enerji metabolizması) koşullarda sapmalar meydana gelir. Ayrıca bu fazda canlılık gerilemektedir.

1.1.2. Onarım fazı (devam eden stres)

Bu fazda stres devam etmektedir ve bitki dayanıklılık ve adaptasyon sürecine girer. Eğer stresin yoğunluğu değişmez ise protein veya koruyucu maddelerin sentezi gibi tamir olayları bu fazda gerçekleşir. Ayrıca bu fazda adaptasyon olayının gerçekleşmesi sağlanarak devam eden stres koşulları altında dayanıklılık fazına geçiş meydana gelir.

1.1.3. Bitiş fazı (uzun süreli stres)

Bu evrede bitiş fazı, çok yüksek stres şiddeti adaptasyon kapasitesinin aşılması ve kronik hasar veya ölüm karşımıza çıkmaktadır. Eğer stres dönemi fazla uzun sürerse veya stres faktörünün yoğunluğu artarsa, bitiş fazı ortaya çıkmaktadır. Tolerans limitlerinin ve adaptasyon kapasitenin aşıldığı durumlarda, kalıcı zararlar ve hatta ölüm de meydana gelebilmektedir.

1.1.4. Rejenerasyon fazı

Kısmi ya da tamamen rejenerasyon fazı; hasarların çok yüksek olmadığı ve stres etkenlerinin ortamdaki uzaklaştırıldığı bir durumdur. Bu fazda fizyolojik fonksiyonların kısmi ya da tamamen rejenerasyonu gerçekleşir (Edreva 1998; Gürel ve Avcıoğlu 2001).

Organizmanın bütün fonksiyonel düzeylerinde meydana gelen değişiklikler ve tepkiler, başlangıçta geri dönüşümlü olmalarına rağmen daha sonra kalıcı hale gelebilirler. Stres olayı geçici olarak meydana gelse bile, bitki canlılığı gerilemeye başlar. Bitki,

kapasitesinin sonuna ulaştığında ise o ana kadar belirti göstermeden (latent) kalan zarar, kronik hastalığa veya geri dönüşümsüz bir zarara dönüşebilir (Gürel ve Avcıoğlu 2001).

1.2. Stres Faktörleri

1.2.1. Stres faktörlerinin sınıflandırılması

Bir ekosistemde bitkileri etkileyen pek çok stres kaynakları bulunabilir. Bu stres kaynakları **Lichdenthaller (1996)**'a göre doğal ve antropojenik (insan kaynaklı) stres faktörleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

Çizelge 1.1. Lichdenthaller (1996) göre stres faktörlerinin sınıflandırılması

Doğal Stres Faktörleri	Antropojenik Stres Faktörleri
Su	Herbisitler
Sıcaklık	Funguslar
Besin maddesi noksanlığı	Hava kirleticiler
Uzun yağışlı dönemler	Ozon
Virüsler	Ağır metaller
Funguslar	Ağır gübreleme
Bakteriyel etmenler	Uv artışı
Co2	

Bitkilerde strese neden olan faktörler Levitt'in sınıflandırmasına göre ise; biyotik faktörler (fungus, bakteri, virüs gibi mikroorganizmalar; böcek, nematod gibi zararlılar) ve abiyotik faktörler (kuraklık, tuzluluk, düşük ve yüksek sıcaklıklar, besin elementlerinin eksikliği veya fazlalığı) olarak gruplandırılmaktadır (Levitt 1980).

Genel olarak bitkiler kuraklık, tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklık, yoğun ışık ve aşırı karbondioksit (CO₂) ya da ozon gibi çevresel streslere maruz kaldıklarında canlılıklarını korumak ve büyümeyi sürdürmek için fizyolojik, metabolik ve savunma sistemlerini aktive etmektedirler.

Abiyotik strese duyarlılık ve tolerans oldukça karmaşık bir sistemdir. Abiyotik stres dünya genelinde ürün kaybının başlıca nedenini oluşturmaktadır, temel ürünlerin ortalama veriminin %50'den fazlasının kaybına neden olmaktadır (Boyer 1982; Bray *et al.* 2000; Valliyodan and Nguyen 2006).

Doğal stres faktörlerini yüksek ısıma, yüksek ve düşük sıcaklıklar, ani donma, su kıtlığı ve mineral eksikliği oluştururken; hava kirleticileri, aşırı azot verilmesi, fotooksidantlar, reaktif oksijen türleri ve ağır metaller insan kaynaklı stres faktörlerini oluşturmaktadır (Koç ve Üstün 2008).

Bitkide strese yol açan diğer faktörler ise sıcaklık, tuz, ışık, hastalık, oksijen kıtlığı, ağır metal ve hava kirleticilerdir (Taiz and Zeiger 2008; Çokuysal 2010). Bitkiler abiyotik streslere karmaşık cevaplar verirler.

Bu istenmeyen çevresel koşullar gerçek ve potansiyel ürün verimi arasında %70'e varan kayıplara sebep olmaktadır. Bitkilerin bu kötü çevresel koşulları tolere edebilme yeteneğinde de genetik farklılıklar gözlenmektedir. Bitkiler yüksek ışık yoğunluğu, ekstrem sıcaklıklar, tuzluluk, kuraklık, herbisit uygulaması veya mineral element eksikliği gibi çevresel stres koşullarına maruz kaldıklarında, reaktif oksijen türevlerinin üretimi ile antioksidantların ve antioksidatif enzimlerin bunları yok etme aktivitesi arasındaki denge bozulur ve bu olay sıklıkla oksidatif hasar ile sonuçlanır (Spychalla and Desborough 1990; Cakmak and Marschner 1992; Polle *et al.* 1992; Guetadahan *et al.* 1997; Doinisio *et al.* 1998; Rodriguez *et al.* 1999; Sreenivasalu *et al.* 1999,2000).

1.3. Strese Dayanıklılık

Tüm bitkiler belirli derecelerde stres hasarlarına karşı koyma ve canlı kalabilme özelliğindedirler. Bir bitkinin bazı kısımları (tohumlar, tomurcuklar ve dormant hücreler) strese dayanıklı iken, diğer kısımları (meristemler, sukkulent organlar ve fideler) daha hassas olabilir. Ayrıca, strese dayanıklılık mekanizması bitkilerde iki şekilde etkili olmaktadır. Bitkiler ya geliştirdikleri önleyici mekanizmalarla stres

faktörlerinin etkinliğini önlemekte ya da tolerans mekanizmalarıyla yaşamlarını sürdürmektedirler (Sivritepe 1995; Söylemezoğlu vd 2010) Bitkilerin strese verdikleri cevaplar farklı şekillerde tanımlanmaktadır (Taiz and Zeiger 2002). Strese dayanıklılık; sakınma ve tolerans olmak üzere ikiye ayrılır (Levitt 1972).

1.3.1. Kaçış (escape)

Bitki dokularında stres faktörlerinin azaltılmasına veya önlenmesine yönelik olarak gerçekleşir. Kaçınmanın mekanizması daha çok stresin etkisini azaltma yönündedir (Kılınç ve Kutbay2004).

1.3.2. Sakınım (avoidance)

Bitkilerin stres faktörlerinin olumsuz etkilerini azaltması veya engellemesidir. Eğer bir bitki fiziksel ya da metabolik bir engellemeyle oluşan stresi dışarıda bırakabiliyorsa, bu olay stres sakınması olarak adlandırılır. Dış çevrede stres oluşturabilecek koşullar olmasına rağmen bitki hücrelerinin stresten uzak bir iç ortam oluşturmalarıdır. Kısaca stres sakınması bitkiye dıştan uygulanan olumsuz bir faktörün etkisini, stres oluşturmada önleme yeteneğidir (Street and Öpik 1984). Örneğin bir bitkinin yaprağı, transpirasyon yaparak iç sıcaklığını korur ve böylece sıcaklıktan sakınır (Ayaz 1999). Aynı şekilde kaktüs bitkisi su stresi esnasında hücre içindeki su miktarını koruyarak kuraklıktan sakınabilir (Bidwell *et al.* 1987).

Strese tepki olarak; yaprak ayasının kalınlığı, stomaların büyüklük ve sıklığı, kutikulanın inceliği ve kimyasal bileşimi gibi özellikler değişim gösterebilmektedir.

1.3.3. Tolerans

Karmaşık bir olay olup, organizmaya ilk olarak öldürücü olmayan yüksek derecede stresin (subletal) uygulanmasının ardından uygulanan öldürücü strese (letal)

organizmanın dayanma yeteneğidir. Stres toleransı, bitkinin kendisi için uygun olmayan ortam koşulları ile başa çıkma potansiyelidir. Eğer bir bitki stres sonucu oluşan hasarları azaltabilme veya hiç hasar oluşturmama özelliğinde ise bu durum stres toleransı olarak isimlendirilir. Diğer bir deyişle tolerans dıştan uygulanan bir strese canlının dayanabilme yeteneğidir (Street and Öpik 1984). Tolerans daha çok genotiple ilgilidir.

Bitkilerin çevresel streslere karşı reaksiyonları oldukça karmaşık olup, basit kimyasal ya da biyokimyasal direkt cevaplar, hormonal veya gelişim cevapları ile genetiksel olarak ortaya çıkan kalıtsal etkilere kadar birçok fizyolojik cevapla ilgilidir. Bu aşamadaki değişimler; doku ile organel düzeyinde ve moleküler seviyede meydana gelmektedir (Levitt 1980; Lichtenthaler 1996; Edreva 1998; Edreva1998; Acar 1999).

Strese karşı gösterilen tepki bakımından bitki türleri ve çeşitleri, hatta organları arasında fizyolojik ve metabolik olarak önemli farklılıklar bulunmaktadır (Belkhodja *et al.* 1994).

Bitkilerin olumsuz çevre koşullarına çeşitli mekanizmalarla direnç ya da dayanıklılık gösterdiğinden söz ettik. Bir bitkinin strese karşı gösterdiği direnci bir çok faktör belirler (Hale and Orcutt). Ayrıca bazı bitki türleri, yaşamak zorunda oldukları çevreye adapte olabilme veya tam olarak uyabilme özelliğine sahiptirler (Bidwell *et al.* 1987).

Bitkiler stresli koşullarda stresle baş edebilmek ve hayatta kalabilmek için hareketli organizmalara nazaran daha karmaşık metabolik cevaplar geliştirmişlerdir. Tolerans mekanizması; organizmanın stres faktöründen zarar görmeden canlılığını sürdürmesine olanak verir. Kaçınma mekanizmasında strese maruz kalma önlenirken, direnç mekanizmasında daha etkin önlemler söz konusudur (Madlung and Comai 2004). Tolerans bitkinin aşırı dış stres koşullarında olduğu kadar içsel stres altında da bir dereceye kadar fonksiyonlarını ya da canlılığını devam ettirme, yani strese dayanma kapasitesidir. Yani tolerans, dayanıklı olmayan türler ya da bireyler için letal ya da inhibitör olan koşullar altında organizmaların canlı kalması için özel biyolojik mekanizmaların gelişimini ifade eder (Kadıoğlu 2007). Tolerans; bitkide oluşturulan dokusal seviyedeki değişimler (reçine, yara peridermi oluşumu vb.), hücresel seviyedeki

değişimler (çeper apozisyonları, hücre çeperi ve membranı ile kloroplast yapı değişimleri), moleküler seviyedeki değişimler (flavanoidler, fenilamidler, poliaminler, fitoaleksinerler gibi sekonder metabolitlerin, kalloz gibi polisakkaritlerin ve lignin-süberin gibi fenol polimerlerin veya stres proteinlerinin sentezi) ve submoleküler düzeydeki değişimler ile (antioksidanlar ile SOD, CAT, POX gibi koruyucu enzimlerin sentezlenmesi) sağlanmaktadır (Levitt 1980; Tal 1983; Edreva 1998).

Kaçınmanın mekanizması daha çok stresin etkisini azaltma yönündedir (Kılınç ve Kutbay 2004). Bunu dış ortamda stres oluşturabilecek koşullar olmasına rağmen bitki hücrelerini stres altına sokmayan bir iç ortamı meydana getirmekle sağlar (Kadıoğlu 2007). Bitki yaprak laminasının yüzeyi ve kalınlığında, stomaların büyüklüğü ve yerinde, kök ve gövdenin boyutlarında meydana gelen farklılıklar sakınma mekanizmasına örnek olmaktadır. Direnç gösterme durumunda ise bitkide stresin yarattığı etkilerin onarılması veya ortadan kaldırılması vardır (Kılınç ve Kutbay 2004).

Ayrıca stres faktörleri ile bunların kombinasyonu da direnç mekanizmasını etkileyen faktörlerdendir. Bitki bu durumda adaptasyon veya uyum mekanizmalarını devreye sokar. Bu iki kavram her ne kadar aynı gibi bilirse de aralarında önemli farklar vardır. Adaptasyon uzun süren çevresel değişiklikler sonucu kendini gösteren genotipik farklılığı ifade eder (Huner 1998).

Uyum (acclimation) ve adaptasyon (adaptation): Uyum genetik olarak nesilden nesile aktarılamayan; adaptasyon ise; genetik olarak bir sonraki nesillere aktarılabilen stres cevaplarını ifade etmektedir. Öncül bir strese maruz kalmanın sonucu olarak tolerans artmışsa, bitki uyumlanmış (veya hardened) olarak kabul edilir. Adaptasyon ise, genellikle pek çok nesil boyunca seçim sonucu kazanılan, genetik olarak belirlenmiş direncin düzeyini belirler.

Direnç mekanizması ile ilişkili olan bitki özellikleri birden fazla genin kontrolü altındadır ve bu nedenle deneysel anlamda kontrol edilmeleri çok zordur. Transkriptomik, proteomik ve gen ekspresyon çalışmaları, genellikle iki temel grup

altında sınıflandırılan , çeşitli streslerle ilişkili transkriptlerin ve proteinlerin kontrolünü ve aktivasyonunu tanımlamaktadır. Bunlardan birinci grup hücre sinyal mekanizması ve transkripsiyonel kontrolü kapsar, diğer grup ise membran korunumundaki ozmoprotektanlar, antioksidantlar ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) süpürücüleri gibi fonksiyon göstermektedir (Valliyodan and Nguyen 2006) Bu aşamadaki değişimler; doku ile organel düzeyinde ve moleküler seviyede meydana gelmektedir (Levitt 1980; Edreva 1998; Acar 1999; Kadioğlu 1999).

Stres koşulları altında bitkinin hayatta kalabilmesi, çevresel sinyalleri algılamasına, bu sinyallerin iletilmesine ve çeşitli fizyolojik ve kimyasal değişimleri başlatmasına bağlıdır (Jiang and Zhang 2003). Bitkilerin bu uyarılara verdikleri yanıtlar, stres koşullarına uyum sağlamasını kolaylaştırmaktadır (Arora *et al.* 2002; Scavalios 2005)

Birçok bitki, stresin öldürücü olmayan dozlarına maruz kaldıktan sonra strese daha dayanıklı olabilir. Bu olay kuvvetlenme (hardening) veya aklimasyon (uyum veya alışım) olarak adlandırılır. Diğer bir yaklaşımla aklimasyon yeni bir çevreye maruz kalan bitkideki kalıtsal olmayan değişikliklerdir. (Hale and Orcutt 1987; Salisbury and Ross 1992; Kocaçalışkan 2004).

Stres altındaki bitkiler üzerinde çalışma yapılmasının iki önemli nedeni vardır. Birincisi bitkilerin strese karşı direnç mekanizmasının öğrenilmesidir. İkincisi ise tarımsal alanlarda stres altında bulunan bitkilerin söz konusu streslere dayanma yeteneklerinin ölçülmesi ve dolayısıyla daha verimli ürün elde edilmesidir.

Yeryüzünde artan insan nüfusuna karşın tahıl üretimi, çevresel streslerin neden olduğu olumsuz etkiler nedeniyle azalmaktadır. Bu nedenle oluşacak olan gıda düzeyindeki azalmanın giderilmesi için strese karşı toleranslı varyetelerin geliştirilmesi gerekmektedir (Mahajan and Tuteja 2005).

1.4. Soğuk (Üşüme) Stresinin Bitkiler Üzerinde Etkileri

Her bitki kendi büyüme ve gelişmesi için optimum olan belirli bir sıcaklık noktasına ihtiyaç duyar. Belirli sıcaklık koşulları bir bitki için optimum olurken, diğer bitki için strese neden olabilir (Mahajan and Tuteja 2005). Bu sıcaklık derecesinin altındaki sıcaklıklar bitkilerde, soğuk stresi olarak algılanmaktadır (Mahajan and Tuteja 2005) Soğuk stresi ürün verimini, kalitesini, hasat sonrası dayanıklılığını ve türlerin dağılımını kısıtlayan çevresel streslerden biridir (Pearce 1999; Chinnusamy *et al.* 2006)

Bir bitkinin soğuk duyarlılığı, bazı türlerin soğuğa karşı uyum yeteneği olsa da, maruz kalma zamanı ve yapısal hasarın ortaya çıkmasına göre hafif, orta ya da şiddetli olarak sonuçlanır (Wise 2000). Bitkiler soğuk stresinden etkilenmelerine göre 3 gruba ayrılırlar; soğuğa hassas olanlar (12°C'nin altındaki sıcaklıklardan zarar görürler), soğuğa dayanıklı fakat dona duyarlı olanlar (12°C'nin altındaki sıcaklıklara uyum sağlayabilir, fakat donma sıcaklıklarında hayatta kalamazlar) ve dona dayanıklı olanlar (donma sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda hayatta kalabilirler ve bu sıcaklıklara uyum sağlayabilirler). Soğuk zararlanmasını oluşturan sıcaklıklar 0 derecenin üzerinde ve ürüne göre değişmekle birlikte 5 ve -15 derecenin altındaki sıcaklık dereceleridir (Kader 1992; Skog 1998). Soğuk zararlanmasının esas nedeni; hücre membranlarının zarar görmesidir. Bu olay etilen üretimi, solunumda artma, fotosentezde azalma, enerji üretiminde sorunlar, etanol ve asetaldehit gibi toksik bileşiklerin birikimi ve hücre yapısında değişim gibi reaksiyonlara yol açar (Raison and Orr 1990; Skog 1998). Kısa süreli soğuğa maruz kalma durumunda bitki zararlanmayı onarabilir. Ancak bu süre uzadığında geri dönüşümü olmayan zararlanmalar meydana gelebilir. Soğuk zararlanmasının belirtileri ürün daha yüksek sıcaklığa transfer olduktan hemen sonra yada birkaç gün içinde oluşabilir. Soğuk zararlanmasının etkisi düşük sıcaklıkta bekleme süresi ve ürünün zararlanmaya neden olan sıcaklıklara karşı dayanıklılığına bağlıdır (DeEll 2004).

Soğuk; bitkilerin gelişimini, verimini ve yayılmasını kısıtlayan en önemli abiyotik faktörlerden biridir. Bitkiler yaşadıkları ortamlarda yaygın olan sıcaklıkları tolere etmek

için çeşitli stratejiler geliştirmiş olmalarına rağmen, aşırı sıcaklıklarla karşı karşıya kaldıklarında hasar görürler. 12 derecenin altındaki sıcaklıklarda meydana gelen soğuk (üşüme) hasarı, bitkinin soğuğa maruz kalmasıyla tetiklenen fiziksel ve fizyolojik değişiklikler olarak ortaya çıkar. Fizyolojik değişiklikler primer ve sekonder olarak düşünülür. Primer hasar, bitkide bir fonksiyon bozukluğuna neden olan ilk tepkidir. Fakat, bu fonksiyon bozukluğu geri dönüşümlü olup sıcaklığın normal koşullara yükselmesi sonucunda kolayca düzelebilir. Sekonder hasar, primer hasarın bir sonucu olarak oluşan fonksiyon bozukluklarıdır. Geri dönüşümlü olmayabilir. Karakteristik soğuk hasarının görsel belirtileri, ikincil soğuk hasarından kaynaklanır.

Soğuk hasarının belirtileri, bitkinin maruz kalma süresinin artması ve sıcaklığının daha da azalmasıyla artar (Rab and Saltveit 1996). Soğuk hasarı belirtileri; sıcaklığa, maruz kalma süresine, bitkiye (genotipe), bitkinin gelişim evresine, soğuk uygulanan dokuya(yaprak, kök, gövde), rüzgara, suya, besinlere ve ışık gibi diğer çevresel koşullara bağlı olarak değişir (Saltveit and Morris 1990).

Genel olarak soğuk hasarı belirtilerini; yaprak genişliğinin azalması bitki büyüme hızının azalması, hücresel otolizin ve yaşlanmanın artması, programlanmış hücre ölümleri, ışıktaki fotooksidasyonun sonucu olarak klorofilin kaybı nedeniyle klorozis oluşumu, hücre zar yapılarının bozulması ve bunun sonucu olarak hücresel bütünlüğün bozulması, protoplazmik akışın en alt düzeye inmesi ve nekrozis olarak sıralayabiliriz. (Kratsch and Wise 2000; Mahajan and Tuteja 2005).

Düşük sıcaklık; özellikle tropik ve yarı tropik bölge bitkilerindeki ürün miktarını ve kalitesini en çok kısıtlayan abiyotik stresler arasında yer almaktadır (Yang *et al.* 2005a).

Bununla birlikte, bitkilerin düşük fakat donma derecesinde olmayan sıcaklıklara belirli bir süre maruz kalarak soğuğa karşı dayanıklılığı arttırma yeteneği olarak tanımlanan soğuk uyumunun, çeşitli bitki türlerinde soğuğun neden olduğu hasarı azalttığı bilinmektedir (Thomashow 1999).

Bitkilerde soğuk stresinin; büyüme ve gelişmeyi zar yapısını ve fotosentetik aktiviteyi olumsuz etkilediğini ve soğuk uyumunun ise soğukun neden olduğu bu olumsuz etkileri azalttığını bildiren bir çok araştırma bulunmaktadır (Scebba *et al.* 1999; Venema *et al.* 2000; Kratsch and Wise 2000; Allen and Ort 2001; Domisch *et al.* 2002; Kuk *et al.* 2003; Provart *et al.* 2003; Mahajan and Tuteja 2005; Nayyar *et al.* 2005a; Posmyk *et al.* 2005; Huang and Guo 2005; Goulas *et al.* 2006; Martz *et al.* 2006; Hu *et al.* 2006; Lundmark *et al.* 2006; Bertamini *et al.* 2007; Morsy *et al.* 2007; Rymen *et al.* 2007; Bertamini *et al.* 2007).

Bowler (1992)'e göre düşük sıcaklık, bitkilerde zar lipidlerinin peroksidasyonuna, proteinlerin denatürasyonuna ve yığılmalarına, DNA zincirlerinin kırılmasına, ve enzimlerin inaktivasyonuna neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROT) [süper oksit radikali (O_2^-), singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH.) gibi oluşumlara neden olarak oksidatif hasarlara yol açmaktadır. Özellikle lipid peroksidasyonu (Bailly *et al.* 1996; Kuk *et al.* 2003; Posmyk *et al.* 2005; Nayyar *et al.* 2005a; Hu *et al.* 2006) ve dehidrasyon (Mahajan and Tuteja 2005) sonucu oluşan zar bütünlüğünün bozulması, soğuk stresinin bitkiler üzerindeki en önemli etkilerinden biridir.

Ayrıca ışıktaki düşük sıcaklığa maruz kalma sonucunda ROT [PSI'in verici bölgesinde oksijenin indirgenmesi ile süperoksit radikali veya klorofil molekülünün enerjisini oksijene transfer ederek singlet oksijen oluşumu] üretiminin artmasının, hücresel bileşenlerde oksidatif reaksiyonlara ve fotoinhibisyona neden olduğu bilinmektedir (Wise 1995; Kratsch and Wise 2000; Foyer *et al.* 2002; Hogewoning and Harbinson 2007). Fotokimyasal olmayan yol ile enerjinin ısı olarak dağıtıldığı ışık-koruyucu mekanizmalar, düşük sıcaklık stresi sırasında oluşan ışık zararlarına karşı korumada yardımcı olabilirler, ancak bu mekanizma tek başına hasarları önlemek için yeterli olmamaktadır.

Soğuk (üşüme) ve donma streslerinin doğası farklıdır. Soğuk stresi hücreler üzerine düşük sıcaklığın doğrudan etkisidir. Donma ise dolaylı olarak rol oynar, hücreleri buz

oluşumu ile hasara uğratar (Pearce 1999). Sıcaklıkla ilgili stresin üç tipi vardır: Isı (yüksek sıcaklık), üşüme (düşük pozitif sıcaklık) ve don (düşük negatif sıcaklık). Her bir stres tipi için bir eşik sıcaklığının belirlenmesi gerekir. Wery vd (1993) soğuk dönemde yetiştirilen yemeklik tane baklagiller için sıcaklıklar şu şekilde önermiştir:

Don: Kar örtüsü olmadan 0°C'nin altındaki günlük minimum sıcaklık olarak tanımlanmaktadır.

Üşüme: 0-10°C arasındaki günlük ortalama sıcaklıktır.

Isı: 25°C'nin üstündeki günlük maksimum sıcaklık olarak ifade edilir.

Sıcaklık bitki topluluklarının yeryüzündeki dağılışında çok etkili olan bir faktördür. Dünya üzerinde karasal alanın yaklaşık %25'lik kısmı 15°C'nin altına düşmeyen ve don zararı olan bölgelerden oluşmaktadır. Geri kalan bölgelerde ise sıcaklığın 0°C'nin altına düşmesi nedeniyle özellikle hassas bitkiler zarar görebilmektedir (Sakai and Larcher 1987; Scebba *et al.* 1998; Zhao 1998; Pearce 1999; Vagujfalvi *et al.* 1999; Pearce 2001; Szalai *et al.* 2001; Puhakainen 2004).

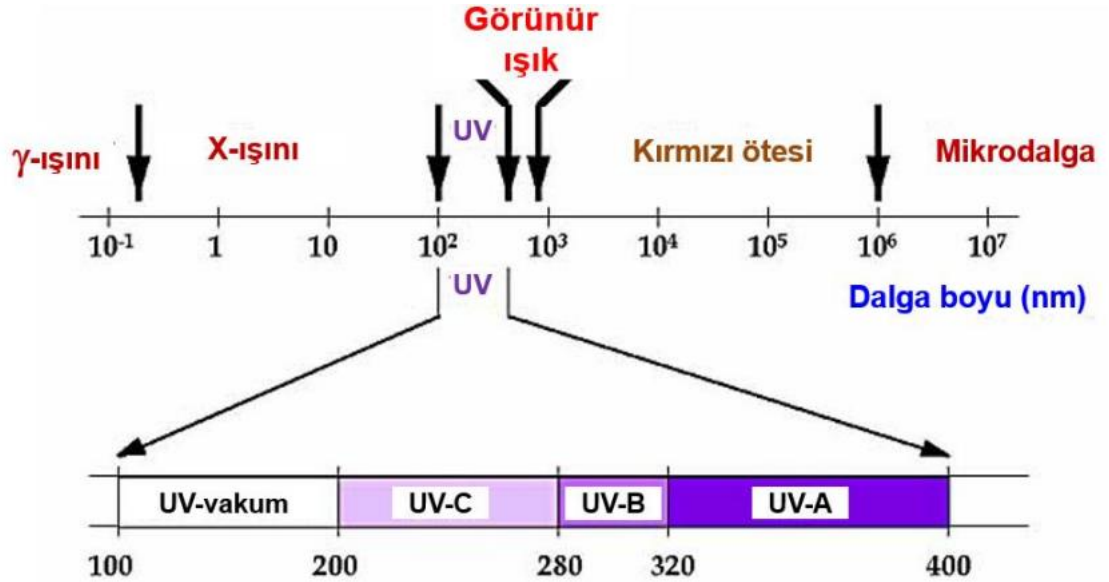
Bitkisel üretimde soğuk stresinin önemi artmış ve bu konu araştırmacılar tarafından kapsamlı şekilde ele alınmaya başlanmıştır. Bu konuda bitkilerde soğuğa dayanımının sağlanması amacıyla klasik ıslah veya moleküler teknikler ile ilgili birçok farklı bitkiler üzerinde çalışmalar yürütölmeye devam etmektedir (Szalai *et al.* 2001).

Antioksidant enzimler birçok türde soğukla teşvik edilir ve bunun sonucunda da oksidatif stres direncinde bir artış meydana gelir (Hull *et al.* 1997; Prasad 1997). Ayrıca flavanoid, antosiyanin ve ksantofiller gibi antioksidantlar da soğuk uyumu sırasında teşvik edilir ve bitkinin soğuk toleransını arttırırlar (Leng *et al.* 2000).

Soğukta ve kontrol şartlarında depolanan elmalarda depolama sonunda POD aktivitesinin düştüğü bulunmuştur (Leja *et al.* 2003). Soğuk etkisiyle süperoksit dismutaz (SOD) enziminin aktivitesi üzerine yapılmış araştırmalarda bulunmaktadır. Alp çiminde aylık olarak SOD aktivitesindeki değişimlere bakılmış ve havaların soğuduğu sonbahar mevsiminde aktivitenin arttığı kaydedilmiştir (Zhou and Zhao 2004). Fasulye fidelerine uygulanan düşük sıcaklıklar, bitkinin yapraklarında kontrol bitkileriyle kıyaslandığında CAT ve POD aktivitelerinde istatistiki anlamda önemli düzeyde artışlara yol açmıştır. Düşük sıcaklıklarda ROT oluşum oranı artar, çünkü absorblanan enerjinin gönderileceği yerler azalır (Hull *et al.* 1997; Scebba *et al.* 1998). Soğuk stresi gibi çevresel stresler metabolik fonksiyon bozukluklarına ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretiminin artmasına neden olurlar.

Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada, soğuğa dirençli bitkilerin soğuk stresine karşı tolerans sağlamak için özel mekanizmalar geliştirdikleri çok sayıda araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Griffith 1997; Ewart 1999; Yu and Griffith 2001; Atıcı and Nalbantoğlu 2003; Taşgın *et al.* 2006; Mutlu 2009; Esim 2011). Kışlık bitkilerde soğuk toleransının artması, düşük sıcaklığa önemli bir uyum (aklimasyon) periyodundan sonra oluşur. Bu peryod, birçok farklı mekanizmanın yanında, düşük sıcaklıkta sentezi artan proteinlerin toplamını da sağlar. Bu proteinlerin bazıları, donmadan koruyucu kriyoproteinler, kinaz düzenleyicileri (regülatörleri), dehidrin içerenler ve intraselüler olanlardır (Jarillo 1994; Close 1997; Wisniewski 1999; Mutlu 2009; Esim 2011). Ayrıca, soğuğa karşı dayanıklılığın kazanılmasında artan antioksidan savunma sistemlerinin de bu mekanizma içerisinde belirgin role sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Yang *et al.* 2001; Posmyk *et al.* 2005; Taşgın *et al.* 2006; Morsy *et al.* 2007; Mutlu 2009; Esim 2011). Peroksidaz (POD) enziminin çok sayıda fizyolojik olayda rol oynadığı ve birçok metabolik olayın gerçekleşmesine yardımcı olduğu açıktır. Stres altındaki bitkilerde POD aktivitesinin arttığı bilinmektedir (Gaspar *et al.* 1991).

1.5. UV-B Stresi



Şekil 1.1. Elektromanyetik ışık spektrumu ve UV bölgesi (Alaçık 2014).

Şekil 1.1’de görüldüğü gibi ultraviyole (UV) ışık spektrumu ve UV-B stresi, ışık spektrumunun 200-400 nm arasındaki dalga boylarını kapsar. Genel olarak; UV, dalga boyu aralıklarına göre üç gruba ayrılır. Canlılar için en zararlısı 200-280 nm arasındaki UV-C’dir ve normal koşullarda yeryüzüne ulaşmaz. İkinci grubu, bitkiler üzerinde zararlı değişikliklere yol açan 280-320 nm arasındaki UV-B ve sonuncu grup ise daha az zararlı olan 320-400 nm arasındaki UV-A’dır. Bu aralık insan gözüyle görünmeyip, sadece bazı böceklerin algılayabildiği dalga boylarıdır.

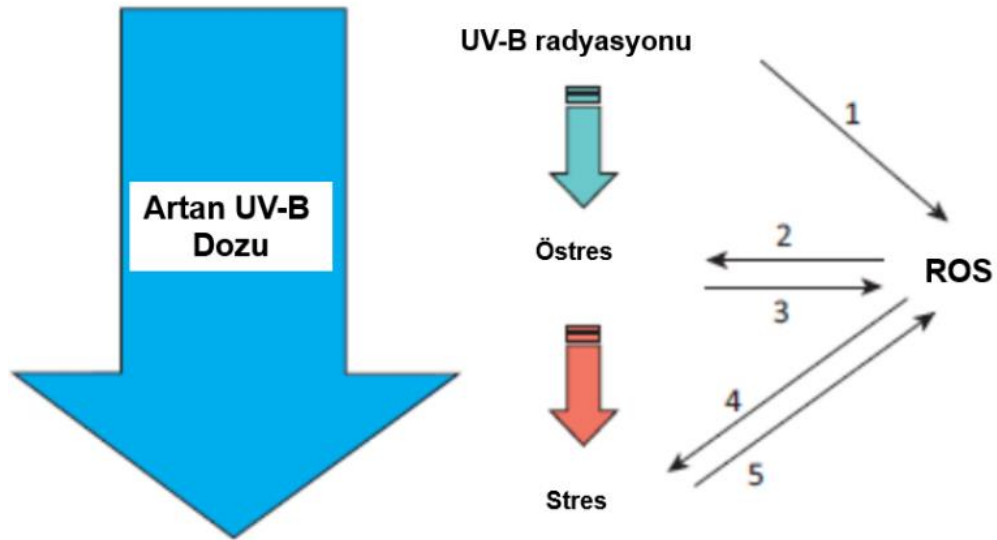
Stratosferik ozon tabakası dünya atmosferindeki UV-B absorbe eden temel tabakadır (Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü’ne göre 10 ppm ozon yoğunluğuna sahip olduğu belirtilmiştir) ve bu tabakanın incilmesi ile dünya yüzeyine ulaşan, tarım üretimi ve doğal bitki örtüsü için potansiyel tehlike teşkil edebilen UV-B radyasyonun artmasına neden olur .

Stratosferik ozon tabakasındaki incelme, dünya yüzeyine ulaşan UV-B düzeyini artırır. Bitkilerin UV-B radyasyonuna tepkisi, büyük oranda hem yaprak morfolojisi hem de

yaprak hücrelerindeki fizyolojik ve biyokimyasal süreçteki değişiklikleri içeren koruma mekanizmasının gelişmesine bağlıdır. UV-B radyasyonuna tolerans çeşitli sekonder maddelerin ve UV-B absorbe eden bileşiklerin (özellikle flavonoidlerin) üretimine bağlıdır. UV-B absorbe eden bileşikler, asıl olarak yaprak epidermisinde birikir ve mezofilde UV-B kaynaklı DNA zararını, fotosentetik araçları ve membran lipidlerinin zarar görmesini önlemek için UV-B'ye etkili filtre görevi yapar. Ayrıca, flavonoidlerin etkili bir serbest radikal tutucu aktiviteye de sahip olduğu bildirilmektedir.

Biyosferde düşük düzeydeki UV-B, yüksek düzeydeki UV-A (UV-B'nin 10-20 katı) ve PAR (UV-B'nin 60-600 katı) ile birlikte DNA dimerizasyonu için gereklidir. UV-A ve PAR dalga boyları fotoreaktivasyonun devam etmesi ve fotoreaktivasyon kapasitesinin kontrolü için çok uygundur.

1.5.1. UV-B stresinin bitkiler üzerine etkisi



Şekil 1.2. UV-B radyasyonu doğrudan ROS oluşumunu tetikler

*ROS, UV-B uyumuna veya oksidatif zarara sebep olur. UV-B yanıt olarak da üretilebilir. NADPH oksidazı aktive eder veya metabolik yola (fotosentez elektron taşınması gibi) zarar verir (Hideg *et al.* 2013)

UV-B'nin bitkiler üzerindeki etkisi; büyüme, gelişme, morfoloji ve fotosentezdeki değişiklikler ile, DNA, protein ve membran zararlarını içerir.(şekil 1.2.)

UV-B radyasyonu duyarlılığı ya da dayanıklılığı, bitkiler arasında farklılık göstermekte, hatta aynı familyadaki türler arasında bile oldukça farklı olduğu bildirilmektedir. Görünür Radyasyon (Işık) ve Ultraviyole Radyasyon Stresi olmak üzere ikiye ayrılır. Işık, yeşil bitkilerin klorofilleri yardımıyla su ve havadaki CO₂'nini kullanılarak fotosentez yapabilmeleri için gerekli olan enerjidir. Bitkilerin gelişmesinde ışığın renkleri, yoğunluğu (intensitesi) günlük ışıktanma süresi (fotoperiyod) ve gelişme süresi boyunca gelen toplam ışıktanma süresi önemlidir. Bitkilere ulaşan ışığın yoğunluğu ve süresi bitki organlarının morfolojik ve fizyolojik özelliklerini etkiler. Işık yoğunluğu ekstrem seviyelere ulaşırsa bitkinin normal fonksiyonları yavaşlar yada sona erer.

Türlerin hassasiyeti, yaprak kalınlıklarına veya artan koruyucu pigmentlerin düzeyine bağlı olarak değişir.

Yaşam döngüleri boyunca UV-B radyasyonu ile karşılaşır, bunun etkisini bünyesinde biriktiren çok yıllık bitkiler, tek yıllık bitkilerden daha farklı etkilenirken; tropikal bitkiler, UV-B ışınından az miktarda bile artsa önemli derecede etkilenmektedir. Yüksek seviyede UV-B radyasyonuna maruz kalan *Triticum aestivum*'um biyokütlesinde azalma saptanmıştır (Correia *et al.*) Bu azalmanın nedeninin; yaprak alanının, fotosentez ve transpirasyon oranlarının ve su kullanımının etkinliğinin azalmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Bitkiler UV-B ile karşılaştıklarında peroksidaz (POD) ve süperoksitdismutaz (SOD) içeren antioksidant enzim sistemlerini aktive ettiği belirlenmiştir.

1.5.2. UV-B stresinin bitkilerdeki fizyolojik etkileri

UV-B radyasyonu bitkilerin genetik materyal ve hücre membranlarında zarara sebep olmakta ve bunun sonucu olarak hücrede pek çok metabolik süreci etkilemektedir. UV-B radyasyonunun etkilediği hedeflerden biri de DNA'dır. Aşırı UV-B radyasyonu

doğrudan DNA ile bazlarının yapısını bozmaktadır. Eğer DNA'nın bütünlüğü korunmaz ve foto-lezyonlar onarılmazsa, DNA'nın transkripsiyonu ve replikasyonu durur. Ayrıca bitkilerdeki hücre zarı, sitoplazmaya dışarıdan belirli maddelerin girmesini ve bazı maddelerin dışarı atılmasını sağlayan seçici geçirgen zardır. Zar yapısındaki fosfolipidlerin hidrolizi veya parçalanması sonucu lipid yapısı değişir. Ayrıca lipid sentezinde görev alan enzimlerin aktivitesindeki değişimler de membran yapısında değişiklikler meydana getirir. Membran yapısındaki herhangi bir değişiklik membran akışkanlığını, geçirgenliğini etkiler. Biyomembranlar, UV-B radyasyonun asıl hedefidir. Artan UV-B radyasyonu ile plazma membranlarında ATPaz miktarının azaldığı, membran geçirgenliğinin arttığı ve doymamış yağ asitlerinin etkilendiği bilinmektedir. UV-B radyasyonunun fotosentezi de etkilediği bilinmektedir. Bununla ilişkili olarak, yüksek fotosentetik foton akış yoğunluğunun (PPFR, 400-700 nm) UV-B'nin etkilerini azalttığı bildirilmektedir. Bitkilerin UV-B radyasyonuna maruz kalması; fotosentetik pigmentlerin miktarında düşüş, membran hasarıyla bağlantılı olarak tilakoid membran bütünlüğünde kayıp, stomatal iletkenlikte artma ve Rubisco aktivitesinde azalma ile sonuçlanır. UV-B'nin bu etkileri, yüksek UV-B ve düşük PAR ile birlikte görülmektedir. Fotosentez gibi önemli bir metabolik sürecin gerçekleştiği hücre organeli olması nedeniyle, bitkilerin çevresel stres faktörlerine maruz kalması durumunda kloroplastın yapısının korunması çok önemlidir. Kloroplastlar çevresel değişkenlerden ilk etkilenen organellerden biridir. Çünkü kloroplastlar, oksijen radikallerine en çok maruz kalan hücre organelidir. Yaprakların canlılığını yitirmesi (senesens gibi) sırasındaki en önemli olay, membran lipidlerinin parçalanmasıyla kloroplastların yapısal bütünlüğünün bozulmasıdır. Tilakoid membranın hasar görmesi mutlaka fotosentezde önemli bir düşüşe ve özellikle tarım bitkilerinde üründe azalmaya sebep olmaktadır (An and ark).

Yüksek UV-B koşullarında PSII'nin fotosentetik yapısının en hassas kısmı olduğu ortaya konulmuştur. PSII, sudan plastokinonlara elektron transferini kataliz eden, protein-pigment kompleksinden ibaret bir yapıdır. Sudun oksijen oksidasyonunu katalizlediği ve elektron taşınmasını gerçekleştirdiği için PSII, fotosentezin temel düzenleyicilerinden biridir. Yüksek UV-B radyasyonunun ışık reaksiyonlarını

etkilemesinin yanında, Calvin döngüsü enzimlerinin kaybına ve stomanın kapanmasına neden olduğu da bilinmektedir. Calvin döngüsü ile PSI ve PSII'nin görev aldığı ışık reaksiyonlarının, değişen çevresel koşullarda dengeli olması önemlidir. Stres koşulları ile bu denge bozulduğunda; CO₂ fiksasyonunda görev alan enzimlerin aktivitesinin değişikliğe uğradığı ve sakkaroz sentezinin inhibe olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, kloroplast ile sitozol arasında madde alışverişi olmadığından ATP sentezinin engellendiği ve kloroplastlarda fosforlanmış ara ürünlerin biriktiği saptanmıştır. Ayrıca, UV-B absorbe eden pigmentlerin birikiminde belirgin bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Klorofil sentezinin yaprakların su içeriğinden etkilendiğine dair pek çok kanıt vardır. Lay ve ark. yaptıkları çalışmada, uzun süreli az miktarda su eksikliğinin klorofil a oluşumunu inhibe ettiğini ve PSII aktivitesini de etkilediğini göstermiştir. Keiller ve arkadaşları, orman ağaçlarının uzun süreli (5 yıl) UV-B radyasyonuna maruz kalması sonucu fotosentez, transpirasyon ve su kullanım etkinliğinde azalmalar meydana geldiğini kaydetmişlerdir

Bilindiği gibi dünya topraklarının %10'undan daha azı tarıma elverişlidir. Bu nedenle aşırı olumsuz şartlardan kaynaklanan streslere dayanabilen ya da bu stresleri tolere edebilen bitkiler yetiştirmeye ihtiyaç vardır. Daha dayanıklı ve toleranslı bitkiler yetiştirmek için strese dayanıklılık ve tolerans mekanizmalarının iyi bilinmesi gerekmektedir (Bidwell 19749). Bununla birlikte, UV-B uygulaması öncesi diğer bir çevresel faktörlerle ön uygulama yapılması durumunda bitkilerin UV-B stresinde daha iyi performans sergilediği belirlenmiştir. Sıcaklık stresi ile UV-B radyasyonu arasında potansiyel negatif bir ilişki olabileceği bildirilmektedir.

1.6. Radikaller

1.6.1. Radikal Kavramı ve Reaktif Oksijen Türleri

Atomlar, proton ve nötronlardan oluşan pozitif yüklü bir çekirdek ile çekirdeğin etrafında hareket eden, partiküller ve dalga özelliğine sahip negatif yüklü elektronlardan oluşur. Çekirdek etrafındaki yerleri tam olarak tarif edilemeyen elektronların, bulunma

olasılığının en yüksek olduğu yer orbital olarak adlandırılır. Elektronlar belirli enerji düzeylerinde, birbirlerine zıt hareketli çiftler halinde, çekirdeklerinin etrafında dönerler. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi veya çıkması ile bozulursa, hareketin dengesini bozan bu tek elektron, ortama ya da moleküle yüksek bir aktiflik kazandırır. En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül gruplarına radikal adı verilir. (Valko *et al.* 2004). Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması söz konusu kimyasal türün reaktivitesini olağanüstü arttırdığı için, radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir (Cheeseman and Slater 1993). Hücreler için toksik moleküllerdir (Prasad 1993).

Molekülün kimyasal simgesinin, sağ - üst köşesine konulan nokta veya çizgi ile ifade edilir ($R\bullet$ veya R) Radikaller negatif yüklü, pozitif yüklü veya yüksüz olarak bulunabilirler (Halliwell ve Gutteridge 1984; Southorn ve Powis 1988). Her türden kimyasal ve biyokimyasal tepkime daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar seviyesinde gerçekleşir. Bu özellikleri nedeni ile reaktif oksijen molekülleri, radikaller ve radikal olmayanlar olarak iki grupta incelenebilir (Halliwell and Gutteridge 1984; Halliwell 1991).

Radikaller Nasıl Oluşur Radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşur:

Kovalent bağların kırılması ile; Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık (500-600°C) kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir ve her iki atom üzerinde de paylaşılmamış elektron kalır. **Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile;** Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa radikal formu oluşur. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller gibi hücrel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin de radikal formu oluşur.

Normal bir moleküle elektron transferi ile; Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksidin oluşumuna neden olur. Süperoksit radikalinin yapımındaki artış da, oksijenin diğer radikal türlerinin ve diğer atom merkezli radikallerin oluşumu için uyarıcı fonksiyon görür (Akkuş 1995). Oluşan radikaller eşlenmemiş bir elektrona sahip oldukları için çok kararsızdırlar ve hızla ortamdaki kaybolurlar. Radikaller ortamdaki kaybolurken sahip oldukları tek elektronu ya bir başka moleküle vererek (oksidasyon oluşturarak) ya da başka bir molekülden elektron alarak (redüksiyon oluşturarak), elektronları çift olarak bulundurma eğilimindedirler. Bu eğilim sonucunda etkiledikleri durumdaki yapı, radikal yapıya dönüşür. İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel etkenler ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal oluşumu vardır. Hücrelerdeki metabolik olaylar sırasında farklı tür ve miktarlarda radikaller oluşmaktadır.

Atomik oksijen; yer kabuğunda çok fazla bulunan bir elementtir. Su ve atmosferde bulunan oksijen (O_2) aerobik hayatın bütün formlarının devamı için zorunludur. Mevcut oksijen rezervi, fotosentezin bir sonucu olarak sudaki oksijenin serbest bırakılmasıyla meydana gelir ve solunumda en son elektron alıcısı olarak kullanılır. Bu nedenle reaktif oksijen türleri (ROT) aerobik yaşamın bir parçası olmuştur. Bitkiler ve tüm aerobik canlılar için atmosferik oksijen (O_2) düzeyi oldukça önemlidir. O_2 normal koşullar altında bitki büyümesi ve gelişmesi için gerekli iken, sentezi gereğinden fazla arttığı zaman, ölüm ile sonuçlanabilecek hücre hasarları oluşmasına neden olabilir (França 2006). Bunun nedeni, moleküler O_2 'nin hücrede sürekli indirgenerek çeşitli aktif oksijen türlerini oluşturmasıdır. Tüm hücrelere kolayca girebilen ve hücre içerisinde en çok kullanılan molekül olma özelliğine sahip olan madde moleküler oksijendir. Aerobik metabolizmadaki canlılar için ise, serbest radikallerin en önemli kaynaklarından birisi oksijendir. Radikaller, bütün organizmalarda yaşamsal faaliyetlerin bir sonucu olarak üretilirler, aerobik hücrelerin tüm fonksiyonlarında, metabolizma sırasında veya patolojik durumlarda birer yan ürün olarak meydana gelebilir ve hücrelerde çeşitli değişikliklere neden olabilirler. Oksijenin elektron alarak indirgenmesi reaktif oksijen

türlerinin (ROT) oluşmasına neden olmaktadır. ROT'lar, DNA, pigmentler, proteinler ve lipitler gibi diğer hücrel moleküllerle ve metabolitlerle etkileştiklerinden dolayı doğada oldukça reaktiftirler (McCord 2000; Mitler 2002). Bu şekilde metabolizmaya zarar verirler ancak sinyal iletiminde ikincil mesajcı olarak görev yapabilmektedirler (Ashraf 2009). ROT'lar normal koşullarda metabolik olaylar esnasında üretilirler ancak düşük konsantrasyonları bitkilerin faaliyetlerini etkilemez.

Yaşadığımız çevre koşullarında nasıl fiziksel ve kimyasal etkiler ile çeşitli radikal yapımı var ise, hücre içerisinde de ciddi ve çeşitli miktarlarda radikal üretimi söz konusudur. Radikaller; elektron transfer edilirken, enerji üretimi sırasında ve diğer metabolik işlemler ile üretilmektedir (Halliwell 1996).

Bu radikaller bir çift halde bulunan kararlı elektronlardan bir elektron alarak reaksiyonu durdurmakta ve kendi tek radikalini eşlemekte geriye kalan tek elektrondan ise ortaya yeni serbest radikal çıkabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, serbest radikallerin yaşlanma ve dejeneratif hastalıklara yol açtığı bilinmektedir (Harman 1956).

Bitkiler yaşamları boyunca hem ekzojen hemde metabolik sürecin bir parçası olarak endojen radikal ve reaktif oksijen türlerine maruz kalırlar. Canlılar bu serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin etkilerini nötralize eden bir antioksidan sisteme sahiptir ve bu sistem oksidanlar ile denge halindedir. Bu dengenin oksidanlar lehine kayması sonucu oksidatif stres gelişir. Kuraklık, ağır metal, aşırı sıcak ve soğuk gibi çeşitli stres faktörleri genel olarak bitki dokularında reaktif oksijen türlerinin üretimini hızlandırarak ortamda O_2^- ve H_2O_2 oranının artmasına ve buna bağlı olarak dokularda oksidatif stresin meydana gelmesine neden olurlar (Gill and Tuteja 2010).

Oksijenli yaşamla birlikte aerobik organizmalar ortaya çıkmış ve oksijen kaynaklı radikaller oluşmaya başlamıştır. Serbest radikaller bitkilerde herhangi bir stres sonucu aşırı derecede üretilirler (Scandalios 2002) ve nötralize edilmedikleri zaman hücrelerdeki makromoleküllere ciddi zarar verirler. Bunun sonucunda ciddi hücre, doku veya organ hasarı meydana gelebilir (Koch *et al.* 2004). Bu etkileri oksidatif stres olarak

bilinen durumla yakından ilişkili olup lipid peroksidasyonu, proteinler arasında disülfid bağlarının oluşumu, DNA hasarı gibi sonuçlara neden olmaktadır (Uysal 1998). Tüm bu etkiler, serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulduğunu göstermektedir.

Oksidatif stres, serbest radikallerin, özellikle reaktif oksijen türlerinin [süperoksit molekülü ($O_2^{\bullet-}$), singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikallerinin ($OH^{\bullet}$) oluşumunu içeren ve reaktif oksijen türleri (ROT) aracılığıyla bitkilerde zararlara neden olan stres olarak tanımlanır. ROT, tepkimeye girmeye oldukça yatkındır ve lipidler, proteinler ve nükleik asitler üzerinde oksidatif hasara neden olarak normal hücre metabolizmayı değiştirebilmektedir (Alscher *et al.* 1997; Raychaudhuri 2000; del Rio *et al.* 2003; Imlay 2003). Singlet oksijen (1O_2), süperoksit molekülü ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$), perhidroksil radikali ($HO_2^{\bullet}$); moleküler O_2 'nin H_2O oluşturmak için enerji veya elektron transferinin gerçekleştirdiği indirgenme reaksiyonlarının ara ürünleridir (Breusegem *et al.* 2001; Apel and Hirt 2004). Ayrıca reaktif oksijen türleri; bitki gelişiminde önemli rol oynayan hormonal sinyal üretiminde, hücre duvarı polimer yapısının değişiminde, bitkinin çevreyi algılamasıyla ilişkili mekanizmalarda, gen ekspresyonlarında, metabolik ve fizyolojik düzenlemelerde kritik fonksiyonlara sahip olması nedeniyle “oksidatif sinyal molekülü” olarak da görev alırlar (Foyer and Noctor 2005; Swanson and Gilroy 2010; Palmer and Paulson 1997). Aktif oksijen çeşitleri olarak adlandırılan süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri, lipid peroksidasyonuna ve sonuçta membran zararlanmasına, proteinlerin degradasyonuna, enzimlerin inaktivasyonuna, pigmentlerin azalmasına ve DNA zincirlerinin bozulmasına yol açmaktadır (Fridovich 1986; Liebler *et al.* 1986; Davies 1987; Imlay and Linn 1988; Cheng and Song 2006; Turan 2007; Cadenas 1989; Sairam and Saxena 2000; Johnson *et al.* 2003; Hansen *et al.* 2006). Bitkiler stres koşullarının yıkıcı (zararlı) etkilerini sınırlayabilmek için metabolik yollar geliştirmişlerdir. Stres koşulları sonucu oluşan ROT uzaklaştırma mekanizmalarının yetersiz kalması yüzünden bitkide oksidatif stres meydana getirir. Oksidatif stres protein karbonilasyonuna, disülfid ve ditrozin köprülerinin oluşmasına, hidrofobik etkileşimlerden dolayı protein yığılmalarına neden olur (Tambussi *et al.* 2004).

Zar lipitleri ROT'ların saldırısına uğrayan en önemli hedef moleküller, hücre zarındaki lipid çift tabakasında yerleşmiş bulunan çoklu doymamış yağ asitleridir (Halliwell and Gutteridge 2003). Bu çoklu doymamış yağ asitleri ("poly unsaturated fatty acids", PUFA), $\text{OH}\cdot$ radikali tarafından etkin bir şekilde hasara uğratılır ve böylece lipid peroksidasyon süreci başlamış olur. Lipid peroksidasyon süreci başladıktan sonra, lipid hidroperoksitlerin ve aldehitlerin oluşumuna yol açan bir zincir reaksiyonu şeklinde ve birçok lipid molekülünü etkileyen tek bir oksidatif olay gibi devam eder. Hücre zarındaki hidroperoksitlerin artışı, zarın akışkanlığını, transmembran (zar geçişli) enzimlerin aktivitesini, taşıyıcıların, reseptörlerin ve diğer zar proteinlerinin işlevini belirgin şekilde etkiler (Wagner *et al.* 1994). Sonuçta hücre zarının iletkenliği ve seçiciliği değişir, hücre hacmi homeostasisinde ve hücre metabolizmasında aksamalar meydana gelir (Chen *et al.* 1995).

Ayrıca, hidroperoksitler ve aldehitler, hücre ve organeller üzerinde doğrudan toksik etki gösterebilir (Aw 1998) ve sitokin üretimini düzenleyebilirler (Jayatilake and Shaw 1998). Hücre detoksifikasyon sistemlerinin, $\text{OH}\cdot$ ve özellikle H_2O_2 öncüllerini ortadan kaldırmada yetersiz kaldığı durumlarda lipid peroksidasyonunda çok miktarda artış gözlenmektedir (Halliwell and Gutteridge 2003).

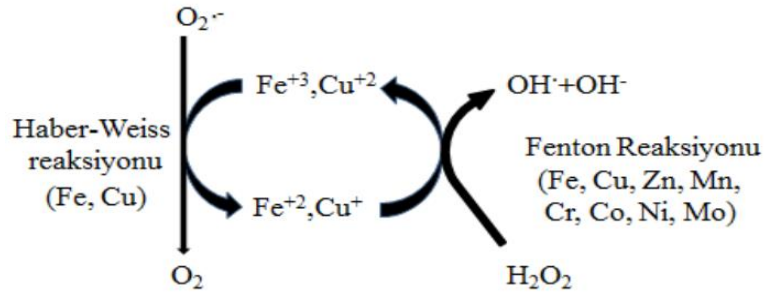
Protein oksidasyonunun yaşlanma, oksidatif stres ve birçok hastalık ile ilişkili olduğu iyi bilinmektedir (Linton *et al.* 2001). Protein oksidasyonu, bir proteinin doğrudan reaktif oksijen türleri tarafından veya dolaylı olarak oksidatif stresin ikincil yan ürünleri tarafından kovalent modifikasyona uğratılması olarak tanımlanmaktadır. Proteinlerdeki bu yapısal değişiklikler, bağlanma ve enzim aktivitelerinin inhibisyonu, agregasyon ve proteolize karşı aşırı duyarlılık, hücre içine çeşitli maddelerin artan ya da azalan miktarları, hücre immünojenetiğinin değişmesi gibi çok çeşitli işlevsel sonuçlar doğurabilir (Shacter 2000). Protein oksidasyonuna yol açan ajanlar H_2O_2 (Garrison *et al.* 1962) ve hipoklorit (HOCl) (Handelman *et al.* 1998) gibi reaktifleri, parakuat (Korbashi *et al.* 1986), CCl_4 (Hartley *et al.* 1997) ve asetaminofen (Tirmenstein and Nelson 1990) gibi ksenobiyotikleri, Fe^{+2} (Berlett and Stadtman 1997) ve Cu^{+1} (Yan *et al.*, 1997a) gibi indirgenmiş geçiş grubu metallerini, O_2 varlığında γ radyasyonunu (Davies and

Delsignore 1987), aktive olmuş nötrofilleri (Oliver 1987), ultraviyole ışığı (Hu and Tappel 1992), ozonu (Berlett *et al.* 1996), oksidoredüktaz enzimlerini (Fucci *et al.* 1983) ve lipid peroksidasyonu yan ürünlerini (Berlett and Stadtman 1997) içermektedir.

ROT'lar, amino asitlerin yan zincirlerinde oksidasyona,protein-protein çapraz bağlantılarının oluşumuna, protein fragmentasyonu ile sonuçlanan protein omurgası oksidasyonlarına neden olmaktadır (Berlett and Stadtman 1997; Stadtman 2006). Proteinlerdeki amino asitlerin yan zincirleri oksidasyona çok açıktır. Oksitlenerek değişen amino asit yan zincirleri vardır.

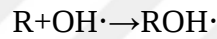
Reaktif oksijen türleri içinde en zararlı olanları $\text{OH}\cdot$ (hidroksil radikali) ile $^1\text{O}_2$ (singlet oksijen) formudur. Hücrelerin bu formların uzaklaştırılmasında kullanabilecekleri bir enzim sistemi yoktur. Bu nedenle oluşan bu formlar biyolojik moleküller ile etkileşime girerek hücresel faaliyetlerin aksamasına ve en sonunda durmasına neden olurlar. Singlet oksijen, elektron taşıma sisteminde görevli olan oksijen molekülünün fazladan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi sonucu oluşur (Arora *et al.* 2002). $\text{OH}\cdot$ radikali ise H_2O_2 ve $\text{O}_2\cdot^-$ den metal iyonları varlığında Haber–Weiss (Cu^+ , Cu^{+2} , Fe^{+2} ve Fe^{+3} iyonları) ve fenton (Fe^{+2} ve diğer geçiş metallerinin Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo iyonları) reaksiyonları ile oluşur (Haber and Weiss 1934; Fenton 1894).

Haber–Weiss ve fenton reaksiyonu sonucu oluşan hidroksil radikali organik substratların oksidasyonunu başlatarak yapılarının bozulmasına neden olur ve bu durum iki yolla gerçekleşir (Arora *et al.* 2002).

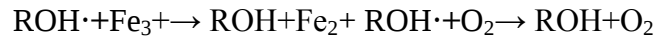


Şekil 1.3. Haber–Weiss ve fenton reaksiyonu (Haber and Weiss 1934; Fenton 1894).

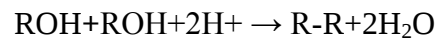
1. Organik substrata hidroksil radikalının eklenmesiyle; Hidroksil radikalının organik substrata bağlanması ile kararsız oksitlenmiş bir molekül oluşur.



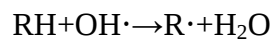
Kararsız okside molekülün hücrede demir iyonu (Fe^{3+}) veya oksijen molekülü ile tepkimeye girmesi sonucu kararlı bir okside molekül oluşur.



