



DE-ETİYOLE FASULYE FİDELERİNDE YAĞ ASİDİ

İÇERİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

HAYATİ DEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK

Haziran - 2016

Her hakkı saklıdır

**T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DE-ETİYOLE FASULYE FİDELERİNDE YAĞASIDI İÇERİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

HAYATİ DEMİR

TOKAT
Haziran - 2016

Her hakkı saklıdır

Hayati DEMİR tarafından hazırlanan “De-etiyole fasulye fidelerinde yağ asidi içeriğinin araştırılması” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 3 ŞUBAT 2012 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği / Oy Çokluğu İle Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK



Üye
Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ



Üye
Doc. Dr. İbrahim TÜRKEKUL



Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ONAY



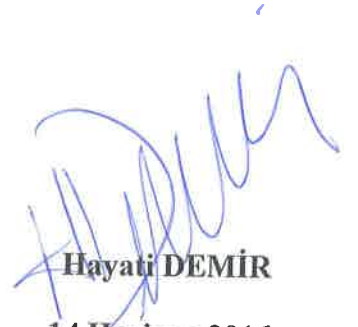
Prof. Dr. Mehmet Ali SAKİN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

15/06/2016

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdığı yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



Hayati DEMİR
14 Haziran 2016

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DE-ETİYOLE FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) FİDELERİNDE YAĞ ASİTİ İÇERİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

HAYATİ DEMİR

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. LOKMAN ÖZTÜRK)

Bu çalışmada, karanlık ortamda çimlendirilerek büyütülen fasulye fidelerine yedi gün ışık verilerek hasat edilmiştir. De-etiyole fasulye fidelerinin yaprak ve köklerinde yağ asidi içeriği, hidrojen peroksit miktarı ve lipid peroksidasyonu araştırılmıştır. Fasulye fidelerinin yaprak ve köklerinin lipid bileşimi, hidrojen peroksit miktarı ve lipid peroksidasyonu farklılık göstermiştir. Yapraklarda doymamış yağ asidi miktarı köklerden daha fazla olduğu görülmüştür. Yaprakların hidrojen peroksit içeriği ve lipid peroksidasyonu köklerden daha fazladır. Işığın etkisiyle yapraklarda hidrojen peroksit ve lipid peroksidasyonu azalmıştır. Karanlık-ışık geçişlerinde yapraklarda lipid peroksidasyonunun azalması çoklu doymamış yağ asit miktarındaki azalma ve antioksidan enzim ve bileşiklerin sentezlerinde meydana gelen artış etkili olabilir.

2016, 36 sayfa

ANAHTAR KELİMELE:De-etiolasyon,fasulye,hidrojen peroksit,yağ asiti, lipid peroksidasyonu

ABSTRACT

MASTER THESIS

INVESTIGATION OF FATTY ACID COMPOSITION IN DE-ETIOLATED SEEDLINGS OF BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

HAYATİ DEMİR

**GAZİOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

DEPARTMENT OF BIOLOGY

(SUPERVISOR:)PROF.DR. LOKMAN ÖZTÜRK

In this study, bean seedlings germinated and grown in the darkness were harvested by giving light for seven days. Fatty acid composition, hydrogen peroxide content and lipid peroxidation in the leaves and roots of de-etiolated seedlings was investigated. Lipid composition of bean seedling leaves and roots, the amount of hydrogen peroxide and lipid peroxidation have varied. The amount of unsaturated fatty acids was higher in leaves than in roots. Hydrogen peroxide content and lipid peroxidation of the leaves is more than roots. Reduction in lipid peroxidation of leaves in the dark-light transition can be affected by the decrease of the amount of polyunsaturated fatty acids and the increase in the synthesis of antioxidant enzymes and compounds.

2016, 36 pages

KEYWORDS: Bean, de-etiolation, fatty acid, hydrogen peroxide, lipid peroxidation

ÖNSÖZ

Tez konusunun seçiminde ve bütün çalışmalarında her zaman yanımda olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Lokman ÖZTÜRK'e, Labratuar çalışmalarında yardımını esirgemeyen kıymetli arkadaşım Dr. Dursun KISA beye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmam da her zaman manevi desteğini ve yardımını esirgemeyen Fenbilgisi Öğretmeni olan eşim Zeliha DEMİR'e de teşekkürlerimi sunarım.

Hayati DEMİR

14 Haziran 2016

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
ÇİZELGE LİSTESİ	vi
1.GİRİŞ	
2.KAYNAK ÖZETLERİ	6
3.MATERYAL VE YÖNTEM	22
4.BULGULAR	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	31
6.KAYNAKLAR	33
8.ÖZGEÇMİŞ	36

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Fitokrom aracılı fizyolojik cevaplarda sinyal iletimi.....	3
Şekil 1.2. De-etiyole fasulye fideleri(7 gün karanlık+ 7 gün ışık).....	5
Şekil 1.3. Etiyole fasulye fideleri(14 gün karanlık).....	5
Şekil 2.1. Kısa gün ve uzun gün bitkilerinde çiçeklenme üzerine ışığın etki.....	8
Şekil 2.2. Bitki hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin oluştuğu kaynaklar.....	12
Şekil 2.3. Antioksidan ile serbest radikallerin etkisinin uzaklaştırılması.....	18
Şekil 4.1. Malondialdehit miktarı sonuçları.....	27
Şekil 4.2. H ₂ O ₂ miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik.....	28
Şekil 4.3. Hidrojen peroksit miktarı sonuçları.....	29

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge

Sayfa

Çizelge2.1. Başlıca reaktif oksijen türleri (ROS).....	11
Çizelge 4.1. Yağasidi kompozisyonu.....	30



1. GİRİŞ

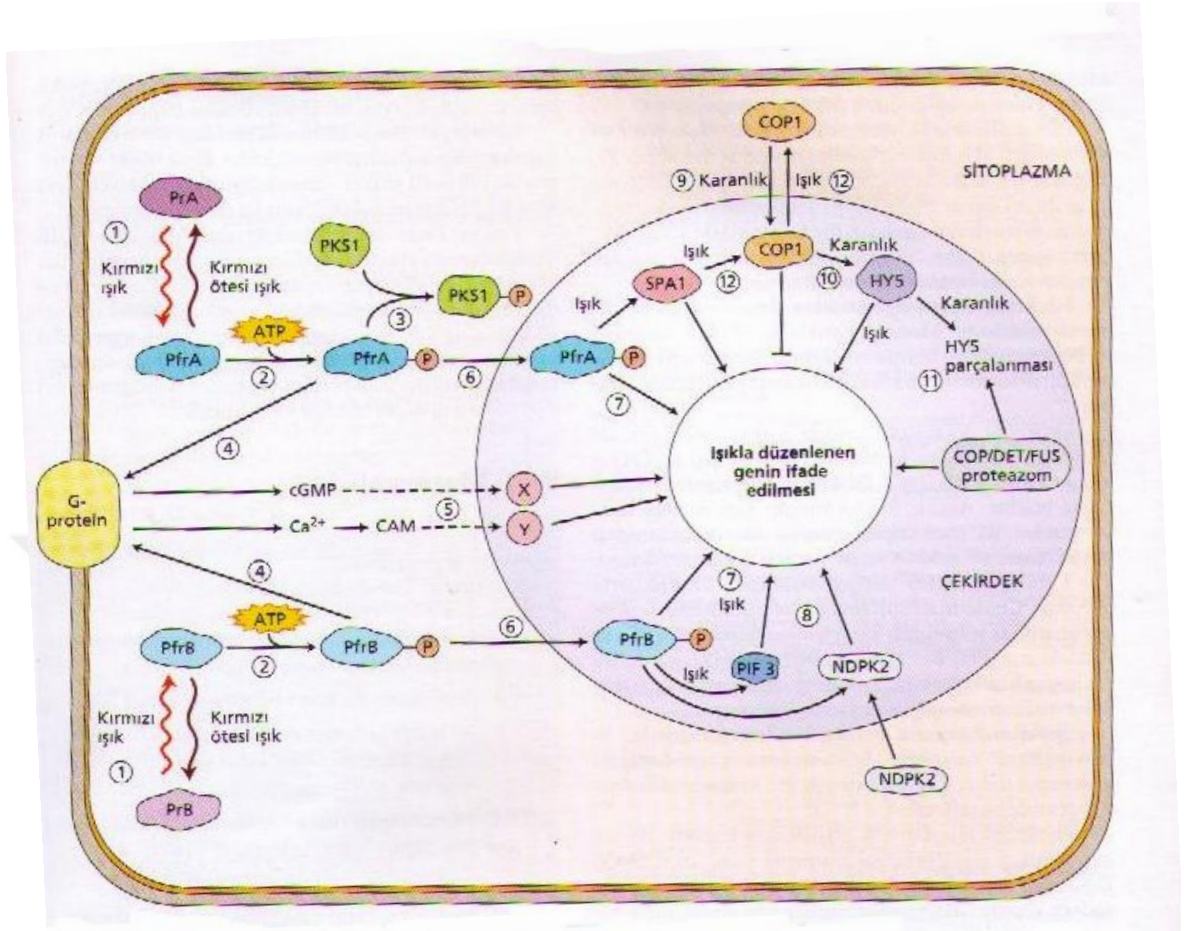
Bitki yaşamında ışık çok etkin rol almaktadır ve fotosentezin devamlılığı için çok önemlidir. Fotosentez olayı bitkinin beslenmesinde yani yaşamını devam ettirmesi için mutlaka gerekli bir biyokimyasal olaydır. Bunun dışında bitkilerde büyüme, gelişme, çimlenme, çiçeklenme gibi değişimlerin oluşmasında etkin olmaktadır. Bitkiler ışığın geliş yönünü, şiddetini ve dalga boyunu algılayarak tepkisel davranışlarla cevap veren canlıdır. Bitkiler ışığın bu özelliklerinden yararlanarak dünyanın hareketlerinden kaynaklanan iklimsel değişimleri ve günlük değişimleri yani güneşin doğmasını, batmasını gibi durumları algılayabilmektedir, ışıktan kaynaklanan bu olaya fotoperiyodizm denilmektedir. Fotoperiyodizm, tohumun ne zaman çimlenmesi gerektiğini, tomurcuk dormansisini, çiçeklenme zamanını bitki için en uygun zaman diliminde yapmasını sağlayarak bitki için avantaj sağlamaktadır. Bu durum bitkinin dış çevresi ile ne kadar da alakalı olduğunu göstermektedir, çevresel değişimler bitkiler için birçok faydalı durumların oluşmasını sağladığı gibi bazı olumsuz durumlarında ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Bu olaylar uygun zaman dilimin de olmasa bitki yaşamı ve nesli tehlikeye girer ve bitki yaşamı son bulmasıyla beraber diğer canlıların yok olmasına neden olabilmektedir. Bitkilerin çevresel etmenlere verdiği basit gibi gözükse de bu tepkisel olayların ne kadar önemli olduğu ve ne kadarda hassas bir faaliyet olduğunu ortaya koymaktadır.