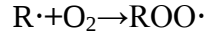
Kararlı okside ürünü haline gelen yapısı bozulmuş substratlar daha sonra birbirleri ile bağ yaparak hücre içinde birikim gösterirler. Bu birikim sonucunda hücre ve doku bütünlüğü bozulmaya başlar.



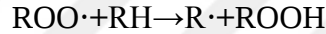
2. Hidroksil radikalının organik substrattan bir hidrojen (H) atomu almasıyla; Organik substrattan hidroksil radikalının bir hidrojen atomu çalması ile oluşan reaksiyonda bir molekül su ile bir organik radikal oluşur.



Oluşan organik radikalde tek bir eşleşmemiş elektron bulunur. Eşleşmemiş elektron ise ortamda bulunan serbest oksijen molekülü ile reaksiyona girerek peroksi radikalini oluşturur.



Peroksi radikali tekrar bir organik substrattan hidrojen atomu çalarak ikinci bir organik radikalın oluşmasını sağlar. Bu şekildeki zincirleme reaksiyon, reaktif oksijen türlerinin katalizlediği tüm reaksiyonlardan daha zararlıdır.



ROT belli redoks tepkimeleri sırasında oluşabildiği gibi oksijenin tamamlanmamış indirgenmesi sırasında, mitokondriada suyun yükseltgenmesinde ya da kloroplastlarda elektron aktarımı sırasında da oluşmaktadır (Apel and Hirt 2004).

ROT'lar bitki hücrelerinin bir çok bölümünde, farklı yollarla sentezlenir. Bitki hücrelerinde, kloroplastlar en önemli hücre içi serbest radikal üretim bölgeleridir (Asada 1999). Plazma membranı, mitokondri, endoplazmik retikulum membranlarında da oluşabilirler (McKersie and Leshem 1994). Kloroplastlar, ROT'ların en önemli kaynağını oluşturur ve bunlar, pigmentlerin yüksek enerjili uyarılması ve elektron akışı sırasında moleküler O_2 'nin indirgenmesi sonucu sentezlenir (Galvez-Valdevieso and Mullineaux 2010). ROT'ların miktarındaki artışın CO_2 fiksasyonunun sınırlandırılmasına bağlı olarak gerçekleştiği ifade edilmektedir (Mittler *et al.* 2004). Mitokondride de elektron taşıma sisteminde yer alan kompleksler tarafından ROT'ların sentezi gerçekleştirilir ve sentezlenme miktarı dışsal uyarımlara bağlı olarak artar (Blokina and Fagerstedt 2010). Peroksizom ise ROT'ların sentezlendiği diğer bir organel olup burada pürin nükleotidlerinin yıkımında görev alan ksantin oksidaz, fotosolunumda glikolat oksidaz ve yağ asidi oksidasyon enzimleri gibi çeşitli enzimler tarafından sentezlenir. Ayrıca ROT'ların sentezi; apoplastta amin oksidaz ile okzalot oksidaz enzimleri tarafından, hücre duvarında ise hücre duvarına bağlı peroksidazlar ve

NADPH oksidazlar tarafından gerçekleştirilir (Mittler 2002; Desikan *et al.* 2005). Moleküler O_2 , normal koşullar altında ortamdan aldığı dört elektron ile H_2O 'ya indirgenir. Ancak, eğer O_2 bulunduğu ortamdan sadece bir elektron alırsa süperoksit molekülüne ($O_{2\cdot-}$) indirgenir. $O_{2\cdot-}$ dış yörüngesinde bulunan paylaşılmamış bir elektrona sahip olması nedeniyle kararsız bir moleküldür. Triptofan, histidin ve metiyonin gibi amino asitlerin oksidasyonu ile hücre zarının zayıflamasına neden olacak lipid peroksidasyonu $O_{2\cdot-}$ tarafından katalizlenir. $O_{2\cdot-}$ stabil bir molekül olmadığı için ya kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından H_2O_2 'ye indirgenir. H_2O_2 'nin biyolojik toksisitesi -SH (tiyol) gruplarını okside etmesinden kaynaklanır. H_2O_2 'nin ortamdan uzaklaştırılması Katalaz (CAT), Askorbat peroksidaz (APX), Glutasyon redüktaz (GR), Peroksiredoksin (PrX) ve Tip-III peroksidaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Diğer ROT'lara göre daha kararlı olan H_2O_2 (Blokhina and Fagerstedt 2010) yüksek konsantrasyonlarda olduğu zaman toksik bir molekül olarak, düşük konsantrasyonlarda olduğunda ise sinyal molekülü olarak görev alır (Neill *et al.* 2002; Fedina *et al.* 2009). Ayrıca, H_2O_2 yüklü bir molekül olmadığı için sıvı ve lipid ortamlardan difüze olabilme özelliğine sahiptir (Blokhina and Fagerstedt 2010). Bu özelliği sayesinde hücreler arasındaki önemli mesafeleri difüzyon ile geçerek hücresel iletişimde sinyal molekülü olarak görev alabilir. Süperoksit molekülü ise yükünden dolayı zarları geçebilecek özelliğe sahip olmamasına rağmen yükseltgenerek yüksüz perhidroksil radikalini ($HO_2\cdot$) oluşturabilir (Breusegem *et al.* 2001; Desikan *et al.* 2004; Dietz *et al.* 2006). Aktif metaller varlığında H_2O_2 , süperoksit molekülü ile birlikte Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksil radikali ($OH\cdot$) oluşturulur (Breusegem *et al.* 2001). Normal koşullar altında ya da çeşitli streslere (soğuk ve donma, kuraklık, kuruma, sel, herbisit uygulamaları, patojen saldırılar ve radyasyon, UV) maruz kalma sırasında hem kloroplast hem de mitokondri ROT (reaktif oksijen türleri) üretir. Elektron taşıma zincirindeki aksaklıklara bağlı olarak CO_2 fiksasyonundaki kısıtlamalar kloroplastlarda ROT oluşumunun esas nedenidir. Mitokondride ise benzer şekilde stres koşulları altında elektron taşıma zincirinde (ETS) meydana gelen aksaklıklar ROT üretiminin başlıca mekanizmasıdır (Davidson and Schiestl 2001; Suzuki and Mittler 2006).

Hücresel reaksiyonlar sonucu geçiş metal iyonlarının (Fe^{+2} , Cu^{+2}) serbest bırakılması hidroksil radikali oluşumunu tetikler. Hidroksil radikali diğer ROT'lara göre daha reaktif olup (Jamei *et al.* 2009) DNA, karbohidratlar, lipidler ve proteinlerle etkileşime girerek bu makromoleküllerde oksidatif hasara neden olurlar (Blokhina and Fagerstedt 2010). Reaktif oksijen türleri arasında en fazla hasar oluşturan hidroksil radikali olduğu için hücreler katalitik metalleri etkin bir biçimde metaloşaperonlara dönüştürerek hidroksil radikalının oluşumundan sakınırlar (Jasper and Kangasjärvi 2009).

1.6.2. Enzimatik antioksidant sistemler

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması vardır. Bu mekanizmalar “antioksidan savunma sistemleri” veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler (Akkuş 1995). Bitkiler hücrelerini ve hücresel bileşenlerini oksidatif strese kaynaklanan zararlı etkilere karşı, antioksidant sistemlerinin enzimatik ve enzimatik olmayan faktörleri ile korumaya çalışırlar (Halliwell 1987; Asada and Takahashi 1987; Ye *et al.* 2000). Antioksidant sistemin enzimatik olmayan faktörleri glutatyon, askorbik asit (C vitamini), α – tokoferol (E vitamini) ve karotenoidlerden oluşur (Kacar vd 2006). Süperoksit radikalının hidrojen perokside dönüşümünü sağlayan süperoksit dismutaz (SOD) ve hidrojen peroksidin suya dönüşümünü sağlayan askorbat peroksidaz (APX) ve katalaz (CAT) gibi enzimler ile askorbat – glutatyon döngüsünde yer alan monodehidro askorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimler antioksidant savunma sisteminin enzimatik bileşenleri arasındadır.

ROT'un zararlı etkisi eş zamanlı ve sıralı olarak harekete geçen çeşitli enzimlerin aktive olmasıyla giderilir. Bu enzimler içerisinde GR (Glutatyon redüktaz), SOD (Süperoksit dismutaz), APX (Askorbat peroksidaz) ve CAT (Katalaz) vardır. Toksik oksijen türevlerine karşı kloroplastlar antioksidatif savunma sistemlerine sahip olup, bu antioksidantların başında; vitamin E, vitamin C, glutatyon, beta karoten ve zeaksantin gelmektedir. Süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon

redüktaz (GR) ve katalaz (CAT) gibi enzimler ise bu radikallerin yok edilmesinde en etkin antioksidatif enzimler olarak bilinmektedir (Cakmak and Marschner 1992; Cakmak 1994; Gossett *et al.* 1994a; Dionisio-Sese and Tobita 1998; Sreenivasulu *et al.* 1999, 2000).

Genel anlamda stres altındaki bitkide antioksidant enzim aktivitelerinin artışı, bitkinin stresten korunmak için gerekli olan bir mekanizmasını devreye soktuğu anlamına gelmektedir. Şöyle ki; stres altında ki bitkide stresin süre ve şiddetine bağlı olarak hücre ve organel zarlarının bu stres nedeniyle tahribat gördüğü ve bu tahribatın sonucunda hücre içinde oksidan özellikteki maddelerin miktarının arttığı görülür. Yapılan MDA içeriği testlerde, üşüme sınır sıcaklığı uygulamasının fasulye bitki yapraklarındaki MDA içeriğini artırıcı yönde etki gösterdiği belirlenmiştir.

Bitkilerde stresin reaktif oksijen türlerine karşı savunmada enzimatik antioksidant sisteminin birçok rolü olduğuna dair çok çalışma vardır (Lima *et al.* 2002; Srivalli *et al.* 2003; Jung 2004; Nayyar and Gupta 2006; Yong *et al.* 2006).

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR) ve diğer askorbat-glutatyon döngüsü enzimleri (monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR)'i içeren antioksidatif enzimler; antioksidant moleküllerin degradasyonunu ve sentezini ya da serbest radikallerin hücreden doğrudan atılmasını katalizleyebilmektedir.

Serbest radikallerin uyardığı hücre yıkımında önemli bir mekanizma da doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı olan lipid peroksidasyonudur (LPO). Lipid peroksidasyonu membran bütünlüğünün yok olmasına, hücrenin elektrolitlere geçirgenliğinin artmasına neden olur. Bu reaksiyon sırasında üretilen monodehidroaskorbat radikalleri kendiliğinden indirgenmiş askorbik asite (AsA) ve oksideaskorbikasite (DAsA) dönüşür veya enzimatik olarak NADPH-bağımlı monodehidroaskorbat radikal redüktaz tarafından indirgenmiş askorbik asite(AsA) dönüştürülür (Hossain *et al.* 1984). Okside olmuş askorbik asit, enzimatik olmayan bir yolla glutatyonun (GSH) indirgenmesiyle

tekrar AsA'ya dönüşür veya DAsA redüktaz tarafından işletilen bir reaksiyonla enzimatik olarak AsA'ya dönüşür (Polle *et al.* 1992). Sonuçtaki okside glutatyon (GSSG), NADPH-bağımlı glutatyon redüktaz ile (GR) tekrar indirgenmiş forma dönüşür. (Foyer ve ark., 1991). Askorbat ve glutatyonun her ikisi kloroplastlarda milimolar düzeylerde bulunmaktadır (Halliwell, 1982). Askorbik asit (AsA), aynı zamanda süperoksit radikali ile direkt reaksiyona girerek onun detoksifikasyonunu sağlar ve okside α -tocopherolün indirgenmesi sürecine katılır (Foyer *et al.* 1991). α -Tokoferol (vitamin E) bilinen en önemli antioksidantlardan biridir.

Yapılan araştırmalarda, stres altında antioksidant miktarlarını ve antioksidatif enzim aktivitelerini daha fazla arttıran bitkilerin oksidatif zarara karşı daha dirençli olduğunu göstermektedir (Wise and Naylor 1987; Spychalla and Desborough 1990). İster genetiksel olarak yüksek düzeylerde olsun, ister stresle yüksek oranlarda teşvik edilmiş olsun, artan düzeyde antioksidant ve antioksidatif enzim seviyelerine sahip bitkilerin bu oksidatif zarara karşı daha fazla dayanıklılığa sahip oldukları belirtilmiştir (Dhindsa and Matowe 1981; Harper and Harvey 1987; Wise and Naylor 1987; Monk and Davies 1989; Spychalla and Desborough 1990).

Süperoksit Dismutaz (SOD)

İlk kez 1969 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanmış olan süperoksit dismutaz (Riemarsma 1991), aerobik metabolik reaksiyonlar esnasında oluşan süperoksit anyonunun, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler (Arora *et al.* 2002; Grene 2002; Candan ve Tarhan 2003; Smirnov 2005). Süperoksit dismutaz (SOD), özellikle stres koşulları altında hücrede oluşan aktif süperoksit anyon radikalini nötralize eder (Beyer and Fridovich 1987). Yüksek organizasyonlu bitkilerde, bu metaloprotein üç formu metal prostetik grubuna bağlı olarak ayrılabilir. Zn-Cu içeren enzim Mn-SOD enzim (mitokondri ile birlikte bulunur) ve Fe-SOD formu kloroplasta yerleşik olup bazı bitki türlerinde bulunur. Hücre bölünmelerinde, süperoksit düzeylerini kontrol etmede, direkt oksidatif hasara karşı hücreleri korumada anahtar role sahiptir (McCord 1985; Sun *et al.* 1988; Flohe and

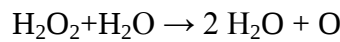
Ötting 1998; Sankarapandi and Zweier 1999). SOD enziminin hepsi metaloprotein yapısında olan 4 izoenzimi bulunmaktadır. İntraselüler izomerlerinden sitozolik SOD bakır ve çinkoya bağlı iken (CuZn-SOD)mitokondriyal SOD manganzeze bağlıdır (Mn-SOD). Genel olarak hücrede sitozolik SOD daha çoktur ve özellikle hemoglobinin otooksidasyonundan oluşan süperoksidi temizlediği için eritrositlerin en önemli antioksidanıdır (Ceballas-Picot *et al.* 1992).

Mitokondrideki solunum zincirinin oksijen radikallerinin en büyük kaynağı olduğu düşünülürse Mn-SOD'nin önemli bir antioksidan olduğu görülür (Mates *et al.* 1999). MnSOD tümör nekrozis faktörü ve interlökin-1 tarafından uyarılmaktadır (Ono *et al.* 1991; Yalçın 1998). SOD enziminin az bir kısmı da snoviyal sıvı ve plazma gibi ekstraselüler sıvılarda bulunur. Ekstraselüler SOD (EC-SOD) bakır ve çinkoya bağlıdır (Sankarapandi and Zweier 1999). Yine bazı bakteri ve kloroplastlarda bulunduğu bildirilen demire bağlı bir SOD (Fe-SOD) ile nikel bağli bir SOD (Ni-SOD) daha tarif edilmiştir (Henle and Linn 1997; Scandalios 2002). SOD, en reaktif hidroksil radikallerini üreten iki Haber-Weiss reaksiyonu substratı olan H_2O_2 ve O_2 'nin konsantrasyonlarını tayin etmesiyle oldukça büyük bir öneme sahiptir (Raychaudhuri 2000).

Reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan savunma enzimatik bir yol oluşturmuştur. Bu yolun ilk savunmasını SOD oluşturur (Pereira *et al.* 2003).Detoksifikasyon sürecinin ilk enzimi olup süperoksitin hidrojen peroksit ve oksijene dismutasyonunu katalizler (Raychaudhuri 2000; Molassiotis *et al.* 2006; Smirnov, 1993). Süperoksit dismutaz enzimi, O_2 'nin yok edilmesinde belirleyici bir enzimdir Dismutazlar çoğunlukla solunum sonucu H_2O_2 'yi su ve moleküler O_2 'e dönüştürür (Asada 1992; Willekens *et al.* 1997; Chang *et al.* 1984; Cakmak and Marschner 1992; Cakmak 1994). Üretilen H_2O_2 katalaz (CAT) ve Askorbat peroksidaz (APX) çeşitleriyle uzaklaştırılır. Ancak APX enzimi ise fenolik bileşikler ve antioksidantlar gibi ko-substratların oksidasyonu ile H_2O_2 'yi parçalar. Katalaz enzimi hücre içerisinde peroksizomlarda, glioksizomlarda ve mitokondrilerde mevcut olup kloroplastlarda bulunmamaktadır. Her ne kadar katalaz enzimi kloroplastlarda bulunmasa da, H_2O_2 kloroplastlarda yüksek seviyelerde bulunan

bir askorbat-peroksidaz tarafından katalize edilen bir reaksiyonla detoksifike edilebilir (Chen and Asada 1989). SOD aktivitesiyle açığa çıkan hidrojen peroksiti suya indirgeyen glutatyon peroksidaz ve katalaz ikinci savunmayı kurarlar. Bu nedenle SOD aktivitesindeki herhangi bir artış, ikinci kademe enzimlerinin aktivitesinde artış gerektirir. Yüksek süperoksit üretimine adaptasyon gösteren SOD artışı ile GSH-Px arasındaki dengesizlik, hücrelerdeki oksidatif strese işaret eder. Bir başka ifadeyle SOD/GSH-Px oranındaki yükselme oksidatif hasarı ve patolojik olayları başlatabilir (Gaeta *et al.* 2002). SOD enziminin fizyolojik önemi; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumak ve böylece lipid peroksidasyonunun başlamasını engellemektir (Çelik 2001).

Peroksidaz 37 kDa boyutunda olan peroksidaz enzimi diğer enzimlerin denatüre olabileceği pH ve sıcaklık koşullarında çalışabilmesi açısından büyük öneme sahip bir enzimdir. Peroksidaz enzimi H_2O_2 'i su ve oksijene dönüştürür.(Robinson ve ark,1987) POD reaksiyonu birbirini izleyen iki aşamadan oluşur. Her iki reaksiyonda bir H ve bir elektron içerir. Peroksidaz için genel bir reaksiyon şekli göstermek zordur. Çünkü, reaksiyonun yönü kullanılan substratın tipine bağlıdır. Genel olarak düşündüğümüzde aynı substrat molekülü her iki basamak içinde hidrojen vericisidir (Çınar 2005).



Reaksiyonda ara ürün olarak oluşan oksijen genellikle tespit edilebilir. Ayrıca peroksidazın bitki dokularında peroksit karşısında guaikol, pirogalol, klorogenik asit, katekin ve katekol gibi birçok fenolik bileşiği yükseltgeyebildiği saptanmıştır (Onsa *et al.* 2004). Peroksidaz çok çeşitli organik bileşiği oksitleme özelliğine sahip hem grubu içeren bir enzimdir. Hidrojen peroksiti indirgeme fonksiyonuna sahiptir. Bunların yanında lignifikasyonda, senesente, oksin katabolizmasında da rol almaktadır (Arora *et al.* 2002; Grene 2002; Parida and Das 2004; Smirnoff 2005; Parvaiz and Satyawati 2008).

Katalaz yaklaşık 248000 Dalton molekül ağırlığında non-kovalent bağlı hem grubu içeren bir hemoproteindir. Tetramer yapısındadır. Hücrede özellikle peroksizomlarda bulunur. H_2O_2 varlığında, aktif bölgesinde oksidasyon ve redüksiyona uğrayarak dismutasyon tepkimelerini katalizlemektedir (Uysal 1997; Yalçın 1998). Yapısında 4 adet hem grubu bulunan katalaz, hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalar (Cathcart 1985). Süperoksit radikalının dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan H_2O_2 , katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir. Asıl görevi hidrojen peroksiti; moleküler oksijen ve su molekülüne parçalamak olan katalaz, aynı zamanda alkoller ve fenol bileşiklerini hücreye zararsız hale getirir. Bununla birlikte NADPH enzimine bağlanarak bu enzimin inaktif hale geçmesini önler. (Arora *et al.*) CAT, konsantrasyonu değişmekle birlikte tüm hücre tiplerinde bulunan bir hem enzimdir.

Sitozolde ve daha çok peroksizomlarda lokalize olmuştur. Katalaz, hidrojen peroksiti, düşük hızlarda hidrojen peroksit oluşumu durumunda veya yüksek elektron verici konsantrasyonlarında peroksidatik reaksiyonla suya parçalarken, hidrojen peroksit oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda ise katalitik reaksiyonla suya dönüştürerek temizler (Muray *et al.* 1993). Peroksidaz aktivitesi gösteren katalaz enzimi büyük moleküllü lipid peroksitlerine etki etmez. Bu enzim bir molekül hidrojen peroksiti elektron verici substrat, diğerini de elektron alıcısı olarak kullanabilir. İnsan karaciğer ve böbreklerinde de yüksek konsantrasyonda katalaz mevcuttur. Katalaz enziminin yaşla birlikte aktivitesi azalmaktadır (Guemouri *et al.* 1991; Mates *et al.* 1999) Yüksek konsantrasyonlardaki H_2O_2 hücrelere zarar verir ve hücrelerde birikimi protein, lipid ve DNA gibi hücresel hedeflerin oksidasyonuna yol açar. Bu durum ise mutasyonların oluşmasına ve hücre ölümüne yol açar. Bu enzim bir sitokrom sistemine sahip bütün aerobik ökaryotlarda bulunur ve peroksizomlarda meydana getirilen H_2O_2 'in uzaklaştırılmasında görevli özel bir proteindir. Hidrojen peroksitin bu şekilde uzaklaştırılması sayesinde SOD tepkimelerinde oluşan hidrojen peroksit molekülünün çok zararlı olan hidroksil radikallerine dönüştürülmesi önlenmiş olur. Bu reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılması aerobik ortamda yaşamayı kolaylaştırır.

Antioksidanlar;

- 1.oksijeni uzaklaştırarak,
- 2.geçiş metal iyonlarını uzaklaştırarak,
- 3.reaktif oksijen türlerini baskılayarak veya temizleyerek,
- 4.başlamış olan zincir reaksiyonunu kırarak etkili olurlar.

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve çeşitli tipteki peroksidazlar (POD) gibi antioksidanlar H_2O_2 'in bozulmasını katalizler (Chang *et al.* 1984; Halliwell and Gutteridge 1989; Scandalios 1993; Çakmak 1994; Scandalios *et al.* 1994).

Sonuç olarak ;stres altında bulunmayan bitkilerde gerçekleşen metabolik süreçlerde oksijenin dört elektronu, mitokondride sitokrom oksidaz enzimi tarafından indirgenir ve ürün olarak su oluşur. Eğer oksijenin tek bir elektronu indirgenirse süperoksit radikali ($O_2\cdot$) açığa çıkar. Süperoksit radikali solunum zincirinde; NADH dehidrogenazın flavoprotein kısmında ve ubikinon – sitokrom aşamasında olmak üzere iki aşamada ortaya çıkar. Kararsız bir molekül olan süperoksit, tekrar moleküler oksijene veya süperoksit dismutaz enziminin aracılığı ile hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşebilir (Greene 2002; Smirnoff 2005; Lehnert 2007). Süperoksitin, lipid membranlardan geçebilme özelliği olmamasından dolayı etkisi üretildiği hücre bölümü ile sınırlıdır. Hidrojen peroksit (H_2O_2) ise yüksüz bir molekül olmasından dolayı hem su, hem de lipid moleküllerine difüze olabilir. Süperoksit göre daha uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir ve yüksüz olduğundan süperoksitin aksine membranlardan geçebilir, geçiş metalleri ile etkileşimi sonucu hidroksil radikali gibi diğer reaktif oksijen türevlerinin oluşmasında görev alabilir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

UV ışığı su işlemede, hava dezenfeksiyonunda ve yüzey dekontaminasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. UV ışık uygulamasındaki bilimsel son gelişmeler bu yöntemin taze meyve suyu, gazoz ve içeceklerdeki geleneksel ısıtma işlem uygulamalarına karşı alternatif olarak, ayrıca yenmeye hazır et ürünlerinin kesim sonrası işlemlerinde ve taze meyve, sebzelerin raf ömrünün uzatılmasında umut veren bir yöntem olarak ortaya çıkacağını göstermektedir. UV ışınları, ışın yelpazesinde, X ışınları ve görünür ışık arasındadır. UV-A hücreler tarafından UV-C'ye göre daha az absorblandığı için gıda uygulamalarında çok fazla önem verilmemiştir. Gıda sanayinde uygulamaları genellikle kalite kontrolde, özellikle depolama sırasında hububat ve kabuklu yemişlerde *Aspergillus flavus* veya *Aspergillus parasiticus* tarafından oluşturulan aflatoksinleri belirlemede kullanılmaktadır. Ayrıca yumurta, et ve balıklarda bozulmaya neden olan *Pseudomonas aeruginosa* ve sularda koliform bakterilerin belirlenmesi analizlerinde UV-A uygulamalarından yararlanılmaktadır (Bintsis *et al.* 2000). UV-A domateslerde depolama sırasında uygulanmış; domatesler normal renk gelişimini göstermiş ve herhangi bir fizyolojik bozulma görülmemiştir (Maneerat *et al.* 2003). UV-B uygulamaları ise daha meyve ve sebze hasat edilmeden tarla ve bahçede daha çok incelendiği görülmüştür. Domateslerde UV-B uygulamasının erken olgunlaşma ve daha küçük ürün eldesine yol açtığı belirtilmiştir (Bacci *et al.* 1999).

Perez *et al.* (2009) yaptıkları çalışmada ise domatestede hasat öncesi uygulamaların (22 saat, 0,075 Wh/m²) karotenoid sentezini arttırdığı gözlenmiştir. Elmalarda ise bahçede yapılan uygulamalar kabuk rengi oluşumunu olumlu yönde etkilemiştir (Keiichi *et al.* 1999).

UV ışınlanması aktive edilmiş oksijen üretimiyle fotooksidasyon reaksiyonlarını artırmaktadır. Oluşan serbest radikaller hücre membranları, nükleik asit, hücre duvarı ve enzimlerini hedef alarak, yaşlanmanın hızlanmasına yol açarlar. Bununla birlikte etkin dozda kullanıldığında UV-C fitoaleksinin birikimini teşvik eder, patojenle bağlantılı proteinlerin şifrelenmesini sağlayan genleri aktive ederler (Green and Fluhr 1995). Bu

olay zararlı olabilecek stres faktörlerinin düşük seviyelerde kullanılarak faydalı etkilerinin uyarılması olarak tanımlanmaktadır.

Buna benzer şekilde UV-C uygulaması ile modifiye atmosfer paketlenme uygulamalarının kombinasyonu, minimum işlenmiş marullarda kaliteyi bozmadan mikroorganizma gelişimini önlemiştir (Allende and Artés 2003; Allende *et al.* 2006). UV-C uygulamasının domateslerde yaşlanmayı geciktirdiği, daha sert ve daha az kırmızı domatesler elde edildiği, UV-C uygulanan domateslerin yüksek seviyede pütresin ve spermin içerdiği belirlenmiştir (Liu *et al.* 1993; Stevens *et al.* 1998). UV uygulamasının diğer bir avantajı çilek ve kırmızı elmalarda antosiyanin değerlerini yükseltmesidir (Dong 1995; Baka *et al.* 1999). Elmanın kabuğunda antosiyanin birikimi UV-B uygulaması sonucu fenilalenin amonyum liyaz(PAL) ve çalkonun yeniden sentezlenmesinden kaynaklanmaktadır. Aynı değişimin kısa süreli UV-C uygulamasında da görülebileceği ifade edilmektedir. UV uygulamasının yeni hasat edilen elmalarda kontrollü atmosferde 3 ay depolanan elmalardan daha iyi sonuç verdiği de Capdeville ve arkadaşlarının (2002) çalışmalarında belirlenmiştir. Ancak farklı hasat olgunluğundaki meyvelerin UV uygulamasına nasıl cevap vereceği konusunda çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Hasat sonrası bozulma ve çürümeleri azaltmak için patlıcanlarda UV-C (3,6 kJ/m²) sıcak su ile birlikte ve ayrı ayrı uygulanmış ve iki uygulamanın kombinasyonunun bozulmaları geciktirmede daha etkili olduğu gözlenmiştir (Karasahin vd 2005).

Kısa dalga ultraviyole (UV-C) ışın uygulamaları; gıdaların yüzey mikrobiyal yüklerinin düşürülmesinde kullanılan bir soğuk pastörizasyon işlemidir. Gıda ürünlerinde yüzey mikrobiyal yoğunluğun düşürülmesine yönelik kullanılan UV-C ışın uygulamalarının, güvenli ve yasal olması, üründe işlem sonrasında herhangi bir kalıntı bırakmıyor olması, düşük ekipman ve uygulama maliyeti ile kullanım kolaylığına sahip olması gibi bir takım avantajları bulunmaktadır.

Smith *et al.* (2000) fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ile yaptıkları çalışmada bitki büyüme regülatörü olan poliaminlerin UV-B stresi boyunca arttığı ve ayrıca UV-B

cevabını da kapsadığını göstermiştir. Bu çalışmada 2 haftalık peryotta *Phaseolus vulgaris* L.'nin UV-B'ye duyarlı legümenleri üzerinde UV-B'nin etkileri araştırılmıştır. Primer olarak putrescine'deki düşüşten dolayı UV-B radyasyonuna cevap olarak total serbest poliaminler fark edilir bir düşüş göstermiştir.

Serbest poliaminlerin redüksiyonu UV-B ile indüklenen klorofil kaybıyla ilgilidir. Demorrow and Henry (1977) cüce bezelye (*Pisum sativum*) fidelerini karanlık ve görünür ışıktaki, yalnız veya kombine olarak Ethrel ve UV ışımasına maruz bırakmışlardır. PPO aktivitesini dört farklı substratla denemişler, UV ve Ethrel 14 maruziyetinin, polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi üzerinde aktivite artırıcı yada aktivite azaltıcı bir etki yapmadığını bulmuşlardır. Yakın bir zamanda bitki tepkilerini uyaran susuzluk ve UV-B arasında bir ilişki olduğu bulunmuştur. Bu stres durumları oksidatif patlamayı tetikler. Alexieva *et al.* (2001) buğday ve bezelye üzerinde susuzluk ve UV-B'nin etki ve ilişkisini araştırmışlardır. UV-B uygulandıktan sonra yapraktaki su miktarında herhangi bir değişikliğin olmaması bu durum dışındaki başka değişimlerin oluşumunu inhibe ettiğini, antosiyanin ve fenollerde görülen artışların UV-B ışınlarına maruziyetten sonra ortaya çıktığını görmüşlerdir.