Bir bitki dış çevresi ile her daim irtibat halindedir, çevresindeki değişimleri algılar ve bu değişimlere çeşitli tepkiler oluşturduğunu basit gözlemlerle de görmek mümkündür. Yerçekimine doğru köklerini, yerçekiminin zıt yönüne gövdeyi uzatarak tepkiler oluşturmaktadır. Bitkiler ışığı algılar ve ışığa doğru yönelme (tropizma) hareketi yapmaktadırlar.

Bitkiler yaşam döngüsü boyunca özellikle insanların sebep olduğu birçok olumsuzluklarla yaşamak zorunda kalırlar. Bitki morfolojisinde, büyüme gelişmesinde ve hücre metabolizmasında meydana gelen olumsuz etkilere stres denir. Stres faktörleri bitkileri eşzamanlı ve kombine şeklinde etkilemektedir. Stres faktörlerini çıkış noktasına göre abiyotik ve biyotik stres şeklinde gruplayabiliriz. Abiyotik stres faktörleri

soğuk, sıcak, karanlık, kuraklık, tuzluluk, radyasyon, çeşitli kimyasallar, rüzgâr, toprakta mineral yetersizliği gibi çevresel etmenlerdir. Biyotik stres faktörleri ise virüsler, bakteriler ve funguslardan oluşan patojenler ile böcekler ve herbivorlar gibi canlı faktörlerdir. Bitkilerin çevresel streslere karşı oluşturduğu reaksiyonlar oldukça karmaşık olup basit kimyasal ya da biyokimyasal şeklinde direkt cevaplar, karışık hormonal veya gelişim cevapları ile genetiksel olarak ortaya çıkan kalıtsal etkilere kadar birçok fizyolojik cevaplar olmaktadır. Bununla birlikte, bir tür için stres oluşturan koşul veya koşullar başka bir bitki türü için stres oluşturmaz. Literatürde “stres toleransı” terimi sıklıkla “stres direnci” ile birlikte kullanılmasına rağmen, “tolerans” terimi tercih edilmektedir. Tolerans, karmaşık bir fizyolojik olay olup, organizmaya ilk olarak öldürücü olmayan yüksek derecede stresin (subletal) uygulanmasını takiben uygulanan öldürücü strese (letal) organizmanın dayanma yeteneğidir (Yıldız ve Terzi, 2007). Stres her bitkide aynı etkiyi göstermeyebilir. Bazı bitkiler için olumsuz olan koşullar başka bitki için olumlu etkiye sahip olabilir.

Işık bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerine etkili olan önemli çevresel faktördür. Işık fitokrom ve kriptokrom pigmentleri tarafından algılanır. Kırmızı ve kırmızı ötesi ışınlar fitokromlar tarafından algılanırken mavi ve ultraviyole ışınlar kriptokrom ve fototropin tarafından algılanır. Kriptokromlar karanlıkta fotosentez ile ilgili genleri inhibe ederken mavi ışığın algılanmasıyla birlikte baskılanmayı ortadan kaldırır ve fideler de yeni yapraklar ve klorofil üretmeye başlarlar. Fitokromlar tohum ve spor çimlenmesini, çiçeklenmeyi ve dormansiye kontrol ederler. Fitokrom kromofor ve protein birimlerinden meydana gelir. Fitokromun kırmızı (Pr) ve uzak kırmızı ışığı (Pfr) absorbe eden ve birbirlerine dönüşebilen iki formu vardır. Fitokromun fizyolojik olarak Pfr formu aktiftir. Bitkilerde ışık tarafından uyarılan fitokrom aracılı fizyolojik cevapların oluşmasında sinyal iletiminin moleküler mekanizması Şekil 1.1.’de gösterilmiştir.



Şekil1.1. Fitokrom aracılı fizyolojik cevaplarda sinyal iletimi (Taiz ve Zeiger, 2008).

Bitkilerin çiçeklenmesinde ışıklanma süresi çok önemlidir. Kısa gün bitkilerinin ışığa gereksinimleri uzun gün bitkilerine göre daha az iken uzun gün bitkileri ışığa olan gereksinimi daha fazladır. Fakat tüm bitkiler çimlenmenin hemen akabinde toprak üstü ve toprak altı organları gelişirken ışık etkisiyle gerçekleşen fotosentez ile besin ihtiyacını karşılarlar. Bitkiler besin teminini yeterli ışık altında fotosentezden karşıladığı için karanlık faktörü tüm bitkiler için bir stres faktörü olarak öne çıkmaktadır. Işık şiddeti, süresi ve geliş açısı bitki büyümesi gelişimi ve verimi üzerinde önemli etkilere sahiptir. Işık şiddetinin yetersizliği yeryüzündeki ısının düşmesine ve bitki fotoperiyodizmin değişmesine ve bitki metabolizmasının yavaşlamasına neden olmaktadır. Fotoperiyodizmin kaymaması normal sürecinde ilerlemesi ışık faktörünün etkilerine bağlıdır. Işık stresi, gün boyunca bitkinin ihtiyacı olan ışığın yeterli düzeyde olmaması veya bitkinin ihtiyacı olan ışık enerjisini yeterli ve zamanında alamaması

olarak ifade edebiliriz. Işık miktarının eksikliği veya fazlalığı bitkide çeşitli etkilere sebep olmaktadır. Bunlar metabolik işlevlerde, fotosentezde, çimlenmede, çiçeklenmede kendini göstermektedir. Işık enerjisinin miktarı, bitkilerin boyunu, çapını, yapraklarının yoğunluğunu, yapraklarının şeklini ve rengini etkiler. Ayrıca kök gelişimi de bitkilerin ışık stresinden etkilenmektedir.