Morötesi ışıkların (kısa dalgalı ışıklar) büyük kısmı atmosferdeki ozon tabakası tarafından tutulur. Bu ışıklar bitkilerde renk oluşumunu ve büyümeyi engeller, cüceliğe neden olur. Bitkilerde normal büyüme ve gelişme hormonları arasındaki dinamik dengeye bağlıdır. Bitkiler, büyüdükleri ortamdaki ışık koşullarındaki değişimleri algılama yeteneğine sahiptirler. Işık koşulları ile bitki hormonları karşılıklı etkileşim içindedirler. Özellikle oksin, etilen ve gibberellin bitki büyüme ve gelişmesinde ışık koşullarından etkilenmektedirler. Değişik kaynaklardan yapılan literatür taramalarında; UV-C ışın stresinin bitkiler üzerindeki etkisiyle ilgili önceden yapılmış çalışmalara çok fazla rastlanılmamıştır. Kısa dalga boylu UV (UV-C<280nm) nükleik asitler, proteinler ve diğer moleküllerin çoğu ile etkileşime girer. Bu çeşit radyasyon, ısıpanakta fotosistem II'nin bozulması gibi fotosentetik mekanizmaların hasar görmesine ve inhibisyonuna sebep olur (Salter *et al.* 1997). Ultraviyole ışınlar, bitki büyümesini düzenleyen hormonlara etki ederek bitkilerin bodur kalmasına neden olurlar.

Casati and Andreo (2000) fasulyenin üç farklı kültürü ile yaptıkları çalışmada bitkilerin gövde ve köklerdeki NADP-ME'de 8 saatlik UV-B radyasyonu maruziyeti sonucunda fark edilir bir artış meydana geldiğini görmüşlerdir. Benzer bir indüklemeye 8 saatlik UV-C maruziyeti sonucunda yaprak ve gövdelerde de görülmüş, ancak köklerde böyle bir durum ortaya çıkmamıştır. Sonuçta UV-B ve UV-C maruziyetinden sonra farklı sinyaller NADP-ME indüklenmesinde rol aldığı sonucuna varılmıştır.

Gregianini *et al.* (2003) *Psychotria brachyceras* (Rubiaceae)'nin uç çeliklerine günde 4 veya 16 saat UV uygulayarak besi ortamında inkübe etmişlerdir. Metanolik ekstratların yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) analizlerinde; kontrol grubu çeliklerde günlük 16 saatlik UV-C uygulamasından sonra brakiserin içeriğinin 10 kat arttığını, günlük 4 saatlik uygulamada yapraklardaki alkaloidlerin miktarının 2 katına çıktığını görmüşlerdir. Ayrıca UV-B maruziyeti alkaloid miktarını da 2 katına çıkarmıştır. İn vitro brakiserin tekli oksijeni giderebilmektedir. *Brakiserin* UV radyasyonuna karşı potansiyel bir koruyucu rol oynamaktadır. Bunu da UV'yi filtre ederek yapar ve reaktif oksijen süpürücüdür. Bu nedenle UV radyasyonu farmasötik çalışmalar için bu bileşenlerin veriminin artırılmasında kullanılabileceği bildirilmiştir.

Ultraviyole ışınlaması, mikroorganizmalar üzerinde en fazla öldürücü etki gösteren ve dalga boyu 254 nm olan UV-C lambaları kullanılarak yapılmaktadır. UV-C ışınlarının meyve ve sebzelerin depo çürüklüklerinin kontrolü üzerine iki olumlu etkisinin olduğunu belirtilmektedir. Bunlar;

1. Patojenlerin DNA yapısına verdiği zarardan dolayı öldürücü etkisi,
2. Patojenlere karşı meyve kabuğunda direnç sağlayacak antimikrobiyal bileşiklerin birikimini teşvik etmesidir (Stevens *et al.* 1998; Marquenie *et al.* 2002).

UV-C uygulamaları mikroorganizmaları etkisizleştirirken aynı zamanda hafif stres tepkisi oluşturarak ürünün hasat sonrası dayanımını da artırmaktadır (Kasım ve Kasım 2007).

Bu uygulamalar ürünün çeşidine, olgunluk düzeyine, uygulama dozuna ve süresine bağlı olarak değişmekle birlikte meyvelerde içsel etilen sentezini baskı altına alarak olgunlaşmayı yavaşlatmakta (Charles *et al.* 2005) ve patojenlere karşı direnç sağlamaktadır (Cantos *et al.* 2001). Yapılan araştırmalar sonucunda UV-C ışınlarının elmalarda (Lu *et al.* 1991), şeftalilerde (Coutinho *et al.* 2003), domateslerde (Barka *et al.* 2000), mangolarda (Gonzalez *et al.* 2001) olgunlaşmayı geciktirdiği belirlenmiştir. Başka bir çalışmada Atlanta tipi fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Atlanta) endüstriyel bitkisi, serada yetiştirilmiş ve oluşturulan UV-C stresinin bitki üzerinde meydana getirdiği morfolojik ve fizyolojik etkiler araştırılmıştır.

Veriler değerlendirildiğinde; UV-C ışınının morfolojik olarak kök uzunluğunu artırdığı, fide yüksekliğini azalttığı, gövdeyi kalınlaştırdığı, yaprakları sarartarak yaprak ayası alanını küçülttüğü gözlenmiştir. UV-C ışınının fide yüksekliğine tohumların ekiminden sonraki 8. günde önemli etkisi olduğu görülmüştür. UV-C etkisinin, yapraklardaki element miktarını da değiştirdiği, yapraklarda epidermal tüy sayısının artmasına ve tüylerin yapısının bozulmasına neden olduğu bulunmuştur. Fizyolojik olarak ise yapraklardaki klorofil a, b ve toplam klorofil miktarını azaltıcı bir etki yaptığı belirlenmişti. Bu azaltıcı etkinin özellikle klorofil b miktarı üzerinde daha çok olduğu bulunmuştur (Çil 2006).

Bitkilerdeki UV-B stresine dayanıklılık veya duyarlılık, bitki türleri arasında farklılık göstermektedir. Sarıçam (*Pinus sylvestris* L.) orman oluşturan önemli çam türlerinden biridir. Dağılım gösterdiği alanlardaki çevresel koşullara uyum sağlayarak genetik modifikasyonlar meydana geldiği için UV-B stresine karşı cevaplarının da araştırılması önem oluşturmaktadır. 10 farklı bölgeden sağlanan sarıçam soylarına iki gün boyunca sekizer saat UV-B uygulanmıştır. Uygulamadan birgün sonra, bazı fizyolojik parametreler (membran hasarı, antosiyanin, flavonoid, hidrojen peroksit (H_2O_2), fotosentetik pigment miktarları ve pklorofil a fluoresansı parametreleri) ölçülüp analiz yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda; İspanya dışındaki sarıçam soylarında, membranlarında belirgin bir hasar saptanmamıştır. UV-B uygulaması ile antosiyanin miktarı Romanya, Vezirköprü ve Sarıkamış soylarında flavonoid miktarını İngiltere,

Almanya ve Vezirköprü soylarında belirgin şekilde artırırken, antosiyanin miktarı diğer soylarda değişmemiş, flavonoid miktarı Çatacık ve Kayseri soylarında azalmıştır. UV-B uygulaması sonucunda sarıçam soylarında en belirgin değişim hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarlarında saptanmıştır. Almanya soyu dışındaki diğer tüm sarıçam soylarında hidrojen peroksit miktarı azalmıştır. UV-B uygulamasının tüm sarıçam soylarının klorofil pigment (klorofil a, b ve toplam klorofil) miktarlarını önemli derecede değiştirmedeği belirlenirken, karotenoid miktarını İngiltere’de önemli derecede arttırdığı, Vezirköprü de ise azalttığı saptanmıştır. İngiltere ve Vezirköprü soylarındaki toplam klorofil/karotenoid oranındaki değişimin önemli olduğu belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen tüm sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, farklı yayılış alanlarından temin edilen sarıçam soylarının bazı fizyolojik süreçleri üzerine UV-B stresinin uygulanan süre ve seviye bakımından, şiddetli bir olumsuz etkiye neden olmadığı söylenebilir. Ancak, bir sınıflandırma yapılırsa Romanya ve Ilgaz soyları en iyi performansa sahipken, Fransa soyu en zayıf performansı sergilemiştir (Alaçık and Özge 2014).

Gamay (*Vitis vinifera* L.) üzüm çeşitlerinde, UV-C uygulamasının sekonder metabolit birikimi üzerine olan etkileri incelenmiştir. Yaprak sapı eksplantlarından 0.5mg/L BAP (benzil amino pürin), 0.5 mg/L (IAA) indol asetik asit, %3 sakkaroz ve %0.8 agaragardan oluşan besin ortamında elde edilmiş olan 12 günlük kalluslara 10 ve 15 cm uzaklıktan 10,15 ve 20 dakika süre ile 254 nm dalga boyuna sahip UV-C radyasyonu uygulaması yapılmıştır. Uygulamanın ardından kalluslar 25°C’de ve karanlık koşullarda 0, 24 ve 48 saat süre ile inkübe edilmişlerdir. Süre sonunda alınan örneklerde toplam fenolik madde, toplam flavanol, toplam, antosiyanin ve karotenoid miktarları spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. UV-C radyasyonunun uygulama mesafesi, uygulama süresi ile örnek alım zamanlarından oluşan kombinasyonlara göre önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir. UV-C uygulamasının Gamay üzüm çeşidine ait kalluslarda fenolik bileşikler ve karotenoid birikimi üzerine dikkate değer ölçüde teşvik edici bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Çetin vd 2011).

Yine benzer bir çalışmada UV-C radyasyonu uygulamalarının, Gamay üzüm çeşidine ait kallus kültürlerinde, bazı fenolik bileşikler (trans-resveratrol, üretimi üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırma sonucunda kalluslarda fenolik bileşikler ile a-tokoferol birikiminin UV-C uygulamalarına bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Sonuç olarak UV-C uygulamalarının Gamay üzüm çeşidine ait kallus kültürlerinde sekonder metabolit üretimini artırmak amacıyla başarıyla kullanılabilecek bir yöntem olduğu tespit edilmiştir (Çetin 2012).

Wang (2006), UV-B radyasyonuna maruz kalmış mısır yapraklarında savunma yanıtlarının verilmesinde NO ve H₂O₂'nin, etilen biyosentezinde sinerjistik etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Aynı araştırmacı NO biyosentezinin NR aktivitesi ile değil, NOS aktivitesi ile arttığını ve ROT artışının da NADPH oksidazdan kaynaklanmadığını ifade etmektedir. Tossi *et al.* (2009), UV-B ile ABA uyarımlı NO sentez yolu arasında bir ilişki bulunduğunu belirlemiştir. Bu çalışmaların sonuçları, UV-B ışınlarının ABA konsantrasyonunu artırdığını, bunun da NADPH oksidaz'ı aktive ederek, H₂O₂ nin oluştuğunu göstermiştir. Aynı zamanda NOS-benzeri bağımlı mekanizmanın da NO yapımını artırarak hücre homeostazisini koruduğunu, böylece UVB'nin oksidatif etkisinden kaynaklanan hücre hasarının azaltıldığını göstermiştir.

Shi *et al.* (2005) tarafından NO'nun dıştan uygulandığı bezelye yapraklarında UV-B ile uyarılan H₂O₂ üretiminin NO tarafından baskılandığı gösterilmiş ve tilakoid zarlarında UVB'nin yol açtığı oksidatif zarara karşı NO'nun koruyucu rolü ortaya konmuştur (Özdamar ve Furtana 2016).

Choi *et al.* (2009) Arabidopsis thaliana fidelerinde yaptıkları çalışmada antosiyanin gibi UV absorbe eden pigmentlerin flavanoidlerin seviyelerini artırarak resesif Ela-1 mutantında UV Toleransı geliştirmeyi amaçlamışlardır ve bu konuda başarılı olmuşlardır.

Czégény *et al.* (2016) yılında transplastomic tobacco bitkisinde yaptıkları çalışmada UV-B ışınının düşük dozda uygulamasının bitkilerde peroksidaz savunmasında aklimasyon için önemli rol oynadığını ortaya koymuşlardır.

Bu araştırmadaki amacımız, üşüme sıcaklığı stresine karşı bitkilerin aklimasyon sağlamasında etkili olduğu bilinen ‘‘Soğuk Aklimasyonu’’nun yerine, bitkilere hafif ön stres olarak kısa süreli UV uygulamak suretiyle, söz konusu UV uygulamasının bitkilerde üşüme hasarlarını azaltmada, soğuk aklimasyonunun yerini alıp alamayacağını belirlemektir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Yararlanılan Cihazlar

İklim dolabı: Sanyo, Japonya ve Jeno Tech, Kore

Masa santrifüjü : Hettich EBA 21

Soğutmalı santrifüjü : Hettich Micro 22 R

Spektrofotometre : Shimadzu UVmini-1240

pH metre : WTW unilab

Hassas terazi : Shimadzu AY220

Buzdolabı : Arçelik Derin dondurucu (-30°C) Derin dondurucu (-80°C) Harris, İngiltere

Karıştırıcı : Fisons Whirlmixer

Otomatik pipetler : Nichipet EX

Manyetik karıştırıcı : Chiltern HS31 UV kabini

3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları

Çalışma boyunca kullanılan çözeltiler ve hazırlanış şekilleri aşağıda belirtilmiştir. Araştırmada kullanılan kimyasallar Sigma, Fluka, Merck ve Fischer firmalarından alınmıştır.

1-0,1M KH_2PO_4 (antioksidan enzimlerin homojenizasyon tamponu) 1.361g KH_2PO_4 80ml saf suda çözülüş, 1 N NaOH ile pH 6.75 e ayarlandıktan sonra hacim saf su ile 100 ml ye tamamlanmış ve 0,3 g PVP ve 0,029 g EDTA ilave edilmiştir.

2-0,1 M Na_2PO_4 , (POD aktivitesinin ölçümünde kullanılan tampon çözeltisi):1,42g Na_2PO_4 alınarak 80ml saf suda çözülüş ve pH: 5,5 e ayarlandıktan sonra son hacim 100 ml ye tamamlanmıştır.

3-POD aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi: 54 μ l quairol ve 15 μ l H_2O_2 (d: 1.13g/mol) 5mM 100ml 0,1M fosfat tamponu içinde çözülerek hazırlanmıştır.

4-103,5 mM KH_2PO_4 (Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon): 1,4 g KH_2PO_4 , 80 ml saf suda çözülmüş, 1N NaOH ile pH: 7.5 e kadar titre edilir ve son hacim saf su ile 100 ml ye tamamlanmıştır.

5-Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi: 170 μ l H_2O_2 katalaz tamponuna katılarak hazırlanmıştır.

6-50 mM KH_2PO_4 (Süperoksit dismutaz aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon): 1,7g KH_2PO_4 200 ml saf suda çözülmüş pH: 7,8 e ayarlanır sonra hacim saf su ile 250 ml ye tamamlanmıştır.

7-Metionin çözeltisi: 0,586g metionin 250 ml, 50 mM KH_2PO_4 tamponu (pH:7,8) içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

8-Nitroblue Tetrazolium Klorür: 0,0128g NBT alınarak, 250 ml, 50 mM KH_2PO_4 tamponu (pH:7,8) içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

9-0,1mM EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetik Asit): 0,075g EDTA, 250ml, 50mM KH_2PO_4 tamponu (pH:7,8) içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

10-Riboflavin çözeltisi: 0,019g riboflavin (B_2) 500ml saf suda çözünerek hazırlanmıştır.

11-%5 lik trikloroasetik asit (TCA) (Lipid peroksidasyon aktivitesi homojenat çözeltisi): 100ml saf su içerisine 5g TCA konularak karışım hazırlanmıştır.

12-%0,5 lik TBA (tiobarbutirik asit) (Lipid peroksidasyon aktivitesi reaksiyon çözültisi):100ml saf su içerisinde 20 g TCA çözülmüştür ve %0,5g TBA ilave edilerek karışım hazırlanmıştır.

13-Coomassie reaktifi(protein):10mg coomassie blue G-250 5 ml etanolde çözülmüştür ve üzerine 10ml %85 lik fosforik asit ilave edilmiştir ve son olarak hacim saf su ile 100 ml ye tamamlanmıştır.

3.3. Yöntemler

3.3.1. Bitkilerin büyütülmesi

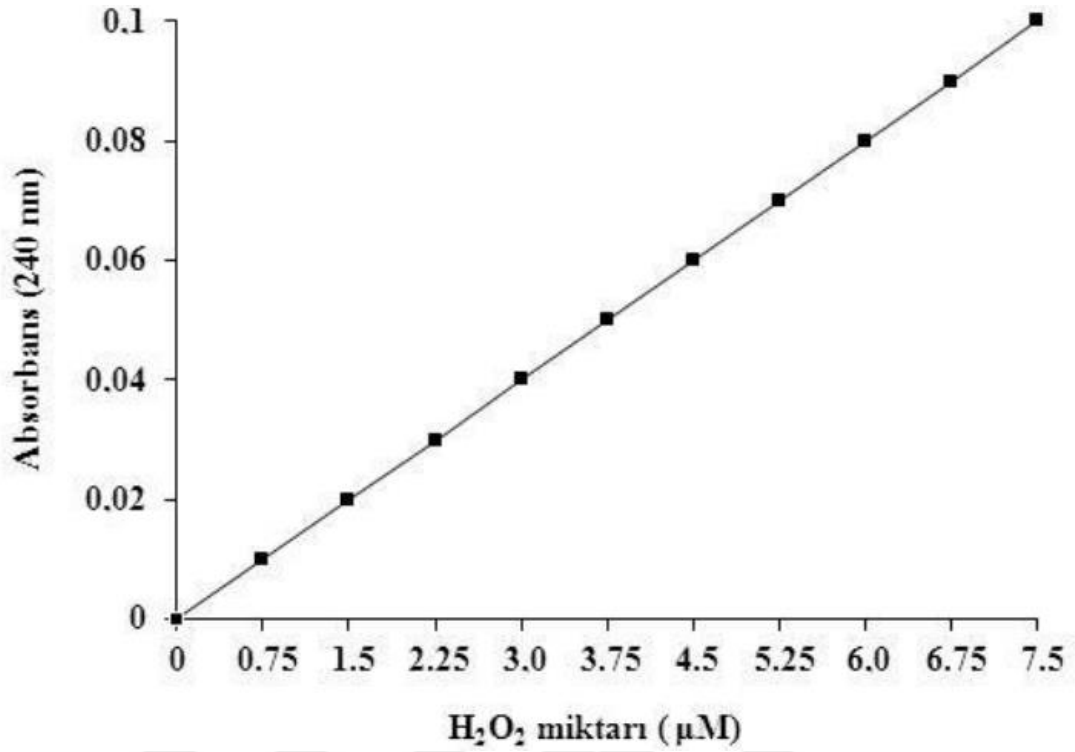
Araştırmada fasulye (*Phaseolus vulgaris*), nohut (*Cicer arietinum*), buğday (*Triticum aestivum*) ve mercimek (*Lens culunaris*) bitkileri kullanılmıştır. İlk önce tohumlar %96'lık alkolle yıkanmış ve %5lik sodyum hipoklorit içerisinde yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Sonra saf su ile bolca yıkanarak 350-400 tohum 5-6 saat şişmeye bırakılmıştır. Şişmiş tohumlar bir kapta kurutma kağıdında çimlendirilmiştir. Çimlenmenin 3-4.gününde fideler toprağa aktarılmıştır (Çok büyük ve çok küçük fideler ayıklanmış ve yaklaşık eşit büyüklükte olanlar ekilmiştir). Bitkiler kontrol şartlarında iklim dolabında (20/25°C sıcaklıkta, 16/8 saat ışık –karanlık periyodunda) 10 gün süreyle yetiştirilmiştir ve birer gün ara ile eşit şekilde sulanarak büyütülmüşlerdir. Her bir grupta 3 tekrar olmak üzere 6 gruba (genel kontrol, soğuk kontrol, 5snUV, 10snUV, 15snUV, 20sn UV) ayrılarak uygulamalar yapılmıştır. UV uygulamaları yapıldıktan sonra bitkiler 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir ve aynı işlem 5 kez daha tekrarlandıktan sonra genel kontrol (20/25°C sıcaklıkta, 16/8 saat ışık –karanlık) haricindeki tüm uygulama grupları üşüme sıcaklıklarına (10/4°C sıcaklık ve 14/10 saat ışık –karanlık periyodunda 3 gün) aktarılmıştır.

3.3.2. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Fasulye, nohut, buğday ve mercimek bitkilerinin yaprak dokularından 0.5'er gram alınarak 5 ml 0.1 M fosfat tamponunda homojenize edilerek 15000 rpm'de 20 dk santrifüj yapıldı. Üst kısmı alınarak enzim kaynağı olarak kullanıldı.

3.3.2.a. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi

Katalazın (CAT) aktivite tayini için Gong *et al.* (2001) uyguladığı metot kullanılır. Bu metot, katalazın ortamdaki H_2O_2 'nin oksijen ve suya dönüşümünü sağlarken meydana gelen absorbans değişiminin 240 nm'de izlenmesi esasına dayanır. Önce reaksiyonda azalan H_2O_2 miktarını belirlemek için standart grafik hazırlanır. Standart grafik hazırlamak için, 5 mM H_2O_2 çözeltisinden 3 mL'lik spektrofotometre tüplerine sırasıyla; 0.15, 0.3, 0.45, 0.6, 0.75, 0.9, 1.05, 1.2, 1.35 ve 1.5 mL konulmuş, tüplerin hacimleri saf su ile 1.5 mL'ye tamamlanmış ve her tüpe 1.47 mL 103.5 mM KH_2PO_4 , pH:7.5'e kadar titre edilmiş ve 30 μ L su ilave edilmiştir. Çözeltiler folyo ile sarılmış ve soğutulmuştur. Spektrofotometrede 240 nm'de absorbans köre karşı okunmuş ve absorbans değerlerine karşılık gelen μ M H_2O_2 değerleri kullanarak standart grafik elde edilmiştir. Aktivite ölçümü için Quartz küvete tampondan 3 ml konulur, üzerine 25 μ L enzim ekstraktı ilave edilir. Spektrofotometrede 240 nm de 3 dk boyunca köre karşı okunur. Bu ortalama absorbans değerleri, standart grafik yardımıyla μ mol cinsinden H_2O_2 miktarına dönüştürülmüştür. 25°C'de, 1 dakika içinde, absorbansı 1 μ mol azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiş ve sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU/g yaprak) olarak sunulmuştur (Gong *et al.* 2001; Mutlu 2005; Genişel 2011).



Şekil 3.1. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik

3.3.2.b. Peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz (POX) aktivite tayini, guaikol ve H₂O₂'nin substrat olduğu reaksiyonun ürünü olan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbans artışının 470 nm'de ölçülmesi temeline dayanmaktadır (Angelini *et al.* 1989).

Aktive ölçümü için; 1,42 gr Na₂HPO₄ alınır 80 ml saf suda çözülür ve pH: 5,5 ayarlanır son hacmi 100 ml ye tamamlanır.

54 μL guaikol ve 15 μL H₂O₂, Na₂HPO₄ tamponuna katılır ve karıştırılır.

Çözeltiler folyo ile sarılır ve soğutulur.

Plastik küvete 3 ml tampon konulur üzerine 25 µL enzim ekstraktı konulur 470 nm de 5 dk boyunca absorbans artışı kaydedilir. 25°C’de 1 dakikada, absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiş ve sonuçlar g doku başına düşen enzim ünitesi (EU/g doku) olarak sunulmuştur (Yee *et al.* 2002).

3.3.2.c. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, nitro blue tetrazoliumun (NBT) süperoksit radikalleri ile fotokimyasal indirgenmesi reaksiyonunun SOD enzimi tarafından engellenmesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesi temeline dayanır (Agarwal and Pandey 2004; Yordanova *et al.* 2004)

1.Çözelti;

1.7 g KH_2PO_4 200 mL saf suda çözülmüş, pH: 7.8’e ayarlandıktan sonra ve hacim saf su ile 250 mL’ye tamamlanmıştır 0.586 g metionin alınır, 250 mL 50mM tamponu KH_2PO_4 içerisine ilave edilerek çözülür.0.0128 g NBT alınır, 250 mL 50mM KH_2PO_4 tamponu içerisine ilave edilerek çözülür.0.073 g EDTA alınır,250mL 50mM KH_2PO_4 tamponu içerisine ilave edilerek çözülür.

2. Çözelti

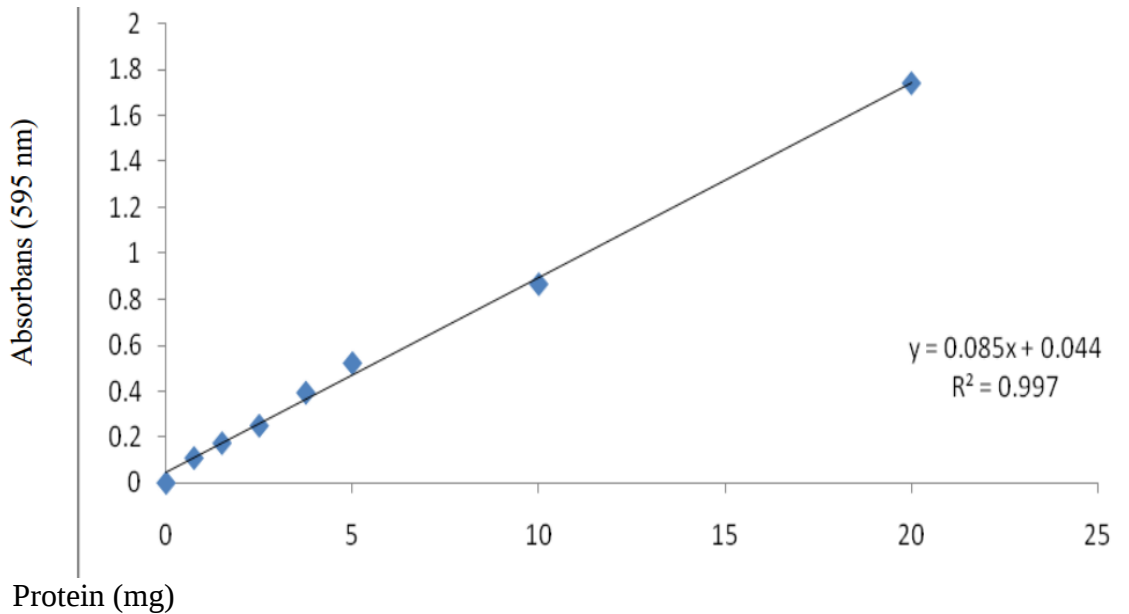
0.019 g riboflavin(vitamin b2), 500 mL saf suda çözülür. Çözeltiler folyo ile sarılır ve soğutulur.

Plastik küvete 2,58 ml 1.çözeltiden konulur üzerine 390 µL 2.çözeltiden konulur ve son olarakta 30 µL enzim ekstraktı konulur. Beyaz ışık kaynağında 15 dk tutulur NBT’nin renk açılma yoğunluğu 560 nm de köre karşı okunur. Kör, Aynı işlemin enzimsiz örneğinden oluşmaktadır. SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm’de gözlenen NBT

indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiş ve değerler EU/g doku olarak sunulmuştur.

3.3.2.d. Çözünebilir protein miktarının tayini

Üşüme sıcaklıklarına maruz bırakılmış olan bitki dokularından 0,5 glık örnekler alınarak Bradford(1976) metoduna göre protein tayini yapılmıştır. Her bir bitkilerin yaprak dokularından 0,5g alınarak 10 misli hacimdeki 0,05M fosfat tamponunda (pH:6.5) havanda ezilerek homojenizasyon yapılmıştır.Homojenat santrifüj tüplerine alınıp 15000 rpm de 20 dk.santrifüj yapılmıştır.Protein tayini için tüplerin üst kısmı(süpernatant)kullanılmıştır.Spektro küvetlerine 3ml coomassie reaktifi alınıp üzerlerine 100 µl süpernatant ilave edilmiştir.Yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda,595 nm deki absorbansları ölçülerek,standart grafikten yararlanılıp protein miktarları belirlenmiştir.Daha sonra hesaplamalar yapılarak protein miktarları mg protein /g doku tayin edilmiştir.



Şekil 3.2. Protein tayini için hazırlanmış olan standart grafik

3.3.2.e. Lipid peroksidasyon aktivitesinin belirlenmesi

Lipid peroksidasyonu için 0.5 g yaprak alınarak 5 mL %5'lik TCA içinde homojenize edildikten sonra elde edilen homojenat 10.000 x g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpün süpernatant kısmından 4 mL alınarak üzerine 1 mL %0.5'lik TBA çözeltisi konulmuştur. Reaksiyon karışımı kaynar suda 30 dakika inkübe edilmiş ve reaksiyon tüplerin buz banyosuna alınmasıyla durdurulmuştur. Örnekler tekrar 10000 xg,,de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı alınarak absorbansı 532 nm de okunmuş ve daha sonra 600 nm deki non-spesifik absorpsiyon için absorbans değeri belirlenmiştir.

Lipid peroksidasyonunun hesaplanması: 1 mL çözeltideki MDA (nmol/ ml):[(A532-A600)/155000]X106 formülüyle hesaplanır. Sonuçlar MDA (nmol/ gram doku) şeklinde verilmiştir.

3.4. İstatistiksel analiz

Tez içerisinde sunulan sonuçlar, her bir uygulamadan 3 tekrar yapıldıktan sonra elde edilen 9 değerin ortalamasıdır. Sonuçların karşılaştırılması, SPSS 15.0 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmış P<0.05 önem seviyesinde Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu araştırmada üşüme sıcaklıklarında hasarın oluştuğu bilinen bitki türleri fasulye, mercimek, nohut özellikle seçilmiş, bu türlere ilaveten bir de soğuğa dayanıklı olduğu bilinen bir tür olan buğday üzerinde çalışmalar yürütülmüştür.

Bu bitkilere soğuk stresine maruz kalmadan önce dört farklı sürede UV-B uygulaması (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) yapılmıştır. Bu uygulamalardan elde edilen bitkiler deney materyali olarak kullanılmıştır. Herbir veri genel kontrolü ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

4.1. Antioksidan Enzim Aktivitesi Sonuçları

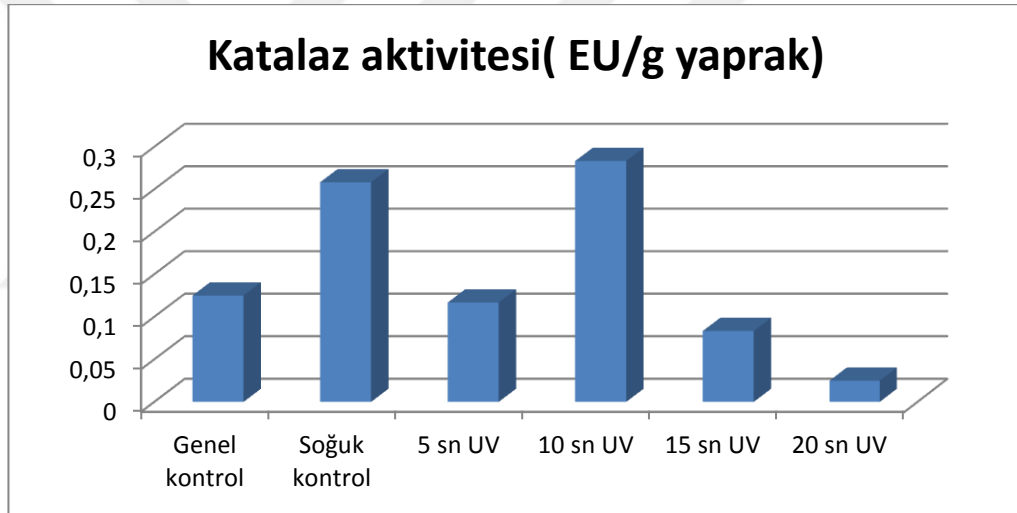
4.1.1. Katalaz aktivitesine ait sonuçlar

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasını müteakiben soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak CAT aktivitelere bakıldığında önemli değişikliklerin oluştuğu belirlendi. (Çizelge 4.1., Şekil 4.1). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki CAT aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %106.4 lük bir artış olduğu, bu artışın 10 sn UV grubunda ise %126 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük katalaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.1. Dört farklı zamanda UV (5sn, 10sn, 15sn, 20sn) uygulanan fasulye (*Phaseolusvulgaris*) bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	0,125 b	0,000
Soğuk kontrol	0,258 a	0,014
5 sn UV	0,116 b	0,014
10 sn UV	0,283 a	0,062
15 sn UV	0,083 b	0,014
20 sn UV	0,025 c	0,000

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$).

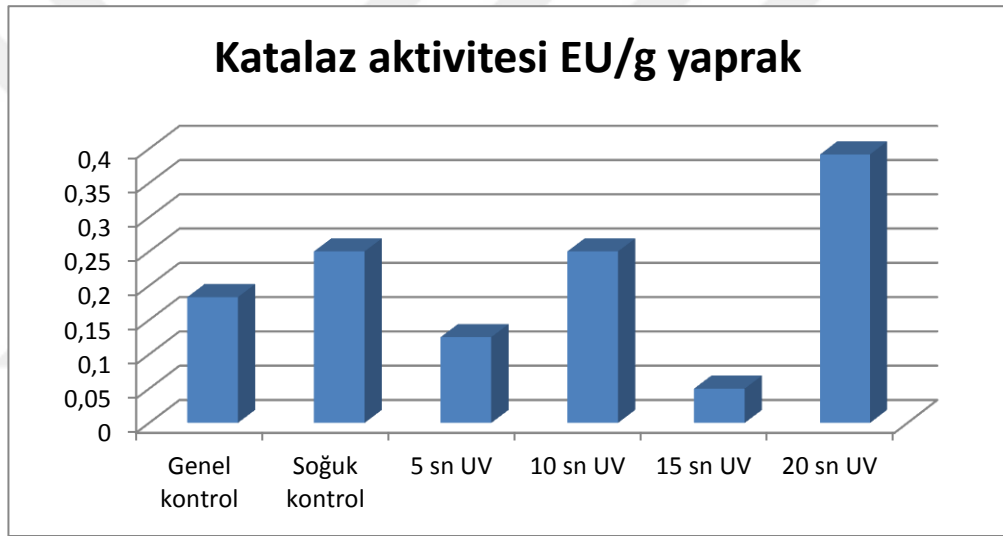


Şekil 4.1. Dört farklı sürelerde (5 sn, 10 sn,15 sn,20 sn) UV uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Nohut bitkisinde UV ışını uygulamalarından (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) sonra üşüme stresine maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak CAT aktivitesi belirlendiğinde istatistiki olarak önemli değişimlerin olduğu tesbit edildi. (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki CAT aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %28 lik artış olduğu tesbit edildi ($P<0.05$)5 sn lik UV uygulamasında genel kontrole kıyasla %30'luk bir azalma, 10 sn lik UV uygulamasında %28 oranında artış,15 sn lik UV uygulamasında %72 lik azalma, 20 sn lik uygulamasında ise %122 lik bir artış olduğu belirlendi.

Çizelge 4.2. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standartsapma
Genel kontrol	0,183 c	0,005
Soğuk kontrol	0,250 b	0,000
5 sn UV	0,125 d	0,000
10 sn UV	0,250 b	0,000
15 sn UV	0,050 e	0,014
20 sn UV	0,391 a	0,111



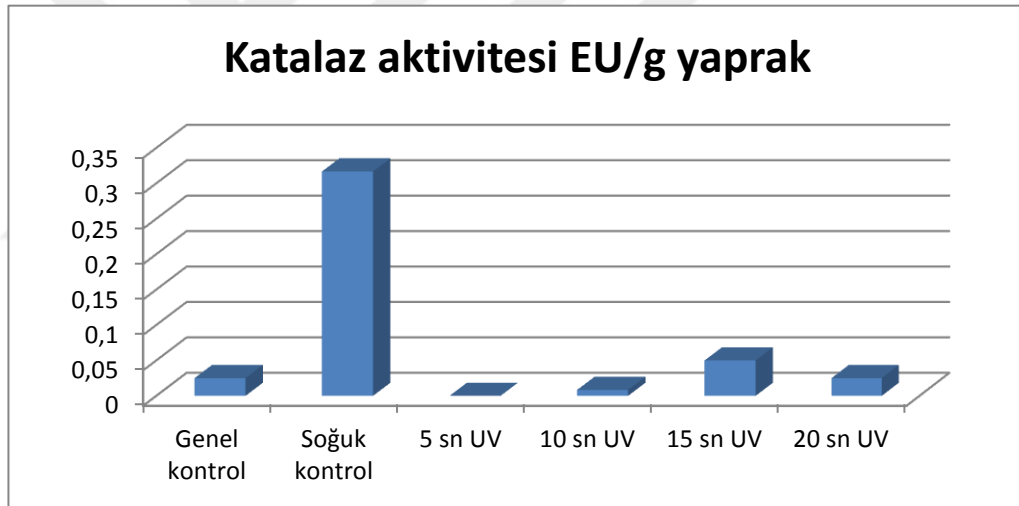
Şekil 4.2. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasını müteakiben soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak CAT aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. (Çizelge 4.3. ,Şekil 4.3.). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki CAT aktivitesi genel kontrolle göre kıyaslandığında, artış görülmüştür ($P < 0.05$). 15 sn lik UV grubunda ise; soğuk kontrolle kıyaslandığında önemli artış görülmüştür. (%100) oysa 5 sn UV ve 20 sn UV uygulamalarında ise herhangi bir değişiklik olmamıştır.

Çizelge 4.3. Dört farklı zamanda UV (5 sn ,10 sn,15 sn,20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standartsapma
Genel kontrol	0,025 c	0,000
Soğuk kontrol	0,316 a	0,005
5 sn UV	0,000 d	0,000
10 sn UV	0,008 d	0,014
15 sn UV	0,050 b	0,000
20 sn UV	0,025 c	0,000

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



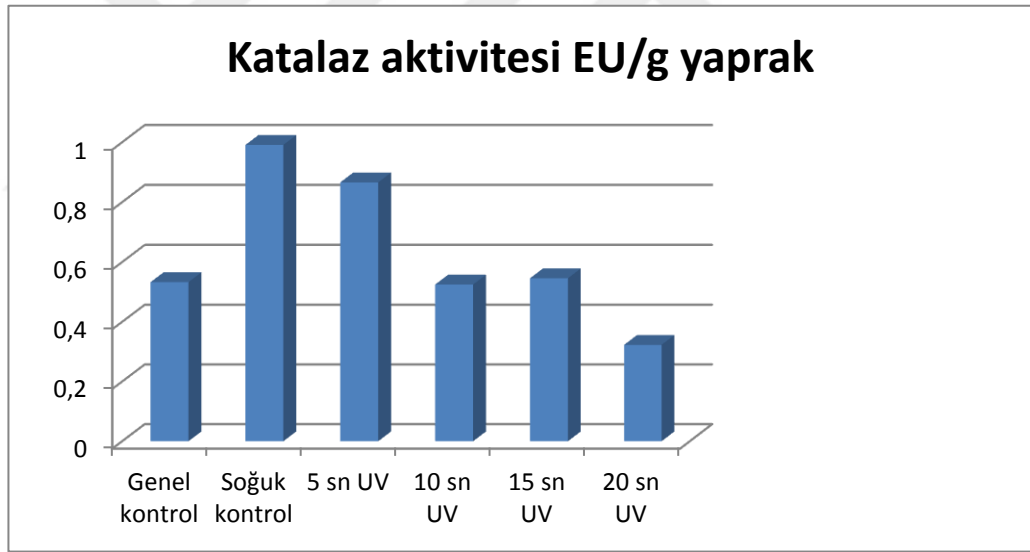
Şekil 4.3. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasının ardından soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak CAT aktivitesi belirlendiğinde önemli değişikliklerin olduğu belirlendi (Çizelge 4.4, Şekil 4.4). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki CAT aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %99 luk bir artış olduğu görülmüştür. 5 sn lik UV uygulamasında yine genel kontrolle kıyasla %80'lik bir artış olduğu belirlendi, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda ise hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük katalaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.4. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	0,533 c	0,05774
Soğuk kontrol	0,991 a	0,01443
5 sn UV	0,866 b	0,05774
10 sn UV	0,525 c	0,00000
15 sn UV	0,546 c	0,00577
20 sn UV	0,323d	0,00577

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



Şekil 4.4. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki katalaz enziminin uygulamalara göre değişimi

4.1.2. Peroksidaz aktivitesine ait sonuçlar

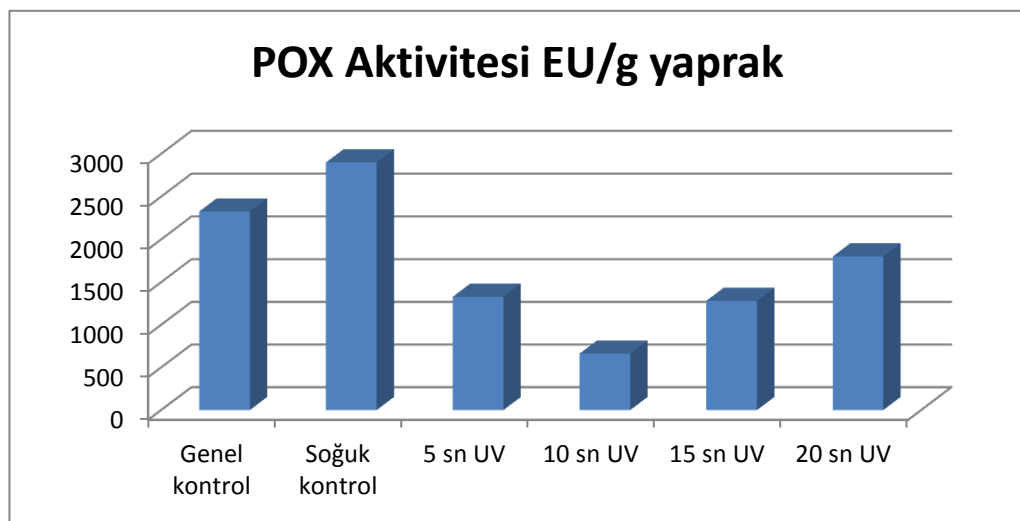
Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasının ardından soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak POX aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi (Çizelge 4.5., Şekil 4.5). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki POX aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında,

%24 lük bir artış olduğu ($P<0.05$) ,5 sn lik UV grubunda ise %43 lük bir azalma olduğu bu azalmanın 10 sn UV uygulamasında %71 olduğu, 15 sn UV uygulamasında ise %55 ,oyşa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük POX aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.5. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye (*Phaseolus vulgaris*) bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	2325 b	0,000
Soğuk kontrol	2899,67 a	0,577
5 sn UV	1329 d	1,732
10 sn UV	661 f	1,000
15 sn UV	1281 e	1,000
20 sn UV	1801,33 c	1,155

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



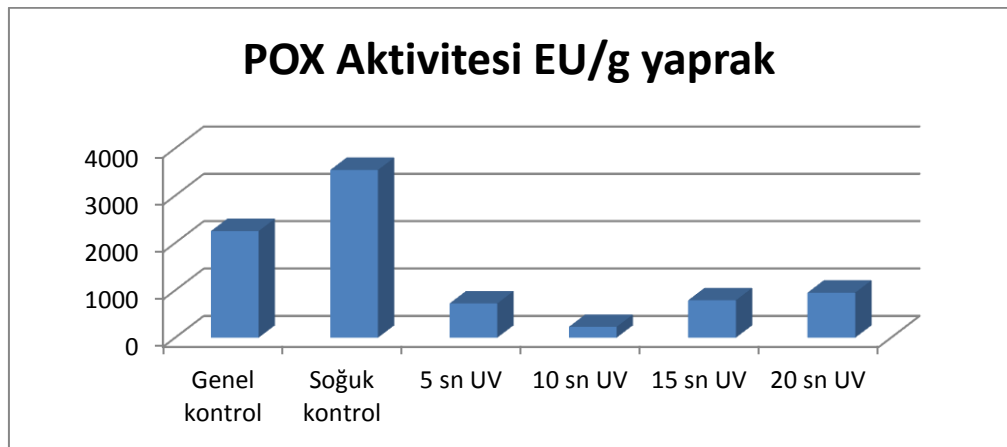
Şekil 4.5. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye (*Phaseolus vulgaris*) bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulamasının ardından soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak POX aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. (Çizelge 4.6, Şekil 4.6). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki POX aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %57.3'lük bir artış olduğu ($P<0.05$) ,oyşa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük POX aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.6. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	2251 b	1,000
Soğuk kontrol	3542 a	0,577
5 sn UV	722,33 e	2,082
10 sn UV	227,67 f	0,577
15 sn UV	789,33 d	1,155
20 sn UV	950 c	2,000

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



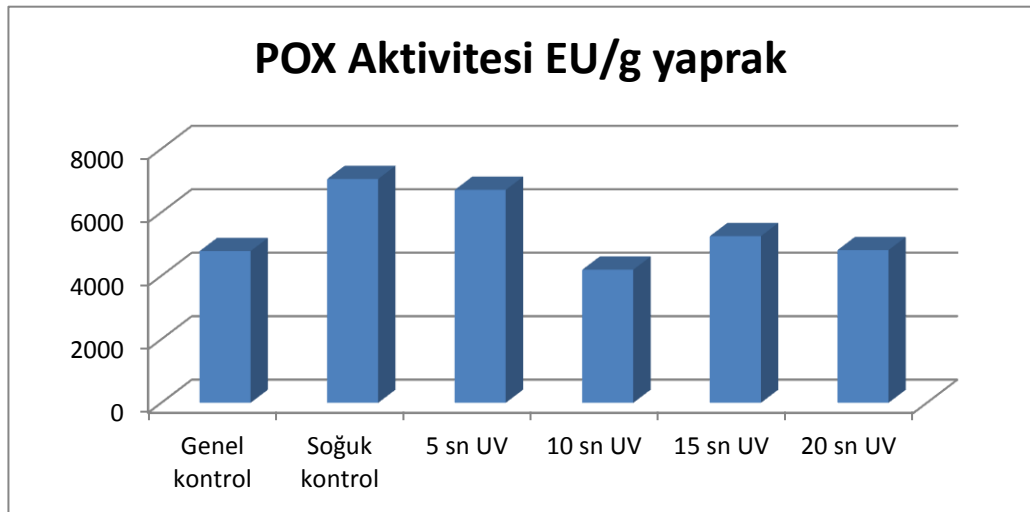
Şekil 4.6. Dört farklı zamanda UV (5 sn ,10 sn,15 sn,20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulamasının ardından soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak POX aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. (Çizelge 4.7, Şekil 4.7). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki POX aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %47.5 luk bir artış olduğu ($P<0.05$) ,bu artışın 5 sn lik UV grubunda ise %40 olduğu,15sn lik uygulamada ise %10 olduğu, oysa ki diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük POX aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.7. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	4780 e	1,155
Soğuk kontrol	7053 a	0,577
5 sn UV	6709 b	0,577
10 sn UV	4195 f	0,577
15 sn UV	5252 c	0,577
20 sn UV	4812 d	0,577

*Aynı harfler arasındaki fark önemsizdir.($P>0,05$)



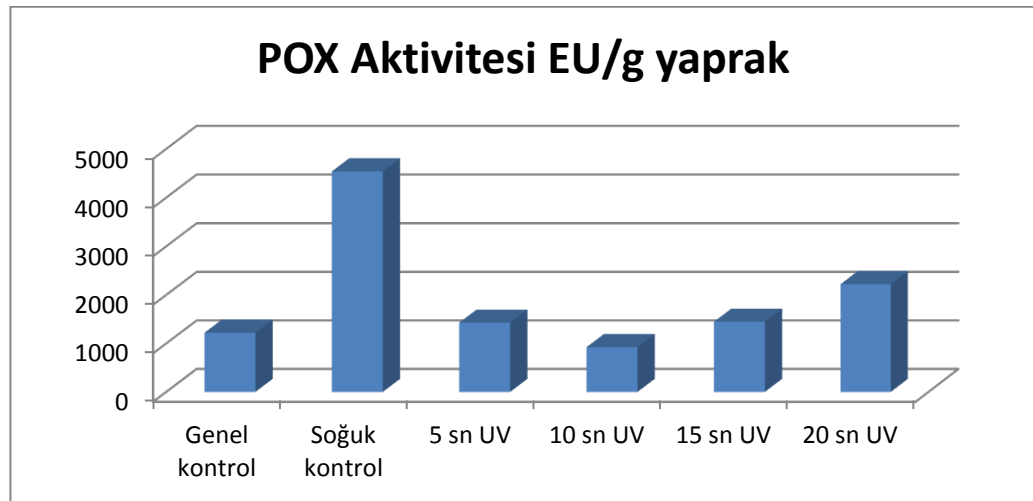
Şekil 4.7. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasının ardından soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak POX aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi (Çizelge 4.8, Şekil 4.8). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki POX aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %271 lik bir artış olduğu ($P<0.05$) bu artışın 20 sn lik UV grubunda ise bu artışın %82 lik bir artış olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük POX aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.8. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	1220 e	1,155
Soğuk kontrol	4537 a	0,577
5 sn UV	1427 d	0,577
10 sn UV	924 f	0,577
15 sn UV	1446 c	0,577
20 sn UV	2223 b	0,577

*Aynı arfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



Şekil 4.8. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

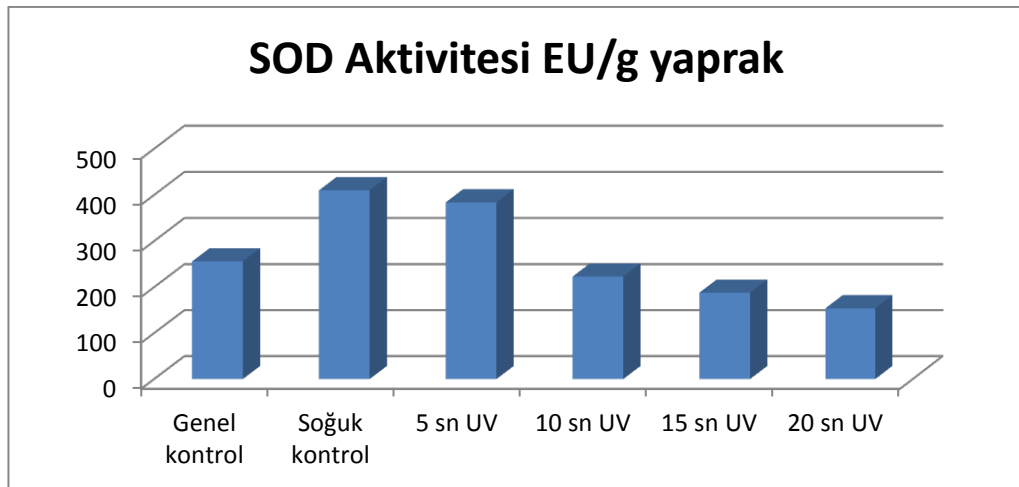
4.1.3. Süperoksitdismutaz aktivitesine ait sonuçlar

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulamasını müteakiben soğuk maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak SOD aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. (Çizelge 4.9, Şekil 4.9). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki SOD aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %60'lık bir artış olduğu, bu artışın 5 sn UV grubunda ise yine genel kontrolle kıyaslandığında %50 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük süperoksitdismutaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.9. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	256 c	2,000
Soğuk kontrol	410 a	0,577
5 sn UV	384 b	1,528
10 sn UV	223 d	0,577
15 sn UV	188 e	1,155
20 sn UV	154 f	1,155

*Aynı harfi ulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



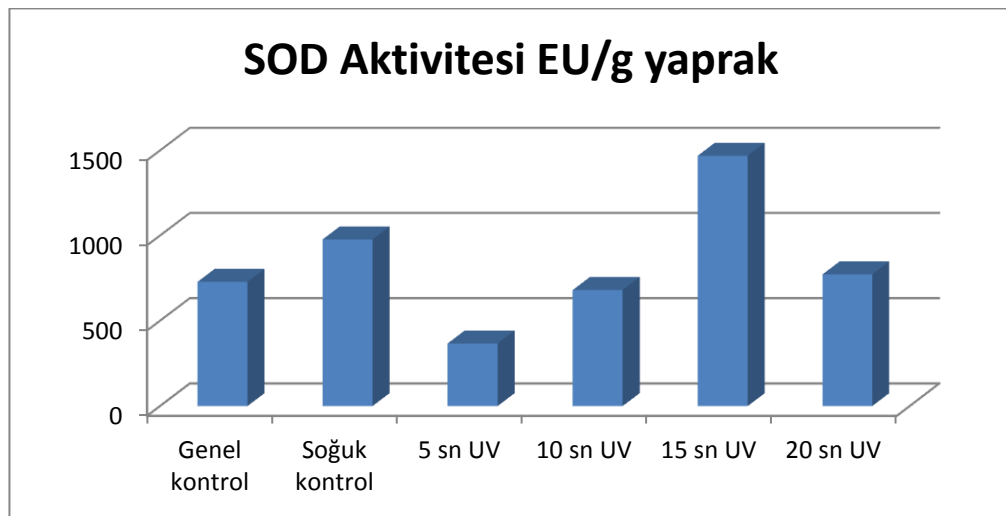
Şekil 4.9. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulamasını müteakiben soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak SOD aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. (Çizelge 4.10, Şekil 4.10). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki SOD aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %34,2lik bir artış olduğu ,bu artışın 15 sn UV grubunda ise %102 olduğu bu artışın 20 sn UV grubunda %6 olduğu ,oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük SOD aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.10. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	728,27 d	0,643
Soğuk kontrol	977,33 b	1
5 sn UV	367,3 f	1,528
10 sn UV	680,33 e	0,577
15 sn UV	1469,67 a	0,577
20 sn UV	772 c	1,155

*Aynı harfi ulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir (P>0.05)



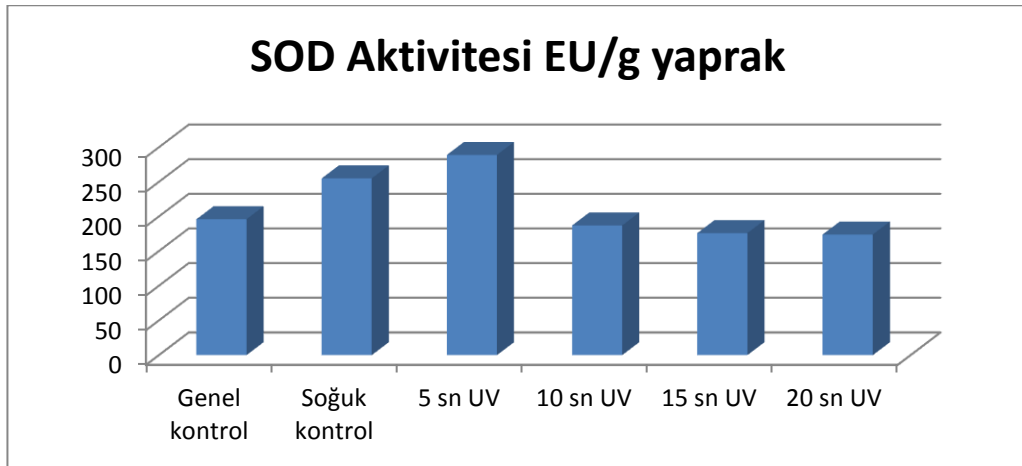
Şekil 4.10. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulamasını müteakiben soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak SOD aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. (Çizelge 4.3.c, Şekil 4.3.c). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki SOD aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %30 luk bir artış olduğu, bu artışın 5 sn UV grubunda ise %46 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük süperoksitdismutaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.11. Dört farklı zamanda UV (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	196,63 c	0,551
Soğuk kontrol	255,33 b	1,155
5 sn UV	289,10 a	0,173
10 sn UV	187,10 d	0,173
15 sn UV	176,53 e	0,058
20 sn UV	174,33 f	0,577

*Aynı harfi ulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



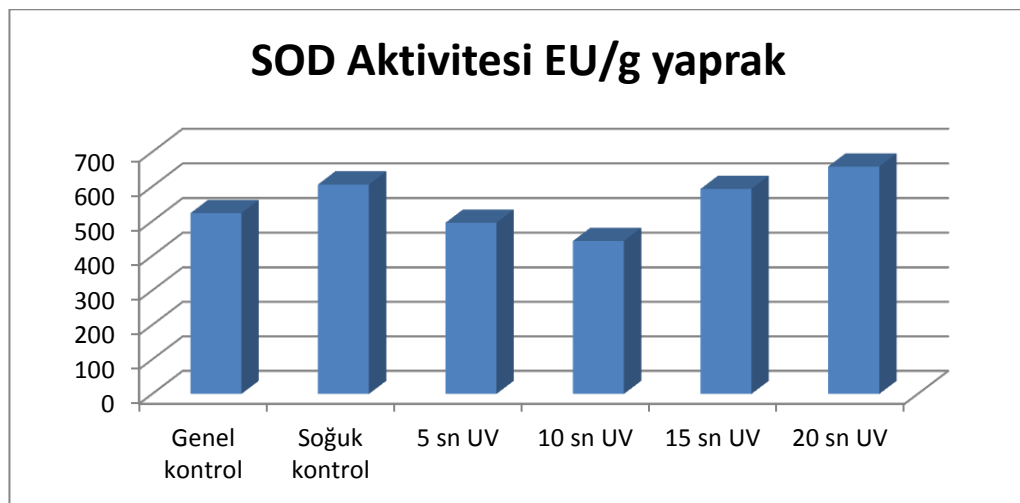
Şekil 4.11. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki peroksidaz enziminin uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulamasının ardından soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak SOD aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi (Çizelge 4.12, Şekil 4.12). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki SOD aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %79.6 lık bir artış olduğu, bu artışın 5sn UV grubunda %28, 10 sn lik UV uygulamasında %26, 20 sn UV grubunda ise %23 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarında hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük süperoksitdismutaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Çizelge 4.12. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi

	EU/ g yaprak	Standart sapma
Genel kontrol	157,3 f	0,577
Soğuk kontrol	282 a	0
5 sn UV	201,33 c	0,577
10 sn UV	214,33 b	0,577
15 sn UV	163,33 e	0,577
20 sn UV	193,33 d	0,577

*Aynı harfi ulunduran gruplar arasındaki farkönemsizdir ($P>0.05$)



Şekil 4.12. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki süperoksitdismutaz enziminin uygulamalara göre değişimi

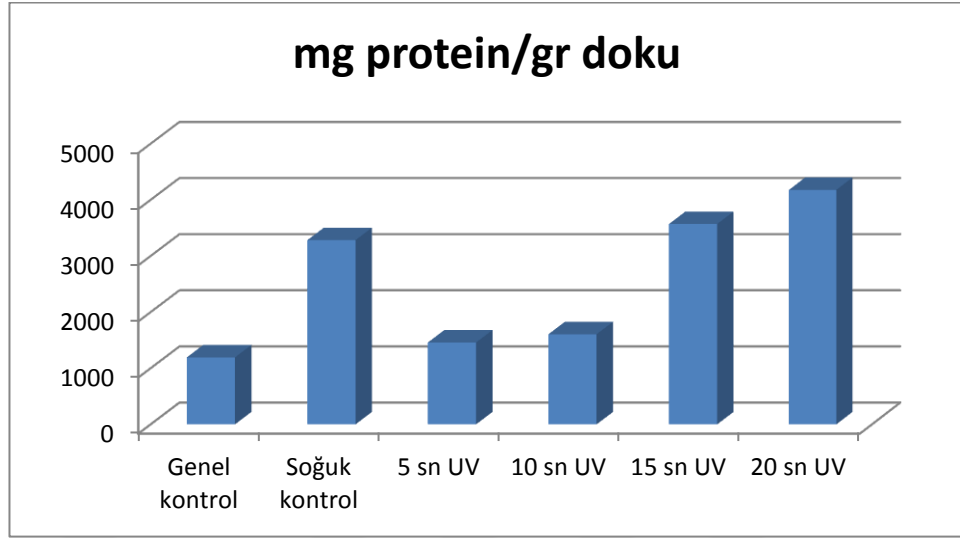
4.1.4. Toplam çözülebilir protein miktarına ait sonuçlar

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulamasının sonrasında soğuk maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak protein miktarlarına bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. ($P<0.05$) (Çizelge 4.13, Şekil 4.13). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki protein miktarı genel kontrolle kıyaslandığında, %177 lik bir artış olduğu, bu artışın 15 sn UV grubunda ise %201 olduğu, 20 sn'lik UV uygulamasında da %247 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük katalaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Kontrol bitkisinin yapraklarındaki protein miktarı 1193 (mg protein/gr doku) iken, düşük sıcaklık uygulamasıyla bu değer %177'lik bir artışla 3282 (mg protein/gr doku) olarak belirlendi. (Çizelge 4.13 ve Şekil 4.13).