Karanlık-ışık geçişleri bitki gelişmesinin ilk safhasında organların yapısını ve gelişme hızını derinden etkiler (Cona ve ark., 2003). Toprak yüzeyinin altındaki genç fideler ışığa ulaşmak için toprak altındaki organlarında hızlı büyüme meydana gelir. Etiyole bitkilerden normal görünümlü bitkilere dönüşüm çok kısa süreli ışık uygulamasıyla mümkündür. Bundan dolayı ışık, etiyoleşmenin geri dönüşümünde, doğrudan enerji kaynağı olmaktan çok, büyüme tetikleyicisi olarak görev yapar. Işık, fidelerin toprak altından çok, toprak üstündeki organların gelişimini başlatan sinyaller verir. Fidler karanlıkta büyüebilmek için gerekli enerjiyi tohumdaki besin depolarından sağlar (Symons ve Reid, 2003). Karanlık periyot bitki için bir stres kaynağıdır ve bitki metabolizmasında önemli değişikliklere sebep olur. Özellikle hücre membranlarının lipid bileşimi stres sonucu oluşan serbest radikallerden kolayca etkilenir ve membran bütünlüğü bozulabilir. Oksidatif hasarın derecesi membran lipid bileşimiyle doğrudan alakalıdır ve doymamış yağ asiti miktarı arttıkça hasarda artmaktadır. Hücresel faaliyetlerin sürdürülmesinde membran geçirgenliği çok önemlidir. Membran geçirgenliği membranın lipid içeriğiyle doğrudan ilgilidir. Bu çalışmada; çimlenme sonrası karanlık ve ışıklı ortamlarda bitkilerin farklı şekilde büyümesi ve ışık etkisiyle etiyole bitkilerde dönüşümün meydana gelmesi sırasında hücresel membranların lipid içeriği araştırıldı.



Şekil1.2. De-etiyole fasulye fideleri(7 gün karanlık+7 gün ışık)



Şekil 1.3.Etiyole fasulye fideleri(14 gün karanlık)

2.KAYNAK ÖZETLERİ

2.1.Stres ve Işık StresininBitkilerdekiEtkileri

Biyolojik olarak stres, bitkiler gibi biyolojik sistemin varlığını ve normal fonksiyonunuengelleyen olumsuz şartlardır. Stres bitkide büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkiler, ürün kaybına ve bitkinin tamamen veya bazı organlarının yaşamını yitirmesine neden olur.

Strese uğrayan bir bitki iki şekilde tepki gösterir ve koşullara ayak uydurmaya çalışır.

1. Sakınma mekanizması: Stres faktörünün bitkiye nüfuz etmesini önlemeye yöneliktir. Sakınma mekanizması içinde yaprak alanı genişliği ve kalınlığı, toksik maddelerin atımı, stomaların büyüklüğü gibi faktörler yer alır. Bitki çevresiyle etkileşiminde morfolojik ve biyokimyasal değişiklik yapma potansiyeli bulundurması stresten korunmada ve neslinin devamında önemli etkiye sahiptir.

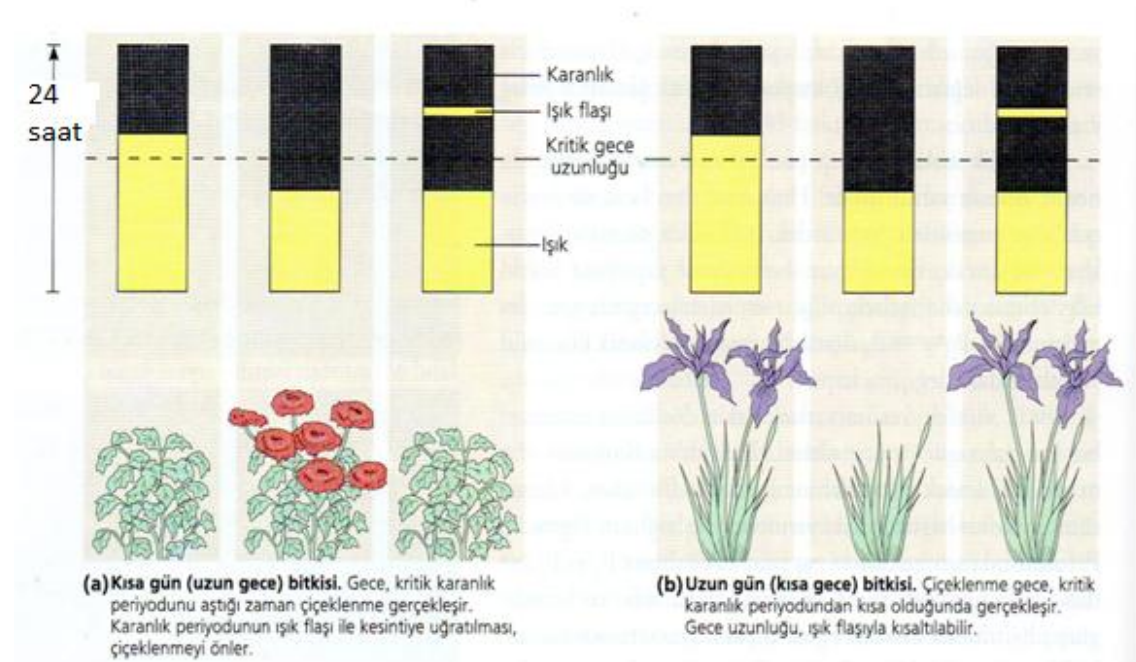
2. Tolerans mekanizması: Stres faktörünün azaltılması veya yaralanan bölgelerin tamiri ile meydana gelen değişimlerdir. Tolerans mekanizmasına moleküller içindeki elektron değişimleri, hücreyi oluşturan her bir öğedeki değişimler, yaprak, kök veya meyvedeki değişimler örnek olabilir.Bitkilerin doğal ortamlarında ortaya çıkan çevresel değişimler sonucu canlı içsel ve mekanik tepki gösterir (Edreva, ve ark. 1998).