Çizelge 4.13. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi

	mg protein/gr yaprak doku	Standart sapma
Genel kontrol	1193,0 f	0,0499
Soğuk kontrol	3282,4 c	1,103
5 sn UV	1458,1 e	0,365
10 sn UV	1605,5 d	0,082
15 sn UV	3569,4 b	0,367
20 sn UV	4176,5 a	0,035



Şekil 4.13. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi

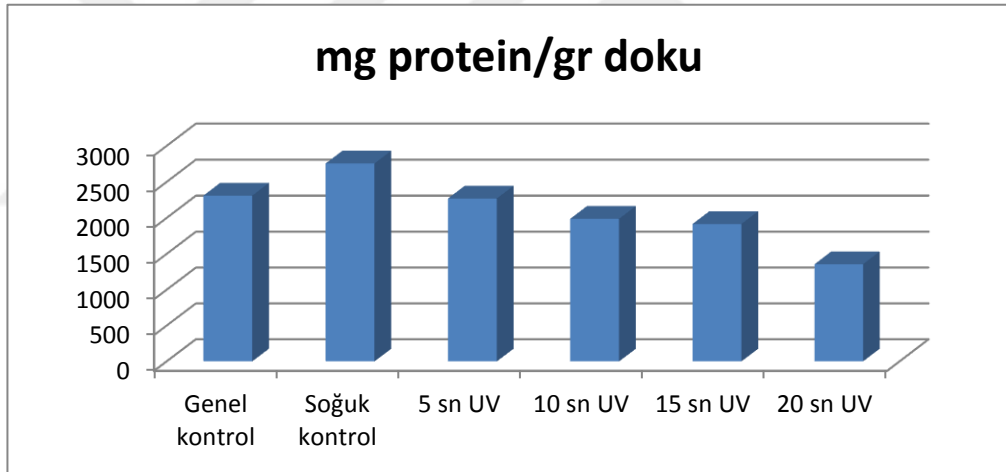
Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasının sonrasında soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak protein miktarlarına bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. ($P < 0.05$) (Çizelge 4.14, Şekil 4.14). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki protein miktarı genel kontrolle kıyaslandığında, %15’lik bir artış olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük protein miktarlarının olduğu belirlendi.

Kontrol bitkisinin yapraklarındaki protein miktarı 2309 (mg protein/gr doku) iken, düşük sıcaklık uygulamasıyla bu değer %15’lik bir artışla 2756 (mg protein/gr doku) olarak belirlendi. (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.14.).

Çizelge 4.14. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi

	mg protein/gr yaprak doku	Standart sapma
Genel kontrol	2309,09 b	0,188
Soğuk kontrol	2756,94 a	0,297
5 sn UV	2269,09 c	0,259
10 sn UV	1988,31 d	0,280
15 sn UV	1916,94 e	0,212
20 sn UV	1356,15 f	0,154

*Aynı arfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



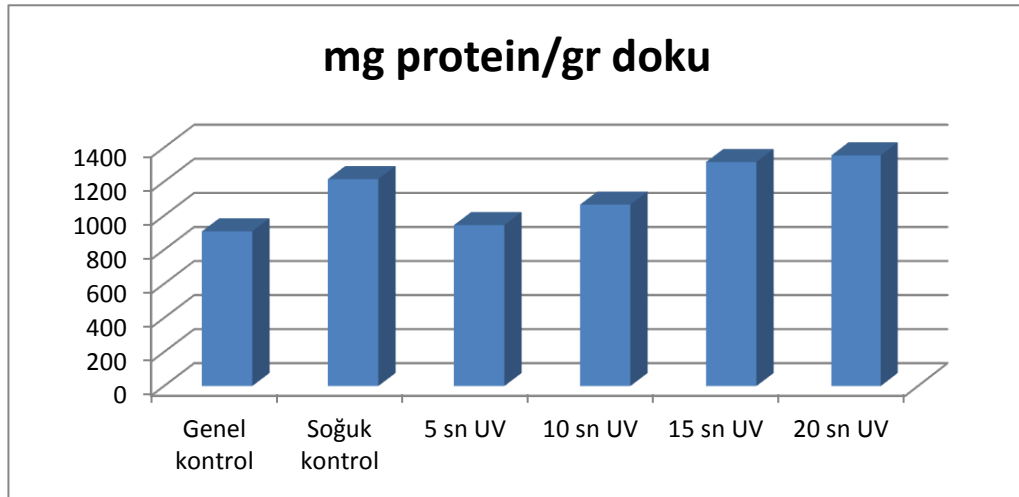
Şekil 4.14. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasının sonrasında soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak protein miktarlarına bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. ($P<0.05$) (Çizelge 4.15, Şekil 4.15). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki protein miktarı genel kontrolle kıyaslandığında, %25.6 lık bir artış olduğu, bu artışın 15 sn UV grubunda ise %45.5 olduğu, 20 sn lik UV uygulamasında da %50 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük protein miktarlarının olduğu belirlendi.

Kontrol bitkisinin yapraklarındaki protein miktarı 908 (mg protein/gr doku) iken, düşük sıcaklık uygulamasıyla bu değer %25.6lık bir artışla 1215 (mg protein/gr doku) olarak belirlendi (Çizelge 4.15. ve Şekil 4.15).

Çizelge 4.15. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi

	mg protein/gr yaprak doku	Standart sapma
Genel kontrol	908,31 d	0,678
Soğuk kontrol	1215,7 b	0,190
5 sn UV	945,17 d	0,604
10 sn UV	1065,9 c	0,259
15 sn UV	1315,3 a	0,213
20 sn UV	1354,5 a	0,094



Şekil 4.15. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasını müteakiben soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak protein miktarlarına bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi (Çizelge 4.16, Şekil 4.16).

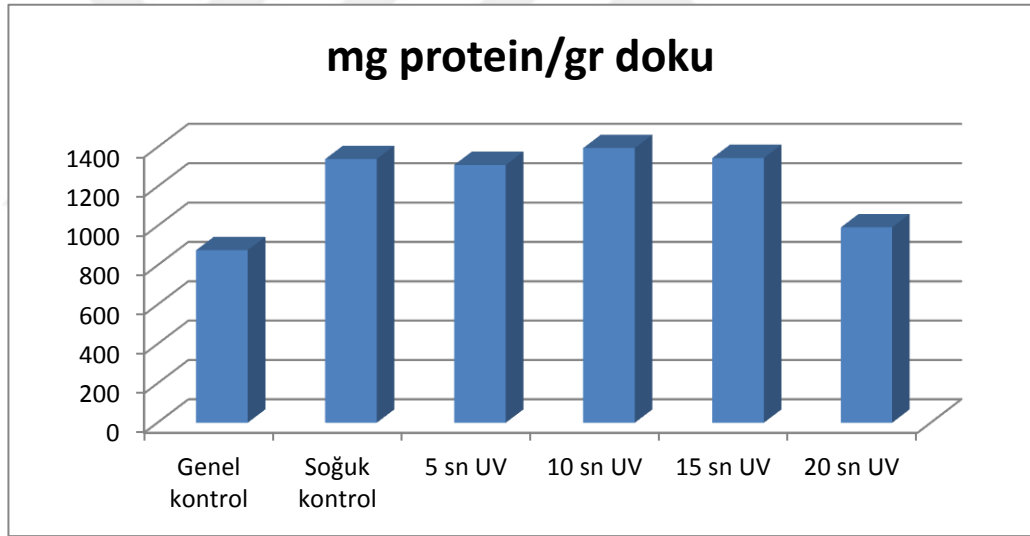
Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki protein miktarları genel kontrolle kıyaslandığında, %53.6'lık bir artış olduğu, bu artışın 5 sn UV grubunda ise yine genel kontrolle kıyaslandığında %49.4'lük olduğu, 10 sn lik UV grubunda %59.7 olduğu, 15 sn'lik uygulamada da %54 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük protein miktarlarının olduğu belirlendi.

Kontrol bitkisinin yapraklarındaki protein miktarı 877 (mg protein/gr doku) iken, düşük sıcaklık uygulamasıyla bu değer %53.6'lık bir artışla 1340 (mg protein/gr doku) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.16).

Çizelge 4.16. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi

	mg protein/gr yaprak doku	Standart sapma
Genel kontrol	877,7 c	0,791
Soğuk kontrol	1340,4 a	0,258
5 sn UV	1310,6 a	0,721
10 sn UV	1396,9 a	0,231
15 sn UV	1345,1 a	0,141
20 sn UV	993,8 b	0,223

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



Şekil 4.16. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki protein miktarının uygulamalara göre değişimi

4.1.5. Lipid peroksidasyon LPO (MDA) miktarına ait sonuçlar

Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasının sonrasında soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak LPO miktarlarına bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi (Çizelge 4.17, Şekil 4.17.). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki LPO aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında,

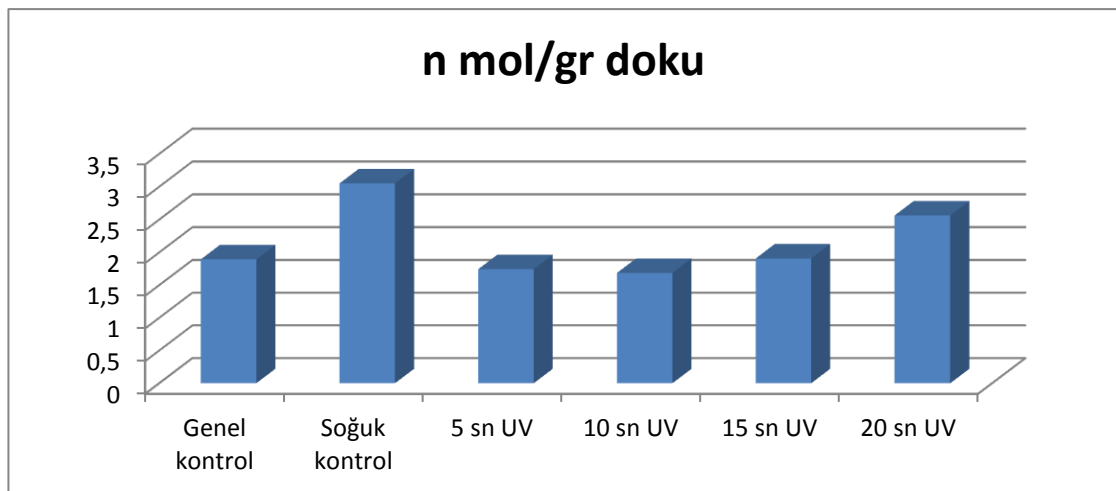
%61'lik bir artış olduğu, bu artışın 20 sn UV grubunda ise yine genel kontrolle kıyaslandığında %35 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük lipid peroksidaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Kontrol bitkisinin yapraklarındaki LPO miktarı 1,89 (n mol/gr doku) iken, düşük sıcaklık uygulamasıyla bu değer %61'lik bir artışla 3,05 (n mol/gr doku) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.17).

Çizelge 4.17. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi

	n mol/gr doku	Standart sapma
Genel kontrol	1,893 c	0,085
Soğuk kontrol	3,050 a	0,257
5 sn UV	1,744 c	0,110
10 sn UV	1,687 c	0,044
15 sn UV	1,907c	0,182
20 sn UV	2,562 b	0,030

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



Şekil 4.17. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan fasulye bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi

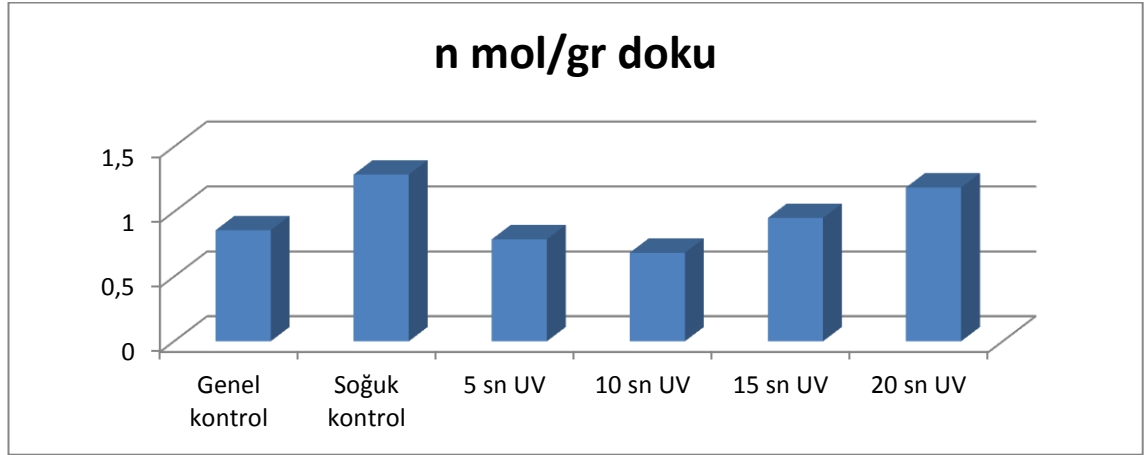
Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn,10 sn,15 sn,20 sn) uygulamasını müteakiben soğuk maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak LPO aktivitelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi (Çizelge 4.18, Şekil 4.18). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki LPO aktivitesi genel kontrolle kıyaslandığında, %50'lik bir artış olduğu, bu artışın 15 sn UV grubunda ise yine genel kontrolle kıyaslandığında %11 olduğu, 20 sn lik UV grubunda da %38 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük lipid peroksidaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Kontrol bitkisinin yapraklarındaki lipid peroksidasyon seviyesi 0.85(n mol/gr doku) iken, düşük sıcaklık uygulamasıyla bu değer %50'lik bir artışla 1.28 (n mol/gr doku) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.18. ve Şekil 4.18).

Çizelge 4.18. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi

	N mol /gr doku	Standart sapma
Genel kontrol	0,857 d	0,065
Soğuk kontrol	1,285 a	0,031
5 sn UV	0,787d	0,023
10 sn UV	0,684 e	0,025
15 sn UV	0,952 c	0,037
20 sn UV	1,185 b	0,080

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



Şekil 4.18. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan nohut bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi

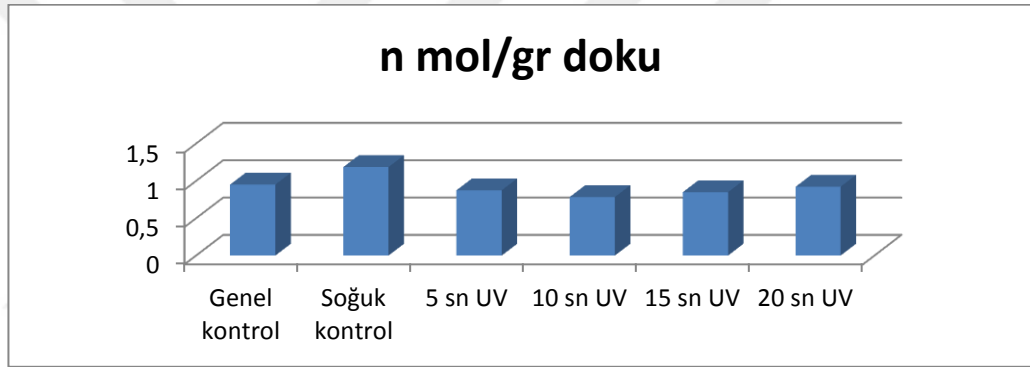
Farklı sürelerdeki UV'şını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasının ardından soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak LPO seviyelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. (Çizelge 4.19, Şekil 4.19). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki LPO seviyesi genel kontrolle kıyaslandığında, %25'lik bir artış olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük lipid peroksidaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Kontrol bitkisinin yapraklarındaki LPO seviyesi 0,94 (n mol/gr doku) iken, düşük sıcaklık uygulamasıyla bu değer %25,5'lik bir artışla 1,18 (n mol/gr doku) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.19, Şekil 4.19).

Çizelge 4.19. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi

	n mol/gr doku	Standart sapma
Genel kontrol	0,949 b	0,011
Soğuk kontrol	1,184 a	0,120
5 sn UV	0,873 b c	0,023
10 sn UV	0,783 c	0,028
15 sn UV	0,848 b c	0,027
20 sn UV	0,92107526 b	0,015

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



Şekil 4.19. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan mercimek bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi

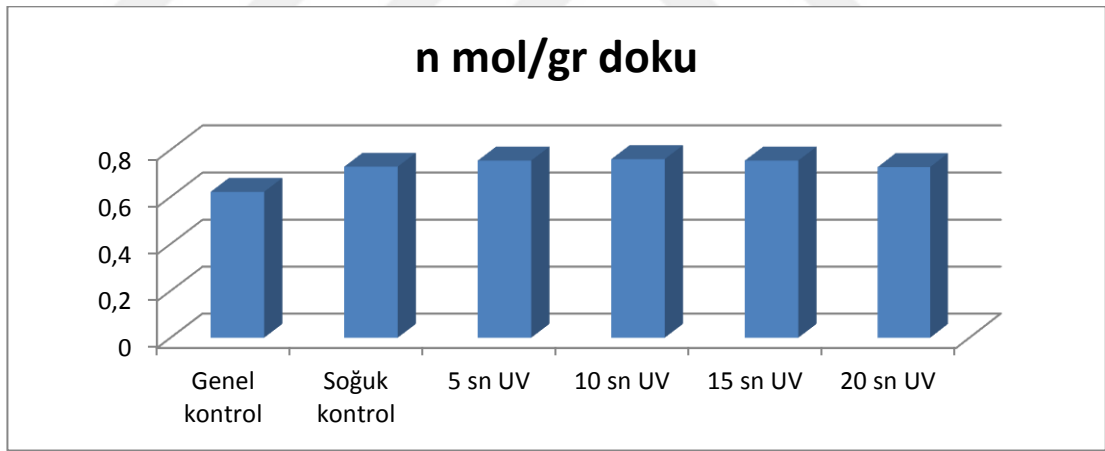
Farklı sürelerdeki UV ışını (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulamasının sonrasında soğuğa maruz bırakılmış olan bitkilerin yaprakları kullanılarak LPO seviyelerine bakıldığında önemli değişikliklerin olduğu belirlendi. (Çizelge 4.20, Şekil 4.20). Sadece soğuk uygulanmış bitkilerin yapraklarındaki LPO seviyesi genel kontrolle kıyaslandığında, %16'lık bir artış olduğu, bu artışın 5 sn UV grubunda ise yine genel kontrolle kıyaslandığında %21 olduğu, 10 sn lik UV grubunda da %22.5 olduğu, oysa diğer UV uygulanmış gruplarda hem genel kontrol hem de kontrol gruplarından istatistiki olarak daha düşük lipid peroksidaz aktivitelerinin olduğu belirlendi.

Kontrol bitkisinin yapraklarındaki 0,62 Lipid peroksidasyon seviyesi (n mol/gr doku) iken, düşük sıcaklık uygulamasıyla bu değer %16'lık bir artışla 0,72 (n mol/gr doku) olarak belirlenmiştir. (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.20).

Çizelge 4.20. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi

	n mol/gr doku	Standart sapma
Genel kontrol	0,621 b	0,006
Soğuk kontrol	0,728 a	0,019
5 sn UV	0,754 a	0,116
10 sn UV	0,760 a	0,046
15 sn UV	0,754 a	0,023
20 sn UV	0,726 a	0,046

*Aynı harfi bulunduran gruplar arasındaki fark önemsizdir ($P>0.05$)



Şekil 4.20. Dört farklı zamanda UV (5 sn, 10 sn, 15 sn, 20 sn) uygulanan buğday bitkisinde yaprak dokusundaki Lipid peroksidasyon seviyesinin uygulamalara göre değişimi

4.2. Morfolojik Bulgular

4.2.1. UV-B uygulaması ve bir saat soğuk stresi sonrası

Her bir grupta 3 tekrar olmak üzere 6 gruba (genel kontrol, soğuk kontrol, 5snUV, 10snUV, 15snUV, 20sn UV) ayrılarak uygulamalar yapılmıştır. UV uygulamaları

yapıldıktan sonra bitkiler 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir ve aynı işlem 5 kez daha tekrarlandıktan sonra üşüme sıcaklığına bırakılmadan önce fotoğraflar çekilmiştir.

Fasulye bitkisinde yapılan görsel değerlendirme sonucunda genel kontrol görüntüsüne en yakın 5 sn UV ve 10 sn UV uygulamalarında gözlenmiştir. En iyi sonuç 5.kez tekrardan sonra alınmıştır.Saniye olarak çalışmalar yapıldığı için farkın çok fazla olmadığı görülmüştür.Bu sonuçlar enzim aktivite sonuçlarıyla paralellik arz etmektedir.



Şekil 4.21. Genel kontrol-Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10sn UV



Şekil 4.22. Genel kontrol-Kontrol-15 sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV

4.2.2. UV uygulaması ve 2.bir saat soğuk stresi sonrası



Şekil 4.23. Genel kontrol-Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10sn UV



Şekil 4.24. Genel kontrol-Kontrol-15 sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV

4.2.3. UV uygulaması ve 3. bir saat soğuk stresi sonrası



Şekil 4.25. Genel kontrol-Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10sn UV



Şekil 4 26. Genel kontrol-Kontrol-15sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV

4.2.4. UV uygulaması ve 4. bir saat soğuk stresi sonrası



Şekil 4.27. Genel kontrol-Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10 sn UV



Şekil 4.28. Genel kontrol-Kontrol-15 sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV

4.2.5. UV uygulaması ve 5. bir saat soğuk stresi sonrası



Şekil 4.29. Genel kontrol- Kontrol-5 sn UV Genel kontrol-Kontrol-10 sn UV



Şekil 4.30. Genel kontrol-Kontrol-15 sn UV Genel kontrol-Kontrol-20 sn UV

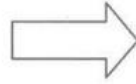
Buğday bitkisi de her bir grupta 3 tekrar olmak üzere 6 gruba (genel kontrol, soğuk kontrol, 5snUV, 10snUV, 15snUV, 20sn UV) ayrılarak uygulamalar yapılmıştır. UV uygulamaları yapıldıktan sonra bitkiler 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir ve aynı işlem 5 kez daha tekrarlandıktan sonra üşüme sıcaklığına bırakılmadan önce fotoğraflar çekilmiştir. Buğday bitkisinde yapılan görsel değerlendirme sonucunda genel kontrol görüntüsüne en yakın 15 sn UV ve 20 sn UV uygulamalarında gözlenmiştir. En iyi sonuç 5.kez tekrardan sonra alınmıştır. Bu sonuçlar enzim aktivite sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.



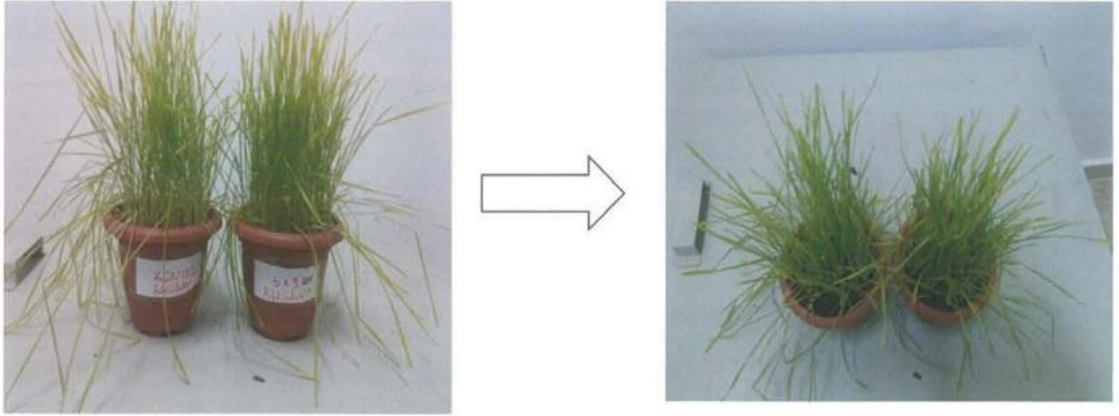
Şekil 4.31. Buğday bitkisi genel kontrol



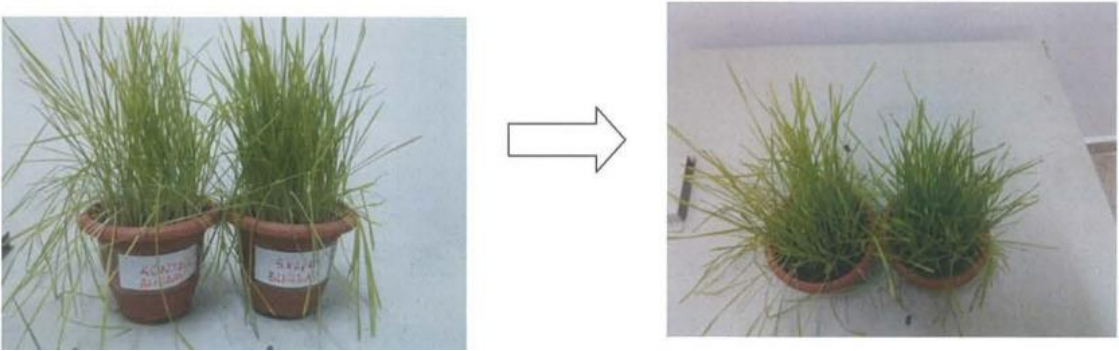
Şekil 4.32. Buğday bitkisi soğuk kontrol



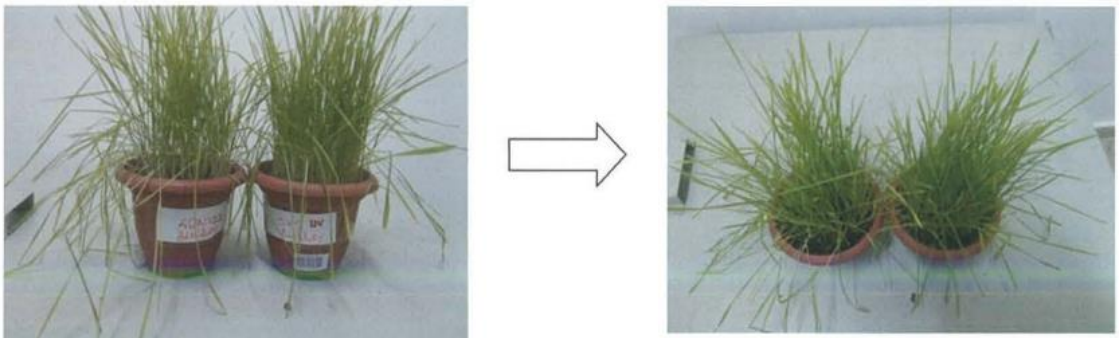
Şekil 4.33. Buğday bitkisinde 5 Sn UV uygulamasından sonraki görüntü



Şekil 4.34. Buğday bitkisinde 10 sn UV uygulamasından sonraki görüntü



Şekil 4.35. Buğday bitkisinde 15 SN sn UV uygulamasından sonraki görüntü



Şekil 4.36. Buğday bitkisinde 20 sn UV uygulamasından sonraki görüntü

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada, yapılan testler ve istatistiki analizler sonucunda, normal ortamda yetiştirilen bitkilere (Genel Kontrol) kıyasla, sadece üşüme sıcaklığı uygulanmış 4 bitki türünün yapraklarında ki antioksidant enzim aktivitelerinin istatistiki olarak önemli seviyelerde artış gösterdiği, bununla birlikte UV uygulandıktan sonra üşüme sıcaklıklarına maruz bırakılan bitki yapraklarında (UV+ Soğuk) Katalaz, Süperoksit dismutaz ve Peroksidaz aktivitelerinin, genel kontrol ve soğuk kontrolle kıyaslandığında, uygulanan UV süresine bağlı olarak değişen artış ve azalışların olduğu belirlenmiştir. Bu kıyaslama soğuk kontrole göre yapıldığında her 3 antioksidant enzim aktivitesinin de UV uygulamaları yapılmış olanlarda, genel olarak azaldığı şeklinde olmuştur. UV ışınlarının bitkilerin hormonal dengeleri (Seçkin 2005), antioksidant aktiviteleri (Nayyar and Gupta 2006) ve dolayısıyla büyüme ve gelişme olayları, ayrıca bazı bitkilerin hasat sonrasında mikroorganizmalara karşı korunmasında etkili oldukları (Allende and Artes 2003; Allende *et al.* 2006) bilinmektedir. UV uygulamaları mikroorganizmaları etkisizleştirirken aynı zamanda hafif stres etkisi oluşturarak ürünün hasat sonrası dayanımını da artırdığı rapor edilmiştir (Kasım ve Kasım 2007). Öte yandan UV ışınının güneş ışınları içerisinde küçük bir yüzdeye sahip olmasına karşın, yüksek bitkilerde hasar oluşturabilecek etkilere sahip olduğu, söz konusu hasarları da DNA, protein ve hücresel zarlara etki ederek gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Jansen 1998). Nitekim bu araştırmanın ön denemeleri yapılırken, bitkilere uzun süreli (saat veya dakika olarak) UV uygulamaları da yapılmış, ancak 20 saniyenin üzerinde yapılan UV uygulamalarının bitkilerde ölüme yol açtığı gözlenmiş, o yüzden düşük sıcaklığa aklimasyon sağlayabilecek, öldürücü olmayan daha kısa sürelerin uygulanması uygun görülmüştür.

UV ışını uygulamasının bitkide oksidatif strese yol açtığını, elde ettiğimiz antioksidant enzim aktivitelerindeki değişimlere bakarak söylemek mümkündür. Zira bu durum, önceki araştırmalarda da rapor edilmiştir (Çakırlar vd 2009). Ancak soğuk kontrole göre, üşüme sıcaklığı uygulamasından önce, kısa süreli UV uygulanan bitkilerde antioksidant enzim aktivitelerinin nisbeten düşük olması, UV stresi uygulamasının

bitkilere hafif ön stres olacak şekilde etkili olduğunu ve aklimasyon sağlamalarına yardımcı olduğu şeklinde düşünülebilir.

Total protein tayini analizlerine bakıldığında, yine Soğuk kontrol bitkilerinde ki protein miktarlarının, Genel Kontrole kıyasla arttığı, bu artışın UV+ Soğuk uygulanan tüm bitki türlerinde de olduğu (Nohut hariç), ancak Soğuk kontrole kıyasla, uygulanan UV süresine bağlı olarak değişen artış veya azalışların olduğu tespit edilmiştir. Bitkilerin aklimasyon sağlamasında, bitki yapısındaki total proteinlerin arttığı çok iyi bilinmekte olup, bunun aklimasyon sağlanmasının önemli bir kısmını oluşturduğu bilinmektedir. Bu anlamda, araştırmamızda elde edilen sonuçlar, önceki çalışmalarda belirlenen sonuçlarla uyumluluk arz etmektedir (Thomas 1993; Yamada 2002; Pi vd.2009).

Düşük sıcaklık stresinin, kullandığımız bitkilerdeki hücre zarı hasarlarını belirlemek amacıyla yapmış olduğumuz Lipid Peroksidasyon testlerinde ise, yine Genel Kontrole nazaran Soğuk kontrol bitki yapraklarındaki LPO seviyelerinin önemli seviyelerde artmış olduğu, oysa buğday bitkisi hariç, diğer bitki türlerinde uyguladığımız farklı UV sürelerine bağlı olarak, LPO seviyelerinin, Soğuk kontrole göre düşüş gösterdiği belirlenmiştir. LPO seviyesi analizi, bitkinin maruz kaldığı stres sonrasında, bitkinin hücresel zarlarında meydana gelen hasarların büyüklüğünü gösteren ve strese dayanıklılık çalışmalarında, strese dayanıklılığın nisbi ve kantitatif olarak belirlenmesinde çok kullanılan bir parametredir. Çünkü bitkilerin hasar oluşturabilecek kadar bir strese maruz kalması durumunda, bitki hücrelerinde ilk hasar oluşumu hücre zarlarında ortaya çıkmaktadır. Hücre zarlarında görülen bu hasarın, stresin etkisiyle sitoplazmada oluşan ROT'ların hücre zarlarına gelerek, lipid ikili tabakasındaki doymamış yağlara bağlanmaları nedeniyle olduğu bilinmektedir (Wagner *et al.* 1994; Halliwell and Gutteridge 2003). Bunun sonucunda hücre zarlarında lipid peroksidasyon oluşumu süreci başlamış olur ve sonrasında hücre zarındaki enzimlerin aktiviteleri azalır, yine hücre zarının yapısında bulunan taşıyıcılar, reseptörler fonksiyonel kayıplara uğrar ve böylece hücre zarının seçici geçirgenlik özelliği azalır ve müteakiben hücre metabolizması bozulmaya başlar (Chen *et al.* 1995). Bu araştırmada, Soğuk kontrol ile Genel kontrol bitkilerinden elde ettiğimiz LPO seviyelerini kıyasladığımızda, uygulamış

olduğumuz düşük sıcaklık derecesi ve süresinin fasulye, nohut ve mercimek bitkileri için stres oluşturabilme anlamında yeterli olduğunu görmekteyiz. Çünkü tüm bitki türlerine ait Soğuk kontrol gruplarında ki LPO seviyeleri, Genel kontrol gruplarınınkinden çok daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, üşüme sıcaklıkları uygulanmadan önce hafif ön stres vermek amacıyla farklı sürelerde (5, 10, 15, ve 20 sn) UV ışınına maruz bırakmış olduğumuz deney grubu bitkilerinde ise LPO seviyelerinin soğuk kontrole göre düşük çıkmış olması (buğday hariç), UV uygulamasının, düşük sıcaklık stresinin bitki hücre zarlarında yol açtığı hasarların azaltılmasını sağladığı anlamına gelmektedir. Literatürde UV ışınlarının, üşümeye direnç sağlamak amacıyla hafif bir ön stres olarak uygulandığına dair herhangi bir bilgiye rastlanmadığından, bu sonucun önceki araştırma bulgularıyla kıyaslanabilmesi mümkün olmamaktadır. Ancak bitkilerin fiziksel bir çeşit strese (örneğin düşük sıcaklık) karşı direnç sağlanmasında, başka bir fiziksel stresin (hafif ve kısa süreli elektriksel alan, manyetik alan gibi) etkili olabildiğine dair araştırmalar mevcuttur (Çakmak vd 2010; Çakmak vd 2011). Söz konusu araştırmalarda düşük sıcaklığa ve tuzluluğa aklımasyon için elektriksel alan ve manyetik alan gibi çok farklı stres çeşitlerinin kullanılmasıyla elde edilen bulgular dikkate alındığında, bu araştırmada belirlenen, hafif ön stres olarak UV stresinin kullanılarak, özellikle fasulye, nohut ve mercimek bitkilerinde düşük sıcaklığın yol açtığı LPO seviyelerinin Soğuk Kontrole göre çok daha düşük çıkması şeklinde ki bulgularımız, UV uygulamalarının aklımasyon oluşturmada başarılı olduğu, dolayısıyla önceki araştırma bulgularıyla uyumluluk gösterdiği anlamına gelmektedir. Zira üşüme sıcaklıklarına hassas olan bu türlerin, düşük sıcaklık uygulamalarının hemen sonrasında yapılan morfolojik gözlemlerinde de söz konusu üşüme dirençlerindeki artış, aynı düşük sıcaklıkların uygulandığı Soğuk Kontrol bitkileriyle morfolojik görünimleri (yaprak sararması, yaprakların buruşması gibi) kıyaslanarak da fark edilmiştir. Benzer sonuçlar buğday bitkilerinde görülmemiş olmakla birlikte, buğday bitkisinin doğal olarak soğuğa karşı dirençli olması ve sistematik olarak da çok farklı bir bitki grubuna (monokotiledon) ait olması nedeniyle, üşümeye hassas olan ve angiosperm grubuna ait bitki türlerinin verdiği cevapların aynı olmaması gayet tabiidir diye düşünmekteyiz.

Bu araştırmada, üşüme sıcaklıklarına aklımasyon sağlamak üzere, düşük sıcaklık uygulamak yerine, başka bir fiziksel stres çeşiti olan UV ışınının, düşük sıcaklık aklımasyonunun yerini alıp alamayacağı test edilmeye çalışılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlardan yola çıkarak,

Antioksidant enzim seviyelerinde belirlenen değişimlerin, stresin oluştuğunu gösteren bir parametre olduğu, ancak bitkide üşüme stresine direncin sağlandığını göstermediği,

Total protein miktarlarının belirlenmesinin de, bitkide strese cevap olarak meydana gelen aklımasyonun bir parçası olduğu, ancak strese karşı direncin oluşmasında yeterli olmadığı,

Özellikle LPO seviyelerinde gözlenen değişiklikler dikkate alındığında ise, farklı sürelerde uyguladığımız UV ışını stresinin, buğday bitkisi hariç diğer üşümeye hassas olan bitki türleri için ön stres olarak kullanılabileceği, böylece üşüme hasarına karşı hassas bitkilerin korunmasında, soğuk aklımasyonunun yerini alabileceğini söylemek mümkün görünmektedir.

Fakat UV ışınlarının hücrede yol açtığı etki mekanizmasının belirlenebilmesi için, konunun moleküler ve fizyolojik düzeyde araştırılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Acar, O., 1999. Kurağa Dayanıklı Bazı Arpa (*Hordeum* spp.) Çeşitlerinde Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitelerinin Araştırılması. (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
- Akkuş İ. (1995). Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım. Konya.
- Akkuş İ. (1995). Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza BasımYayın ve Dağıtım. Konya.
- Alaçık, Özge. "Ultra Viyole (Uv-B) Stresinin Bazı Sarıçam (*Pinus Sylvestris* L.) Soylarına Etkilerinin Araştırılması." (2014)
- Alexieva, V. , Sergiev, I. , Mapelli, S. , Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stres markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*, s1337–1344. <http://www.blackwellpublishing.com> (09.10.2005)
- Allen, D.J. and Ort, D.R., 2001, Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants, *Trends Plant Sci.*, 6, 36-42
- Allende, A. and F. Artés., 2003. Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce, *Lebensm.-Wiss.u-Technol.*, 36, 779-786.
- Alonso, R., Elvira, S., Castillo, F.J. and Gimeno, B. S. 2001. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. *Plant Cell Environ.*, 24, 905-916.
- Alscher, R.G., Donahue, J.L. and Cramer, C.L. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants relationship in green cells. *Physiol. Plant.*, 100, 224-233.
- An, L., Feng, H., Tang, X., Wang, X., Changes of microsomal membrane properties in spring wheat leaves (*Triticum aestivum* L.) exposed to enhance ultarviolet-B radiation, *Journal of and Photochemistry and Photobiology Biology*, 57, 60-65, 2000.
- Apel K., ve Hirt H., (2004), "Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction," *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373–99.
- Arora, A., Sairam, R. K. and Srivastava, G. C., 2002, Oxidative stress and antioxidative system in plants, *Current Science*, 82, 10, 1227-1238.
- Arora, A., Sairam, R. K., and Srivastava, G. C., 2002, Oxidative stress and antioxidative system in plants, *Curr. Sci*, 82(10):1227-1238 pp.
- Asada, K. 1992. Ascorbate peroksidase a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Physiol. Plant.*, 85: 235-241.
- Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol., Plant Mol. Biol.*, 50, 601- 639.
- Asada, K. and Takahashi, M. 1987. Production and scavenging of active oxygen radicals in photosynthesis. *Photoinhibition*. Kyle, D.J. (ed.), Elsevier, pp. 227-297.
- Ashraf, M., 2009, Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers, *Biotechnology Advances*, 27 84–93.

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2010 Aslantaş

- Atıcı, Ö. and Nalbantğlu B., 2003. Antifreeze proteins in higher plants. *Phytochemistry*, (64), 1187-1196
- Ayaz, F.A., 1999. Mısır (*Zea mays* L.) Fidelerinin Düşük ve Yüksek Sıcaklığa Adaptasyonunda Büyümeyi Düzenleyici Maddelerin Rolü, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Ene'as-Filho, J., Medeiros, J.V.R. and Gomes-Filho, E. (2005). Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt stress acclimation in maize plants. *Journal of Plant Physiology*, 162: 1114-1122.
- Bacci, L., Grifoni, D., Sabatini, F. and Zipoli, G., 1999. UV-B radiation causes early ripening and reduction in size of fruits in two lines of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), *Global Change Biology*, 5, 6, 635-646.
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F., Döme, D., 1996, Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seed as related to deterioration during accelerated aging, *Physiol. Plant.*, 97, 104-110
- Baka, M., Mercier, J., Corcuff, R., Castaigne, F. and Arul, J., 1999. Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries, *J. Food Sci.*, 64, 1068–1072.
- Belkhodja, R. Morales, F., Abadga, A., Gomez-Aparcsg, J., and Abadga, J., 1994, Chlorophyll fluorescence as a possible tool for salinity tolerance screening in barley (*Hordeum vulgare* L.), *Plant Physiol*, 104, 667-673.
- Berlett B.S., Stadtman E.R., 1997, Protein oxidation in aging, disease and oxidative stres. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20313–20316.
- Berlett B.S., Stadtman E.R., 1997, Protein oxidation in aging, disease and oxidative stres. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20313–20316.
- Bertamini, M., Zulini, L., Muthuchelian, K., Nedunchezian, N., 2007, Low night temperature effects on photosynthetic performance on two grapevine genotypes, *Biol. Plantarum*, 51, 381-385.
- Bertamini, M., Zulini, L., Muthuchelian, K., Nedunchezian, N., 2007, Low night temperature effects on photosynthetic performance on two grapevine genotypes, *Biol. Plantarum*, 51, 381-385.
- Beyer, F.W., and Fridovich, I., Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochem.* 161, 559-566, 1987.
- Bidwell, R.G.S., 1974. *Plant Physiology*, Giles, McMillan Co., New York.
- Bintsis T., Litopoulou-Tzanetaki E. and Robinson R.K., 2000. Review Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry – a critical review, *J.Sci. Food Agric.*, 80, 637-645.
- Blokhina, O. and Fagerstedt, K.V., 2010, Reactive oxygen species and nitricoxide in plant mitochondria: origin and redundant regulatory systems, *Physiologia Plantarum* 138, 447-462.
- Blum, A., “Breeding Crop Varieties for Stress Environments”, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2: 199-237 (1986)
- Bowler, C., Montagu, M.V., and Inze, D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43, 83-116.

- Bowler, C., Van Montagu, M., Inzé, D., 1992, Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.*, 43, 83-116.
- Boyer, J. S., 1982, Plant productivity and environment. *Science*, 218: 443–448
- Bray EA, Bailey-Serres J, Weretilnyk E (2000) Responses to abiotic stresses. In W. Gruissem, B. Buchanan, R. Jones, eds, *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, pp 1158–1249
- Bray, E. A., Bailey – Serres, J., Weretilnyk, E., Responses to Abiotic Stress , in *Biochemistry , Molecular Biology of Plants*, Buchanan, B. B., Gruissem, W. , Jones, R. L. (eds), American Society of Plant Physiologists, 1158 – 1202, Rockville, Maryland, 2000.
- Bray, E. A., Bailey-Serres, J., Weretilnyk, E., 2000, Responses to abiotic stresses. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Edited by W. Gruissem, B. Buchanan, R. Jones, American Society of Plant Physiologists, 2000: 1158-1249.
- Bray, E., Bailey-Serres, J. and Weretilnyk, E. 2000. Responses to abiotic stresses chapter 22. In *biochemistry and molecular biology of plants*. B.B. Buchanan, W. Gruissem and R.L. Jones, (ed.) American Society Plant Physiology Rockville MD.
- Breusegem, F.V., Vranová, E., Dat, J.F., Inz, D., 2001, The role of active oxygen species in plant signal transduction, *Plant Science* 161, 405-414.
- Cadenas, S.E. 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu. Rev. Biochem.*, 58, 791-10
- Cakmak, I. And Marschner, H., 1992. Magnesium deficiency and high-light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol.*, 98: 1222-1227.
- Cakmak, I., Marschner, H., 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol.*, 98: 1222-1226.
- Cakmak, I., 1994. Activity of ascorbate-dependent H₂O₂ scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium deficient leaves, but not in phosphorus deficient leaves. *J. Exp. Bot.*, 45: 1259-1266
- Candan, N., Tarhan, L., 2003, Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-stressed *Mentha pulegium* , *Turk J Chem* 27 (2003), 21-30
- Casati, P. , Andreo, C. S. (2000) UV-B and UV-C induction of NADP-malic enzyme in tissues of different cultivars of *Phaseolus vulgaris* (bean), Universidad Nacional de Rosario, Suipacha. <http://www.blackwellpublishing.com> (09.10.2005)
- Castaner A, Roig E, Serra A, De Flores T, Magrina J, Azqueta M, Sanz G and Betriu A. (1990). Risk stratification and prognosis of patients with recent onset angina. *Eur Heart J*, 11: 868–875
- Ceballas-Picot, I., Trivier, J.M., Nicole, A. and Thevenin, M., 1992, Age-correlated modifications of CuZn-SOD and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes, *Clinical Chemistry*, 38, 66-70
- Chang, H., Siegel, B.Z. and Siegel, S.M., 1984. Salinity induced in isoperoxidase in taro. *Colocasia esculenta*. *Phytochem.*, 23:233-235.
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., (1993). *An Introduction to Free Radical Biochemistry*. Br Med Bull, 49, 481-493.

- Chen, G. And Asada, K., 1989. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence two isoenzymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. *Plant Cell Physiol.*, 30: 987-998.
- Chen, Z., Silva, H. and Klessig, R.F. (1993). Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science*, 262: 1883-1886.
- Cheng, H.Y. and Song, S.Q., 2006, Species and organ diversity in the effect of hydrogen peroxide on superoxide dismutase activity in vitro, *Journal of Integrative Plant Biology*, 48 (6), 672-678.
- Chinnusamy, V., Zhu, J., Zhu., J.K., 2006, Gene regulation during cold acclimation in plants, *Physiol. Plantarum*, 126, 52-61
- Close, T.J., 1997. Dehydrins: a commonality in response of plants to dehydrations and low temperature. *Physiol. Plant.* (100), 291 -296.
- Cruz de Carvalho, M.H. (2008). Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling and Behavior*, 3: 156-165.
- Çakırlar, H., Topçuoğlu, Ş. F. (1985) Stres Terminolojisi. Çölleşen Dünya ve Türkiye Örneği Sempozyum 7, 13-17 Mayıs, Erzurum
- Çakmak, I., Strbac, D., and Marschner, H. 1993. Activities of hydrogen peroxide scavenging enzymes in germinating wheat seeds. *Journal of Experimental Botany*, 44(258), 127-132 p
- Çelik, S., 2001. APS ile opere edilen tavşanların kan ve karaciğer dokularındaki serbest oksijen radikalleri ve antioksidan enzim düzeylerinin tayini, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Çetin, Emine Sema. "Gamay Üzüm Çeşidine Ait Kallus Kültürlerinde Fenolik Bileşikler ile α -Tokoferol Üretiminin Artırılması: Potansiyel Bir Elisitör Olarak UV-C." *SDU Journal of the Faculty of Agriculture/SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* 7.2 (2012).
- Çetins, Emine Sema, Fatma Uzunlar, and Nilgun Göktürk Baydar. "The effects of UV-C irradiation on secondary metabolite production in *Vitis vinifera* cv. Gamay callus cultures." *GIDA/The Journal of FOOD* 36.6 (2011).
- Çınar 2005. mangan ve demir stresi uygulanmış roka (*eruca sativa*) bitkisinde bazı antioksidan enzim aktivitesindeki ve lipid peroksidasyon düzeylerindeki değişimlerin incelenmesi celal bayar üniversitesi * fenbilimleri enstitüsü.2005
- ÇİL, Elif Evşen. "Uv-C Işın Stresinin Sera Şartlarında Yetiştirilen Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Atlanta) üzerinde bazı morfolojik ve fizyolojik etkilerinin araştırılması." (2006).
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu M, Inzé, D. and Van Breusegem, F.(2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress response. *Cellular and Molecular Life Science*, 57: 779-795.
- Davies, K.J., Delsignore, M.E., 1987, Protein damage and degradation by oxygen radicals. III. Modification of secondary and tertiary structure, *Journal of Biological Chemistry*, 262 (20), 9908–9913.
- Davidson, J.F., Schiestl, R.H., 2001, Mitochondrial respiratory electron carriers are involved in oxidative stress during heat stress in *Saccharomyces cerevisiae*, *Mol. Cell Biol.*, 21, 8483-8489.
- De Capdeville, G., Wilson, C. L., Beer, S. V. and Aist, J. R., 2002. Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested 'red delicious' apple fruit, *Phytopathol.*, 92, 900–908.

- DeEll J., 2004. Symptoms of Chilling Injury in Vegetables, <http://www.omafra.gov.on.ca/english/crops/hort/news/hortmatt/2004/18hrt04a5.htm>, alındığı tarih 25.12.2010.
- del Rio, LA, Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Palma, J.M. and Barroso, J.B. 2003. Plant peroxisomes, reactive oxygen metabolism and nitric oxide. *IUBMB Life*, 55, 71-81.
- Demorrow, J. M., Henry, E. W. (1977) Substrate comparability vs. polyphenol oxidase activity in ethrel and ultraviolet-treated "little marvel" dwarf pea (*Pisum sativum*) tissue, Plant Growth Regulator Working Group's Annual Symposium, Hot National Park, Arkansas 71901 <http://www.blackwellpublishing.com> (19.10.2005)
- Desikan, R., Hancock, J., Neill, S., 2005, Reactive oxygen species as signaling molecules, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*, Publishing by Blackwell, ISBN 978-1-4051-2529-1, Oxford, 302p.
- Desikan, R., Hancock, T.J., Neill, S.J., 2004, Oxidative stress signalling, *Plant Responses to Abiotic Stress*, Published by Springer, Germany, 300p.
- Dietz, K-J., Jacob, S., Oelze, M-L., Laxa, M., Tognetti, V., Marinda, S.M.N., Baier, M., Finkemeier, I., 2006, The function of peroxiredoxins in plant organellar redox metabolism, *Journal of Experimental Botany* 57, 1697-1709.
- Dionisio-Sese, M.L. and Tobita, S., 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *J. Plant Sci.*, 135:1-9.
- Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., 2002. Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) root mitochondria. *Plant Cell and Environment* 25, 687-690.
- Domisch, T., Finér, L., Lehto, T., 2002, Growth, carbohydrate and nutrient allocation of Scots pine seedlings after exposure to simulated low soil temperature in spring, *Plant Soil*, 246, 75-86.
- Dong, Y. H., Mitra, D., Kootstra, A., Lister, C. and Lancaster, J., 1995. Postharvest stimulation of skin color in Royal gala apple, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 120, 95-100
- Edreva, A. 1998. Stress physiology, definitions and concepts of stress. classifications of stress factors, approaches applied in stress research. *Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu*, 22-26 Haziran, Etiltem, Bornova, İzmir.
- Edreva, A., 1998. Molecular Bases of Stress in Plants, *Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri. EİLTEM*, 22-26 Haziran, Bornova, İzmir, s: 1- 33
- Ekmekçi, Y. and Terzioğlu, S., 2005, Effect of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats, *Pesticide Biochemistry and Physiology* 83, 69-81
- Esim, N., 2011. Nitrik oksitin mısırdaki (*Zea mays*) düşük sıcaklık stres toleransı üzerine etkisi. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ewart, K.V., Lin Q. and Hew C.L., 1999. Structures function and evolution antifreeze proteins. *CMLS*, (55), 271 -283.
- Fedina, I.S., Nedeva, D., Çiçek, N., 2009, Pre-treatment with H₂O₂ induces salt tolerance in barley seedlings, *Biologia plantarum* 53 (2), 321-324.
- Fenton, H. J. H., 1894, Oxidation of tartaric acid in presence of iron, *J. Chem. Soc.*, 65, 899-911

- Flohe, L. and Ötting, F., 1998. SOD assays, *Methods in Enzymology*, 105, 93-101.
- Foyer, C. and Noctor, G., 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context, *Plant, Cell and Environment* 28, 1056-1071.
- Foyer, C.H., Lelandais, M., Kunert, K.J., 1994b. Photooxidative stress in plants, *Physiol Plant*, 92, 696–717.
- Foyer, C.H., Lelandais, M., Edwards, E.A. and Mullineaux, P.M., 1991. The role of ascorbate in plants, interactions with photosynthesis and regulatory significance. In E. Pell and K. Steffen (ed). *Active oxygen/oxidative stress and plant metabolism*. Am. Soc. PlantPhysiol., Rockville, MD., 131-144.
- Foyer, C.H., Vanacker, H., Gomez, L.D., Harbinson, J., 2002, Regulation of photosynthesis and antioxidant metabolism in maize leaves at optimal and chilling temperatures:review, *Plant Physiol. Biochem.*, 40, 659-668.
- França, MB., Panek, A.D. and Eleutherio, E.C.A. 2006. Oxidative stress and its effects during dehydration. *Comp. Biochem. Phys.*, In Press.
- Fridovich, J. 1986. Biochemical effects of the Superoxide radicals. *Arch. Biochem. Biophys.*, 247, 1-11.
- Gaeta, L.M., Tozzi, G., Pastore, A., Federici, G. and Piemonte, F., 2002. Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subject, *Clinica Chimica Acta*, 322, 117-120.
- Galvez-Valdivieso, G. and Mullineaux, P.M., 2010, The role of reactive oxygen species in signalling from chloroplasts to the nucleus, *Physiologia Plantarum* 138, 430-439.
- Garrison, W.M., Jayko, M.E., Bennett, W., 1962, Radiation-induced oxidation of protein in aqueous solution, *Radiation Research*, 16, 483–502.
- Gaspar, T., Franck, T., Bisbis, B., Kevers, C., Joune, L., Hausman, J. F. , Dommes, J., *Concepts in Plant Stress Physiology. Application to Plant Tissue Cultures, Plant Growth Regulation*, 37, 263 – 285, 2002
- Gaspar, T., Penel, C., Hagege, D., Greppin, H., 1991. Peroxidases in Plant Growth Differentiation and Development Processes. Univ. M. Curie-Sklodowska, Lublin, Poland and Univ., Geneva, Switzerland.
- Gechev, T., Gadjiev, I., Van Breusegem F., Inze, D., Dukiandjiev, S. ve Toneva, V. vd., 2002, Hydrogen Peroxide Protects Tobacco from Oxidative Stress by Inducing a Set of Antioxidant Enzymes, *Cell Mol Life Sci.*, 59, 708–714.
- Gill S.S., Tuteja N. (2010), “Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants,” *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
- Gong, M., Chen, B., Li Z.G. and Guo, L.H. (2001). Heat-shock-induced cross adaptation to heat, chilling, drought and salt stress in maize seedlings and involvement of H₂O₂. *Journal of Plant Physiology*, 158: 1125-1130.
- Gossett, D.R., Millhollon, E.P., Lucas, M.C., 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci.*, 34: 706-714.
- Goulas, E., Schubert, M., Kieselbach, T., Kleczkowski, I.A., Gardeström, P., Wolfgang, S., Hurry, V., 2006, The chloroplast lumen and stromal proteomes of *Arabidopsis thaliana* show differential sensitivity to short and long-term exposure to low temperature, *Plant J.*, 47, 720-734.

- Gökbayrak, Z., C. Özer, and G. Söylemezoğlu. "Use of morphological markers to identify foliar disease resistance in grapevine." *J. Anim. Plant Sci* 20.4 (2010): 243-247.
- Green, R. and Fluhr, R., 1995. UV-B induced PR-1 accumulation is mediated by active oxygen species, *Plant Cell.*, 2, 203–212.
- Greene, R., 2002, Oxidative stress and acclimation mechanisms in plants, American Society of Plant Biologists, DOI: 10.1199/tab.0036.1.
- Griffith, M., Antikainen M., Hon W.C., Pihakaski-Maunsbach K., Yu X.-M., Chun J.U., Yang D.S.C., 1997. Antifreeze proteins in winter rye. *Physiologia Plantarum*, (100), 327–332.
- Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G. and Siest, G., 1991. Biological variability of superoxide-dismutase, glutathione-peroxidase, and catalase in blood, *Clinical Chemistry*, 37, 1932-1937.
- Guetadahan, Y., Yaniv, Z., Zlinslas, B. A. and BenHayyim, G., 1997, Salt oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus. *Planta*, 203: 460-469
- Guo, B., Liang, Y.C., Li, Z.J. and Guo, W. (2007a). Role of salicylic acid in alleviating cadmium toxicity in rice roots. *Journal of Plant Nutrition*, 30: 427-439. Guo, B., Liang, Y.C., Zhu, Y.G. and Zhao, F.J. (2007b). Role of salicylic acid in alleviating oxidative damage in rice roots (*Oryza sativa*) subjected to cadmium stress. *Environmental Pollution*, 147: 743-49.
- Gürel, A. ve Avcıoğlu, R., 2001. Bitkilerde Strese Dayanıklılık Fizyolojisi. Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. Bitki Biyoteknolojisi II – Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. (Bölüm 21). 288–325.
- Haber, F. and Weiss, J., 1934, Haber-Weiss reaction, *Proc. R. Soc. London A* 147, 332-351.
- Hale, M.G., Orcutt D.M. 1987. *The Physiology of Plants Under Stress*, 206 pp.
- Halliwell, B., Oxidative damage, Lipid Peroxidation, Antioxidant Protection in Chloroplasts, *Chem. Phys. Lipids* 44, 327–340, 1987.
- Halliwell B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr*, 16: 33-50
- Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. 1989. *Free radicals in biology and medicine*, Oxford, clarendon Press. 86-123 p.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C. (1984b). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metal and disease. *Biochem J.*, 219, 1-14.
- Halliwell, B., (1991). Reactive oxygen species in living system source, biochemistry and role in human disease. *American J. Med.*, 91, 145-225.
- Handelman, G.J., Nightingale, Z.D., Dolnikowski, G.G., Blumberg, J.B., 1998, Formation of carbonyls during attack on insulin by submolar amounts of hypochlorite, *Analytical biochemistry*, 258 (2), 339–348.
- Hansen, J.M., Go, Y.M. and Jones, D.P. 2006. Nuclear and mitochondrial compartmentation of oxidative stress and redox signaling. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 46, 215-234
- Harman D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, 11: 298-300.