Strese maruz bitkilerde yüksek miktarda sentezlenen serbest radikaller hücrelere zarar vermekte ve ayrıca fotosentez miktarının azalmasına neden olmaktadır. Stres altında sentezlenen bu serbest oksijen radikalleri membran lipidlerinin bozulmasına, nükleik asitler ile klorofil gibi hücre komponentlerinin zarar görmelerine neden olmaktadır. Işık stresi gün ışığının bitkilerde oluşturduğu stres olup öncelikle fotosentez üzerine etkilidir. Işık şiddetinin azlığı ya da fazlalığı bitkide metabolik işlevler üzerinde de önemli etkiler yapar. Güneş ışığı fotosentezi etkilemesinin yanında bitkinin sıcaklığını ve ışığa bağlı tepkimeleri de etkileyerek strese neden olur. Yeryüzüne ulaşan güneş enerjisinin miktarı, havadaki tozlar, kirlilik, bulutlanma durumu, enlem ve boylam derecelerine göre değişir. Denilebilir ki bitkilerin yararlandığı güneş enerjisinin miktarı çeşitli çevre faktörlerinin etkisiyle azaltılmaktadır. Bu nedenle bitkilerde ışık stresi genellikle ışığın fazlalığından değil yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. Güneş

ışığından faydalanmada atmosferik faktörlerin yanı sıra bitkilerin konumu ve durumu da etkilidir. Fotosentezin yapıldığı yaprakların üst üste gelmeleri ve bitkilerdeki dizilişleri nedeniyle ışıktan yararlanma kademeli olarak gerçekleşir. Bitki yoğunluğu, bitki boyu ve yaprakların şekli yararlanılan ışığın kalite ve miktarını etkiler. Yaprığın yapısı ve kalınlığı ışık geçirgenliği üzerinde etkilidir. Gölge ve güneş bitkilerinin ışık şiddeti karşısındaki tepkileri farklıdır. Bir bitkinin değişik bölgelerde yetiştirme başarısı sıcaklık, su vb. yanında düşük ışık karşısında fotosentezi sürdürme yeteneğiyle de ilgilidir. Gölge ve güneş bitkilerinde bulunan kloroplastlar yapı olarak birbirinden önemli ölçüde farklıdır. Kloroplastlardaki klorofil a ve klorofil b gibi klorofil miktarları da farklıdır. Bitkinin ışık tutma gücü birim alandaki klorofil miktarına bağlıdır. Gölge koşullarında gölge yaprakları fotosentetik reaksiyon merkezleri başına daha fazla toplam klorofil içerir, klorofil b miktarı klorofil a'dan daha fazladır. Işığın yetersiz olması durumunda ortaya çıkan stresle bitkilerde karbohidrat üretimi düşer. Bunu bir seri metabolik değişim izler. Karbohidratlar solunumda da kullanıldığından hücredeki miktarı devamlı düşmeye başlar. Bu durumda bitkiler köklere daha az besin göndererek kök gelişimini yavaşlatırlar. Ayrıca yaprak alanlarını genişleterek ve ışığı daha az yansıtma için incelterek güneş ışığından daha fazla yararlanmaya çalışırlar. Işığın fazla olduğu durumlarda ise yaprakların kalınlaştığı görülür. Güneş bitkileri fazla ışık aldıklarında fotosentezi hızlandırırlar. Fakat zamanla yapraklarında mum tabakası oluşur ve kutikula tabakası kalınlaşır. Böylece ışığı daha fazla yansıtırlar.

Bitkilerin çiçeklenmesinde çiçek tomurcuklarının gelişmesi süresince uygun bir fotoperiyoda ihtiyaç duyarlar. Çiçeklenme sırasında bitkiler ışığa ihtiyaç duydukları ışık periyoduna göre; kısa gün bitkileri, uzun gün bitkileri, nötr gün bitkileri ve ara gün bitkileri olmak üzere sınıflandırılmıştır. Kısa gün bitkileri gün uzunluğunun belli bir kritik değerin altına düştüğünde çiçeklenen bitkilerdir. Krizantem, sütlegün, patates, soya fasulyesi ve pıtrak kısa gün bitkileridir. Bu bitkilere kritik ışık miktarı ve altı çiçek açmak için yeterli olmaktadır, bu bitkiler genel olarak yaz sonunda, sonbaharda ya da kışın çiçek açarlar. Bazı kısa gün bitkilerinde karanlık periyodu bir dakikalık ışıklandırma ile bölünse çiçeklenmediği gözlenmiştir. Bu durum karanlık periyodunun kısa gün bitkilerinde ne kadar hassas olduğunu göstermektedir, yani gece uzunluğunu ölçebilecek bir sisteme (fitokromlar) sahip olduğunun da göstergesidir.

Uzun gün bitkileri kritik değerin üstündeki ışığa ihtiyaç duyar ve gün içinde yeterli ışık miktarı kendisine ulaşırsa çiçeklenme meydana gelir. Bu bitkilerde genelde ilkbaharın sonunda ve yaz başlangıcında çiçeklenme görülür. Turp, marul, ıspanak, şeker pancarı, yonca, buğday ve süsen uzun gün bitki grubuna girmektedir. Nötr gün bitkileri ışık periyodunun değişiminden etkilenmezler, bunlar gül, aslanagzı, pamuk, karanfil, salatalık, domates, pirinç, ay çiçeği ve karahindibadır. Ara gün bitkilerinin bazı türlerinde çok uzun ve çok kısa gün uzunluğu çiçeklenmeyi olumsuz etkilerken (şeker kamışı) diğer türlerde uzun-kısa gün kombinasyonlarına ihtiyaç duyarlar (*Bryophyllum*). Çiçek yetiştiricileri bitkilerin çiçeklenme zamanındaki ışık ihtiyacını dikkate alarak çiçeklenme zamanını ayarlayabilmektedir. Mesela; krizanterler normalde sonbaharda çiçek açar fakat uzun geceleri bir ışık flaşı ile kesintiye uğratan bu bitki sonbaharda çiçeklenmesi bu yolla önlenmiş olur ve Mayıs ayında uygun gölgelikler kullanılarak çiçek açması sağlanır ve anneler gününde ekonomiye kazandırılmış olur (Graham ve ark., 2003).



Şekil 2.1. Kısa ve Uzun gün bitkilerinde çiçeklenme üzerine ışığın etkisi (Gündüz ve ark., 2006).

Karanlıkta büyüyen bitkiler normal ortamda yetişenlerden daha hızlı uzarlar ve bu durum etiolasyon olarak adlandırılır. Burada yatan temel mekanizma bitkinin ışığa

ulaşma isteğinin artmasıdır. Etiyole bitkilerin gövdeleri açık renkli, anormal düzeyde uzun gövdeye sahip ayrıca ince ve daha zayıf görünöme sahiptirler (Akgöl,2010).Işık bitkinin büyümesi ve gelişmesi için çok önemli bir enerji kaynağıdır. Işık aynı zamanda bitkilerin gelişiminde çevresel bir sinyal etkisi göstermektedir. Işıkta yetiştirilen fidelerle karanlıkta yetiştirilen fideler arasında büyük ölçüde morfolojik farklılıklar göze çarpmaktadır (Zhang ve Schroder,2009).

2.2. Hücre Zar Yapısına Işık Stresinin Etkisi

Abiyotik stres faktörlerinin ilk belirtisi, spesifik hücre membranlarının zarar görmesidir. Hücre membranının yapısını büyük çoğunlukla fosfolipidler oluşturmaktadır. Özellikle bitki büyümesi ve gelişimi sırasında hücre membranına sürekli takviye gerekmektedir. Bitkilerde organik maddelerin sentez mekanizmasının öncü olayı fotosentezdir. Fotosentezde de ışık faktörü olmazsa olmazdır.Birçok bitkide fotosentezin optimum seviyede gerçekleşebilmesi için ışığın yeterli oranda alınması çok önemlidir.Etiyole bitkilerde gelişim sırasında lipit tabakasına takviye problemleri yaşanması ayrıca stres altında gelişen bitkilerin stres faktörlerinin etkisi ile hücre membranlarında ciddi hasarların oluşma ihtimali oldukça yüksektir.Stres faktörlerinin hücre zarı içeriğine etkisi ile alakalı pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda zar akışkanlığının korunmasına yönelik olarak zardaki doymuş ve doymamış yağ asidi bileşiminde değişimler olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla stres faktörüyle plazma membranında meydana gelen lipit değişikliklerinin membran bütönlüğünü sağlamada etkin olabileceği ileri sürölmüştür (Yılmazve ark.,2011).

Etiyole bezelye fidelerinin yeşillenme sürecinde kotiledon, gövde ve genç yaprakların lipit kompozisyonundaki değişiklikler incelenmiş ve linoleik ve linolenik yağ asit miktarındaki değişimin dokulara özgün olduğu görölmüştür. Genç yaprakların ışık almasıyla birlikte fosfolipid miktarı azalmış, kloroplastların oluşumu ve olgunlaşmasıyla birlikte galaktolipid içeriği artmıştır ((Trémolières and Lepage, 1971).Diğer bir çalışmada; etiyole *Vigna radiata*'nın plazma ve vakuol zarlarının lipit kompozisyonu araştırılmış fosfolipid, sterol ve seramid monoheksosidlerin daha fazla zarlarda yer aldığı görölmüştür (Yoshida and Uemura, 1986). Çevresel stres faktörleri

bitki hücrelerinin değişik bölümlerinde aktif oksijen türlerinin üretiminde artışa neden olur. Özellikle radikalik özellik gösteren moleküller lipid, protein ve nükleik asitlere saldırarak yapı ve fonksiyonlarını bozarlar. Radikallerin en önemli hedefi lipitlerdir ve lipid peroksidasyonuna neden olur. Lipit peroksidasyonu, serbest radikallerin etkisi sonucu hücre membranının yapısındaki doymamış yağ asiti zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar bunun sonucunda yağ asiti zinciri bir lipit radikali özelliği kazanır. Oluşan bu radikaller oksijenle etkileşime girer ve lipit peroksil radikallerinin oluşumuna neden olur. Lipitperoksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehittir (Ertekin ve ark.,2008).

2.3.Bitkilerde Oksidatif Stres veSerbest Oksijen Türleri

Yüksek yapılı canlıların enerji üretim yolu olan aerobik solunum olayı sırasında kullanılan oksijen, canlılar için fayda sağlamasının yanında bir takım zararlı etkiye göstermektedir. Aerobik canlılar için çok önemli fonksiyonu olan oksijen çok fazla miktarda olduğu zaman yıkıcı etkilere sebep olmaktadır. Yaşlanma, kanser gibi birçok olumsuz durum oksijenin indirgenmiş formlarından kaynaklanmaktadır.Oksijenin canlılardaki toksik etkisi,oksijen radikalleri olarak bilinen ve oksijenin vücut metabolizması sırasında oluşan reaktif oksijen türlerinden kaynaklanmaktadır. Başka moleküllerle çok kolay elektron alışverişi yapabilen bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROS) denilmektedir. Birçok çevresel etkilere maruz kalmak bitkilerde ROS miktarını artırmaktadır.Bu duruma oksidatif stres denilmektedir. Oksidatif stres etkisi, hücrelerde meydana gelen lipid peroksidasyonu hücre membranlarında hasar oluşturmaktadır (Eraslan ve ark., 2007). Serbest radikaller hücrelerde içsel ve dışsal kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşan bir veya birden fazla eşleşmemiş elektronlara sahip kısa ömürlü,kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküllerdir(Eryılmaz, 2007).

2.4.Bitki Hücrelerindeki Reaktif Oksijen Üretim Yerleri

Bitkilerde reaktif oksijenleri üreten pek çok yapı bulunmaktadır. Özellikle elektron transferlerini gerçekleştiren organeller potansiyel reaktif oksijen kaynaklarıdır.

Özellikle fotosentezin gerçekleştiği kloroplastlarda suyun hidrolizi sırasında, mitokondride elektron transferi