- Harper, D.B. and Harvey, B.M.R., 1987. Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass II. Role of superoxide dismutase, catalase and peroxidase. *Plant cell environ.*, 1:211-215
- Hartley, D.P., Kroll, D.J., Petersen, D.R., 1997, Prooxidant-initiated lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes: Detection of 4-hydroxynonenal- and malondialdehyde- protein adducts, *Chemical Research in Toxicology*, 10 (8), 895–905.
- Hegedüs, A., Erdei, S., Horvath, G., Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress, *Plant Sci.*, 160, 1085-1093, 2000.
- Henle, E.S. and Linn, S., 1997, Formation, prevention and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide, *American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 272, 19095-19098.
- Hogewoning, S.W. and Harbinson, J., 2007, Insights on the development, kinetics, and variation of photoinhibition using chlorophyll fluorescence imaging of a chilled, variegated leaf, *J. Exp. Bot.*, 58, 453-463.
- Hossain, M., Nakano, K. and Asada, K., 1984. Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplast and its participation in the regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide. *Plant cell Physiol.*, 61:385-395.
- Hsu, Y.T. and Kao, C.H. (2007). Toxicity in leaves of rice exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. *Plant and Soil*, 298: 231-241.
- Hu, W.H., Shi, K., Song, X.S., Xia, X.J., Zhou, Y.H., Yu, J.Q., 2006, Different effects of chilling on respiration in leaves and roots of cucumber (*Cucumis sativus*), *Plant Physiol. Biochem.*, 44, 837-843.
- Hu, Y., Ge, Y., Zhang, Z., Ju, T. and Cheng, W. (2009). Cadmium toxicity and translocation in rice seedlings are reduced by hydrogen peroxide pretreatment. *Plant Growth Regulation*, 59: 51-61.
- Huang, M. and Guo, Z., 2005, Responses of antioxidative system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity, *Biol. Plantarum*, 49, 81-84.
- Hull, M.R., Long, S.P., Jahnke, L.S., 1997, Instantaneous and developmental effects of low temperature on the catalytic properties of antioxidant enzymes in two *Zea* species, *Aust. J. Plant Physiol.*, 24, 337-343.
- Huner, N. P. A., Oquist, G., Sarhan, F., Energy Balance, Acclimation to Light, Cold, *Trends in Plant Science*, 3 (6): 224 – 230, 1998
- Imlay, J.A. 2003. Pathways of oxidative damage. *Annu. Rev. Microbiol.*, 57, 395-418.
- Jamei, R., Heidari, R., Khara, J., Zare, S., 2009, Hypoxia Induced changes in the lipid peroxidation, membrane permeability, reactive oxygen species generation, and antioxidative response systems in *Zea mays* leaves, *Turk. J. Biol.* 33, 45-52
- Jarillo, J.A., Capel J., Leyva A., Martinez-Zapater J.M., Salinas J., 1994. Two related low temperature- inducible genes of *Arabidopsis* encode proteins showing high homology to 14-3-3 proteins, a family of putative kinase regulators. *Plant Mol. Biol.* 25, 693-704.
- Jaspers, P. and Kangasjärvi, J., 2010, Reactive oxygen species in abiotic stress signaling, *Physiologia Plantarum* 138, 405-413.
- Jayatilake, A., Shaw, S., 1998, Stimulation of monocyte interleukin-8 by lipid peroxidation products: a mechanism for alcohol-induced liver injury. *Alcohol*, 16 (2), 19–23.

- Jiang, M., and Zhang, J., 2003, Cross-talk between calcium and reactive oxygen species originated from NADPH oxidase in abscisic acid-induced antioxidant defence in leaves of maize seedlings, *Plant Cell Environ.*, 26:929-939 pp.
- Johnson, S.M., Doherty, S.J. and Croy, R.R.D. 2003. Biphasic superoxide generation in potato tubers. a self amplifying response to stress. *Plant Physiol.*, 13, 1440-1449.
- Jones, H.G. 1990. Physiological aspects of the control of water status in horticultural crops. *HortScience*, 25: 19-26
- Jones, R.A., Qualset, C.O., Breeding Crops for Environmental Stress Tolerance, In: Collins, G.B., Petolino, J.G. (Eds.), *Application of Genetic Engineering to Crop Improvement* Dordrecht, Netherlands, Nijhoff/Junk, , pp.305-340, 1984.
- Jung, S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Sci.*, 166, 459-466.
- Jung, S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Sci.*, 166, 459-466.
- Kacar, B., Katkat, A.V., Öztürk Ş., *Bitki Fizyolojisi*, Nobel, 493 – 544, Ankara, 2006.
- Kader, A.A., 1992. Postharvest Biology and Technology: An overview. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. Cooperative Extension, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Special Publication, 3311, p: 3-7
- Kadioğlu, A., *Bitki Fizyolojisi*, Esen Ofset Matbaacılık, 406 – 426, Trabzon, 2007.
- Kadioğlu, Asim, and Rabiye Turgut. "Some biochemical changes during leaf rolling in *Ctenanthe setosa* (Marantaceae)." *Acta physiologiae plantarum* 21.3 (1999): 209-214.
- Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y. 2005. Bitkilerde kuraklık stresinin etkileri ve dayanıklılık mekanizmaları. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 18(4): 723-740.
- Kalefetolu, T. ve Ekmekçi, Y., 2005, The effects on drought on plants and tolerance mechanisms, *Gazi University Journal of Science*, 18: 723-740.
- Karasahin, I., Pekmezci M. and Erkan M., 2005. Combined Hot Water And UV-C Treatments Reduces Postharvest Decay And Maintains Quality Of Eggplants, *Information and Technology for Sustainable Fruit and Vegetable Production FRUTIC 05*, 12 - 16 September 2005, Montpellier France.
- Karpinski, S., Reynolds, H., Karpinska, B., Wingsle, G., Creissen, G. ve Mullineaux, P., 1999. Systematic Signaling and Acclimation in Response to Excess Excitation Energy in *Arabidopsis*, *Science*, 284, 654–657.
- Kasım MU, Kasım R, (2007). Sebze ve Meyvelerde Hasat Sonrası Kayıpların Önlenmesinde Alternatif Bir Uygulama: UV-C. *A.Ü. Tarım Bilimleri Dergisi*, 13(4), 413-419.
- Keiller, D.R., Mackerness, S. A., Holmes, M. G., The action of a range of supplementary ultraviolet (UV) wavelengths on photosynthesis in *Brassica napus* L. in the natural environment: effects on PS II, CO₂ assimilation and level of chloroplast proteins, *Photosynthesis Research*, 75, 139-150, 2003.
- Kılınç, M. , Kutbay, H. G. (2004) *Bitki Ekolojisi*, Palme Yayıncılık, Ankara, s333- 372.
- Kırbağ Zengin, F. ve Munzuroğlu, Ö., 2003. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.) Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Kadmiyum (Cd⁺⁺) ve Civa (Hg⁺⁺)'nın Etkileri, *Fen Bilimleri Dergisi*, 24, 1, 64-75
- Kocaçalışkan, İ., 2004. *Bitki Fizyolojisi*. Kütahya.

- Koch OR, Pani G, Borrello S, Colavitti R, Cravero A, Farre S, Galeotti T. (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses in ethanol-induced cell injury. *Mol Aspects Med*, 25: 191-198.
- Koç E., Üstün A.S. (2008), "Patojenlere karşı bitki savunma ve antioksidanlar," Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 24, (1-2): 82-100.
- Korbashi, P., Kohen, R., Katzhendler, J., Chevion, M., 1986, Iron mediates paraquat toxicity in *Escherichia coli*, *Journal of Biological Chemistry*, 261 (27), 12472–12476.
- Kratsch, H.A. and Wise, R.R., 2000, The ultrastructure of chilling stress, *Plant Cell Environ.*, 23, 337-350.
- Kuk, I.Y., Sin, J.S., Burgos, N.R., Hwang, T.E., Han, O., Cho., B.H., Jung, S., Guh, J.O., 2003, Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants, *Crop Sci.*, 43, 2109-2117
- Larcher, W. (1995) *Physiological Plant Ecology, Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*, Springer-Verlag, Berlin, 385s
- Lawlor, D. W., and G. Cornic. "Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants." *Plant, Cell & Environment* 25.2 (2002): 275-294.
- Lay, P., Eullaffroy, P., Juneau, P., Popovic, R., Evidence of chlorophyll synthesis pathway alteration in desiccated barley leaves, *Plant Cell Physiology*, 41 (5), 565-570, 2000.
- Lehnert, S., 2007, *Biomolecular action of ionizing radiation*, Taylor & Francis Group, USA, New York, 978-0-7503-0824-3
- AW, T.Y., 1998, Determinants of intestinal detoxification of lipid hydroperoxides, *Free Radical Research*, 28 (6), 637–646.
- Leja, M., Mareczek A., Ben J., 2003. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. *Food Chem.* (80), 303-307.
- Leng, P., Itamura, H., Yamamura, H., Deng, X.M., 2000, Anthocyanin accumulation in apple and peach shoots during cold acclimation, *Scientia Horticulturae*, 83, 43-50.
- Levine, A., Tenhaken, R., Dixon, R. and Lamb, C. (1994). H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 79: 583- 593.
- Levitt, J. 1980. *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press, 497 pp.
- Lewitt, J., 1972. *Responses of Plants to Environmental Stresses*, Academic Press, New York.
- Lichtenthaler, H., K., *The Stress Concept in Plants: An Introduction*, *Ann. NY Acad. Sci.* 851, 187 – 198, 1998
- Lichtenthaler, H.K., 1998, The stress concept in plants: An introduction, *Annals of The New York of Sciences*, 851, 187 – 198.
- Linton, S., Davies, M.J., Dean, R.T., 2001, Protein oxidation and ageing, *Experimental Gerontology*, 36 (9), 1503–1518.
- Lichtenthaler, H. K. (1996) *Vegetation stress: An introduction to the stress concepts in plants*, *J. Plant Physiology*, 148.

- Liebler, D.C., Kling, D.S. and Reed, D.J. 1986. Antioxidant protection of phospholipid bilayers by α -tocopherol. Control of α -tocopherol status and lipid peroxidation by ascorbic acid and glutathione. *J. Biol. Chem.* 261, 12114-12119.
- Lima, A.L.S., DaMatta, F.M., Pinheiro, H.A., Totola, M.R. and Loureiro, M.E. 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environ. Exp. Bot.*, 47, 239-247.
- Liu, J., Stevens, C., Khan, V.A., Lu, J.Y., Wilson, C.L., Adeyeye, O., Kabwe, M.K, Pusey, P.L., Chalutz, E., Sultana, T. and Droby, S., 1993. Application of Ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes, *J. Food Prot.*, 56, 868-872.
- Lopez, F., Vansuyt, G., Casse - Delbart, F., Fourcroy, P. 1996. Ascorbate peroxidase activity not the mRNA level, is enhanced in salt stressed *Raphanus sativus* plants *Physiologia Plantarum* 97, 13-20 pp.
- Lundmark, M., Cavaco, A.M., Trevanion, S., Hurry, V., 2006, Carbon partitioning and export in transgenic *Arabidopsis thaliana* with altered capacity for sucrose synthesis grown at low temperature: a role for metabolite transporters, *Plant Cell Environ.*, 29, 1703-1714.
- Madlung, A., Comai, L., The Effect of Stress on Genom Regulation , Structure, *Annals of Botany*, 94, 481 – 495, 2004
- Mahajan, S. And Tuteja, N., 2005, Cold, salinity and drought stresses: An overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444, 139-158.
- Mahajan, S., Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139–158.
- Maneerat C., Hayata Y., Muto N. and Kuroyanagi M., 2003. Investigation of UV-A Light Irradiation on Tomato Fruit Injury during Storage, *J. Food Protec.*, 66, 11, 2168-2170.
- Martz, F., Kiviniemi, S., Palva, T.E., Sutinen, M.L., 2006, Contribution of omega-3fatty acid desaturase and 3-ketoacyl-ACP synthase II (KASII) genes in the modulation of glycerolipid fatty acid composition during cold acclimation in birch leaves, *J. Exp. Bot.*, 57, 4, 897-909.
- Mates, J.M., Gomez, C., and De Castro, I.N., 1999, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clinical Biochemistry*, 32, 595-603
- McCord, J.M., 1985. Mechanism of disease, *The New England Journal of Medicine*, 312,159-163.
- McKersie, B.D. and Leshem, Y. 1994. Stress and stress coping in cultivated plants. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi, *YYÜ Vet. Fak. Derg.*,15(1-2), 91-96.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K.J. (2003). Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiology*, 132: 272-281.
- Mittler, M., 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends Plant Science*, 7(9) 405-410.
- Mittler, R., 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends in Plant Science* 7, 405-410
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Breusegem, F.V., 2004, Reactive oxygen gene network of Plants, *Trends in Plant Science* 9(10), 490-498.

- Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G. and Therios, I. 2006. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh). *Environ. Exp. Bot.*, 56, 54-62.
- Mong, L.S. and Davies, H.V., 1989. Antioxidant status of the potato tuber and Ca deficiency as a Physiological stres. *Physiol. Plant.*, 75: 411-416.
- Morsy, M.R., Jouve, L., Hausman, J-F., Hoffmann, L., Stewart, J.McD., 2007, Alteration of oxidative and carbohydrate matabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance, *J. Plant Physiol.*, 164, 157-167
- Muray, R.K., Mayes, P.A, Grancer, D.K. and Rodwell, V.W., 1993. Harper'ın Biyokimyası. Barış kitapevi, İstanbul, 832-835.
- Mutlu, S., 2009. Salisilik asitin arpada(*Hordeum vulgare* L.) soğuk Toleransını sağlama ve apoplastik ve simplastik Proteinler üzerine etkileri nin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Nayyar, H. and Gupta, D. 2006. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress. Association with oxidative stress and antioxidants. *Environ. Exp.Bot.*, In Press.
- Nayyar, H., Bains, T.S., Kumar, S., 2005a, Chilling stressed chickpea: effect of cold acclimation, calcium and abscisic acid on cryoprotective solutes and oxidative damage, *Environ. Exp. Bot.*, 54, 275-285.
- Neill, S., Desikan, R. and Hancock, J. (2002). Hydrogen peroxide signaling, *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 388-395
- Neill, S.J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R.D., Hancock, J.T., 2002, Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants, *Journal of Experimental Botany* 53, 1237-1247.
- Nıkı, E., Antioxidants in Relation to Lipid Peroxidation. *Chem. Phys. Lipids.*, 44: 227 – 253, 1987
- Oliver, C.N., 1987, Inactivation of enzymes and oxidative modification of proteins bystimulated neutrophils, *Archives of Biochemistry & Biophysics*, 253 (1), 62–72. HU, M.L., TAPPEL, A.L., 1992, Potentiation of oxidative damage to proteins by ultraviolet- A and protection by antioxidants, *Photochemistry Photobiology*, 56 (3),357–363.
- Ono, M., Sekiya, C., Ohhira, M., Namıkı, M., Endo, Y., Suzuki, K., Matsuda, Y. And Taniguchi N., 1991, Elevated level of serum Mn-SOD in patients with primary biliary cirrhosis: possible involvement of free radicals in the pathogenesis in primary biliary cirrhosis, *J. Lab. Clin. Med.*, 118, 477-483.
- Onsa, G.H., Saari, N., Selamat, J., Bakar, J., 2004. Purification and characterization of membrane bound peroxidases from *Metroxylon sagu*. *Food Chemistry*, 85, 365– 376
- Özdamar, Fahriye Öcal, *et al.* "Hidrojen Peroksit ve Nitrik Oksit İlişkisinin Bitkilerde Abiyotik Stres Toleransındaki Rolü." *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi* 25.1 (2016).
- Palmer, H.J., Paulson, K.E., 1997, Reactive oxygen species and antioxidants in signal transduction and gene expression, *Nutrition Reviews* 55, 353-361.
- Parida, A. K., Das, A. B., 2004, Salt tolerance and salinity effects on plants: a review, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60, 324-349.

- Parvaiz, A., Satyawati, S., 2008, Salt stress and phyto-biochemical responses of plants – a review, *Plant Soil Environ.*, 54, (3): 89-99.
- Pearce, R.S., 1999, Molecular analysis of acclimation to cold, *Plant Growth Regul.*, 29, 47-76.
- Pereira, M.D., Herdeiro, R.S, Fernandes, P.N., Eleutherio, E.C.A. and Panek, A.D. 2003. Targets of oxidative stress in yeast sod mutants. *Biochim. Biophys. Acta*, 1620, 245-251.
- Pérez, C.P., Ulrichs, C., Huyskens-Keil, S., Schreiner, M., Krumbein, A., Schwarz, D. and Kläring, H.-P., 2009. Composition of carotenoids in tomato fruits as affected by moderate UV-B radiation, *ISHS Acta Horticulturae* 821: International Symposium on Tomato in the Tropics, 217-222.
- Pinheiro, H.A., DaMatta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B. and Loureiro, M.E. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science* 167, 1307-1314.
- Polidoros, A.N. and Scandalios, J.G. (1999). Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). *Physiologia Plantarum*, 106: 112-120.
- Polle, A., Chakrabarti, K., Chakrabarti, S., Seifert, F., Schramel, P. And Reeneberg, P., 1992. Antioxidants and manganese deficiency in needles of Nor Way Spruce (*Picea abies* L.) trees. *Plant Physiol.*, 99: 1084-1089.
- Posmyk, M.M., Bailly, C., Szafrńska, K., Janas, K.M., Corbineau, F., 2005, Antioxidant enzymes and isoflavonoids in chilled soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seedlings, *J. Plant Physiol.*, 162, 403-412.
- Prasad, T.K., 1997, Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings, *Plant Physiol.*, 114, 1369-1376.
- Prasad, T.K., Anderson, M.D., Martin, B.A., Stewart, C.R. (1994). Evidence for chilling induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell*, 6: 65-74
- Provart, N.J., Gil, P., Chen, W., Han, B., Chang, H.S., Wang, X., Zhu, T., 2003, Gene expression phenotypes of *Arabidopsis* associated with sensitivity to low temperatures, *Plant Physiol.*, 132, 893-906.
- Rab, A. and Saltveit, M.E., 1996, Differential chilling sensitivity in cucumber (*Cucumis sativus*) seedlings, *Physiol. Plantarum*, 96, 375-382.
- Raison, J.K. and Orr, G.R., 1990. Ch.9: Proposal for a better understanding of the molecular basis of chilling injury, in *Chilling Injury of Horticultural Crops*, p.145-164, Ed. C.Y Wang, CRC Press.
- Rascio, A., Platani, C, Scalfati, G., Tonti, A. and Fonzo, N. 1994. The accumulation of solutes and water binding strenght in durum wheat. *Physiologia Plantarum*, 90, 715-721 p.
- Raychaudhuri, S. S. 2000. The role of superoxide dismutase in combating oxidative stress in higher plants. *Bot. Rev.*, 66(1), 89-98.
- Raychaudhuri, S. S. 2000. The role of superoxide dismutase in combating oxidative stress in higher plants. *Bot. Rev.*, 66(1), 89-98.

- Renard, M. and Guerrier, G. 1997. Is proline a compatible solute in cali from NaCl - sensitive *Lycopersicon esculentum* and NaCl - tolerant *L. pennellii* Plant Physiol. Vol. 150. 331-337 pp.
- Robinson F.E., Maxwell, S.R.J., Thorpe, G.H.G. 1987. An investigation of the antioxidant activity of black tea using enhanced chemiluminescence . Free Radical Research, 26, 291-302.
- Rodriguez-Rosales, M.P., Kerkeb, L., Bueno, P. And Donaire, J.P., 1999. Changes induced by NaCl in lipid content and composition, lipoxigenase, plasma membrane H⁺-ATPase and antioxidant enzyme activities of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) cali. Plant Sci., 143: 143-150.
- Rymen, B., Fiorani, F., Kartal, F., Vandepoele, K., Inzé, D., Beemster, G.T.S., 2007, Cold nights impair leaf growth and cell cycle progression in maize through transcriptional changes of cell cycle genes, Plant Physiol., 143, 1429-1438.
- Sairam, R.K. and Saxena, D.C. 2000. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes, Possible Mechanism of Water Stress Tolerance. J. Agronomy and Crop Sci. 184, 55-61
- Salisbury, F.B. and Ross C.W., 1992. Plant Physiol. Wadsworth Publishing Company. California, USA, Pp. 682
- Salter, A. H. , Koivuniemi, A. & Strid, A. (1997) UV-B and UV-C irradiation of spinach PSII preparation in vitro. Identification of different fragments of the D1 protein depending upon irradiation wavelength, Plant Physiology and Biochemistry, 809-817.
- Saltveit, M.E. and Morris, L.L., 1990, Overview of chilling injury in horticultural crops, Chilling Injury of Horticultural Crops, C.Y. Wang (eds), CRC Press, Boca Raton, FL., pp. 3-15.
- Sankarapandi, S. and Zweier, J.L., 1999, Evidence against the generation of free hydroxyl radicals from the interaction of copper, zinc-SOD and hydrogen peroxide, J. Biol. Chem, 274, 34576-34583.
- Scandalios, J.G., The Rise of ROS, Trends in Biochemical Sciences, 27:9, 483 – 486, 2002
- Scandalios, J.G., 2005, Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses, Braz J Med Biol Res., 38(7):995-1014 pp
- Scebba, F., Sebastiani, L., Vitagliano, C., 1998, Changes in activity of antioxidative enzymes in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under cold acclimation, Physiol. Plantarum, 104, 747-752.
- Scebba, F., Sebastiani, L., Vitagliano, C., 1999, Protective enzymes against activated oxygen species in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings: Responses to cold acclimation, J. Plant Physiol., 155, 762-768.
- Seçkin, B. 2005. Mannitolün tuz stresine maruz b ırakılan buğday fidelerinin antioksidant enzim düzeyleri üzerindeki etkilerinin araştırılması, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir
- Shacter, E., 2000, Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. Drug Metabolism Reviews, 32 (3), 307-326.
- Shao, H-B., Chu, L-Y., Jaleel, C.A., Zhao, C-X., 2008, Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants, C. R. Biologies 331, 215-225.

- Sherwin, H.W. and Farrant J.M. 1998. Protection mechanisms against excess light in the resurrection plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerophyta viscosa*. *Plant Growth Regul.*, 24, 202-210.
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. And Yoshimura, K. (2002). Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1305-1319.
- Sivritepe, H. O., and A. M. Dourado. "The effect of priming treatments on the viability and accumulation of chromosomal damage in aged pea seeds." *Annals of Botany* 75.2 (1995): 165-171.
- Sivritepe, N. 1995. Asmalarda tuza dayanıklı ılık testleri ve tuza dayanımda etkili bazı faktörler üzerinde araştırmalar. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, (doktora tezi), Bursa, 176s.
- Skog, L., 1998. Chilling Injury of Horticultural Crops, Factsheet, Horticultural Research Institute of Ontario/University of Guelph
- Smirnoff, N., 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, *New Phytol*, 125, 27-58.
- Smirnoff, N., 2005, Antioxidants and reactive oxygen species in plants, Blackwell Publishing, UK, Garsington Road, Oxford, 978-1-4051-2529-1
- Smith, J. , Burritt, D. , Bannister, P. (2000) Ultraviolet-B radiation leads to a reduction in free polyamines in *Phaseolus vulgaris* L., Botany Department, Otago University, PO Box 56, Dunedin, New Zealand. <http://www.blackwellpublishing.com> (09.10.2005)
- Smith, Ronald G., and R. G. S. Bidwell. "Carbonic anhydrase-dependent inorganic carbon uptake by the red macroalga, *Chondrus crispus*." *Plant physiology* 83.4 (1987): 735-738.
- Southorn, P. ve Powis, G. (1988) Free radical in medicine. I. Chemical and Biological reactions. *Mayo Clinic Proc.*, 6, 23-30.
- Spychalla, J.P. and Desborough, S.L., 1990. Superoxide dismutase, catalase, and alpha-tocopherol content of stored potato tubers. *Plant Physiol.*, 94: 1214-1218
- Spychalla, J.P. and Desborough, S.L., 1990. Superoxide dismutase, catalase, and alpha-tocopherol content of stored potato tubers. *Plant Physiol.*, 94: 1214-1218
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. And Weschke, W., 2000. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of fox-tail millet (*Setaria italica*). *Physiol. Plant.*, 109: 435-442.
- Sreenivasulu, N., Ramanjulu, S., Ramachandra-Kini, K., Prakash, H.S., Shekar-Shetti, H., Savithri, H.S. and Sudhakar, C., 1999. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. *Plant Sci.*, 141: 1-9.
- Srivalli, B., Sharma, G. and Khanna-Chopra, R. 2003. Antioxidative defence system in upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. *Physiol. Plant.*, 119, 503-512.
- Srivalli, B., Sharma, G. and Khanna-Chopra, R. 2003. Antioxidative defence system in upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. *Physiol. Plant.*, 119, 503-512.
- Street, H.E. ve Öpik, H., 1984. *The Physiology of Flowering Plants: Their Growth and Development*, Third Edition, Baltimore.

- Sun, J., Chu, Y.F., Wu, X. and Liu, R.H., 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 7449-7454.
- Suzuki, N. and Mittler, R., 2006, Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signalling and destruction, *Physiol. Plantarum*, 126,45-51
- Swanson, S. and Gilroy, S., 2010, Ros in plant development, *Physiologia Plantarum* 138, 384-392.
- Taiz and Zeiger., 2006, *Plant physiology.*, Palme yayınevi, Ankara.
- Taiz, L., Zeiger, E. (1998) *Plant Physiology*, Sinauer Associates Inc. , Sunderland, Massachusetts, s591-623.
- Taiz, L., Zeiger, E., *Plant Physiology*, Sinauer Associates, Inc., 3th Edition, pp.602-611, 2002.
- Tal, M., 1983, Selection for stress tolerance. In “Handbook of Plant Cell Culture, Volume I” (D.E. Evans, W. R. Sharp, P.V. Ammirato, Y. Yamada eds.). Collier Macmillon Publishers, London, 461-487.
- Tambussi, E.A., Bartoli, G.G., Guamet, J.J., Beltrano, J., Araus, J.L., 2004, Oxidative stress and photodamage at low temperatures in soybean (*Glycine max* L. Merr.) leaves, *Plant Sci.*, 167, 19-26.
- Taşgın E., Atıcı Ö., Nalbantoğlu B. Popova LP. 2006. Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. *Phytochemistry*, (67), 710-715.
- Thomashow, M.F., 1999, Plant cold acclimation, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50, 571-599.
- Tirmenstem, M.A., Nelson, S.D., 1990, Acetaminophen-induced oxidation of protein thiols. Contribution of impaired thiol-metabolizing enzymes and the breakdown of adenine nucleotides, *Journal Biological Chemistry*, 265 (6), 3059–3065
- Turan, Ö., 2007. Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşit ve hatlarının soğuk stresine karşı toleransının fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ile belirlenmesi. Yüksek lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Türkan. I., Bor, M., Özdemir, F. and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Sci.*, 168, 223-231
- Uchida, A., Jagendorf, A.T., Hibino, T., Takabe, T. and Takabe, T. (2002). Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sciences*, 163: 515-523
- Uysal M. (1998). Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengesi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*, 11: 336-340.
- Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem*, 266: 37-56.
- Valliyodan, B., Nguyen, H. T., 2006, Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9: 1–7.
- Venema, J.H., Villerius, L., van Hasselt, P.R., 2000, Effect of acclimation to suboptimal temperature on chilling-induced photo damage: Comparison between a domestic and a high-altitude wild *Lycopersicon* species, *Plant Sci.*, 152, 153-163.

- Wahid, A., Perveen, M., Gelani, S. and Basra, S.M.A. (2007). Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology*, 164: 283-294.
- Wery, J., Turc, O., Lecoq, J. (1993) Mechanisms of resistance to cold, heat and drought in cool-season legumes with special reference to chickpea and pea. In: Singh KB, Saxena MC, Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes, Icarda, A Wiley-Sayce Co-Publication, New York, s145-152.
- Willekens H., Chamnongpol S., Davey M., Schraudner M., Langebartels C., Van Montagu M., Inze D. and Van Camp W., Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants, *Embo J.* 16 (1997), pp. 4806–4816.
- Wise, R.R. and Naylor, A.W., 1987. Chilling-enhanced photooxidation: Evidence for the role of singlet oxygen and endogenous antioksidant. *Plant Physiol.*, 83: 278-282.
- Wise, R.R., 1995, Chilling-enhanced photooxidation: the production, action and study of reactive oxygen species produced during chilling in the light, *Photosynth. Res.*, 45, 79-97
- Wisniewski, M., Webb, R., Balsamo, R., Close, T.J., Yu X.-M., Griffith, M., 1999. Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60:a dehydrin from peach (*Prunus persica*). *Physiol. Plant.* 105, 600-608.
- Xu, Q., Xu, X., Zhao, Y., Jiao, K., Herbert, S.J. and Hao, L. (2008). Salicylic acid, hydrogen peroxide and calcium-induced saline tolerance associated with endogenous hydrogen peroxide homeostasis in naked oat seedlings. *Plant Growth Regulation*, 54: 249-259
- Yalçın, A., 1998. Antioksidanlar, *Klinik Gelişim*, 11, 342-346.
- Yang, M-T., Chen, S-L., Lin, C-Y., Chen, Y-M., 2005a, Chilling stress suppresses chloroplast development and nuclear gene expression in leaves of mung bean seedlings, *Planta*, 221, 374-385.
- Yang, S.J., Hosokawa M., Mizuta Y., Yun J.G., Mano J., Yazawa S., 2001. Antioxidant capacity is correlated with susceptibility to leaf spot caused by a rapid temperature drop in *Saintpaulia* (African violet). *Sci. Hort.*, 88, 59-69.
- Ye, Z., Rodriguez, R., Tran, A., Hoang, H., Los Santos, D. D., Brown, S. and Vellano, W. 2000. The developmental transition to flowering represses ascorbate peroxidase activity and induces enzymatic lipid peroxidation in leaf tissue in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci.*, 158, 115-127.
- Yong, T., Zongsuo, L., Hongbo, S. and Feng, D. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and more gulation among three different genotypes of *Radix astragali* at seeding stage. *Colloid. Surface. B.*, 49, 59-64.
- Yu, C., Cai, Q., Guo, Z., Yang, Z. and Khoo, S.B. (2003). Speciation analysis of tellurium by solid-phase extraction in the presence of ammonium pyrrolidine dithiocarbamate and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 376: 234-242.
- Yu, C-W., Murphy, T., Sung, W-W. ve Lin, C-H., 2002. H₂O₂ Treatment Induces Glutathione Accumulation and Chilling Tolerance in Mung Bean, *Funct. Plant Biol.*, 29, 1081–1087.

- Yu, X.M., Griffith M., 2001. Winter rye antifreeze activity increases in response to cold and drought, but not abscisic acid. *Physiologia Plantarum*, (112), 78–86.
- Zhao, L., Zhang, F., Guo, J., Yang, Y., LI, B. and Zhang, L., 2004. Nitric Oxide Functions as a Signal in Salt Resistance in the Calluses from Two Ecotypes of Reed, *Plant Physiology*, 134:849-857. s146



ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini burada tamamladı. 2004 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2008 yılında mezun oldu. Aynı yıl başladığı Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir

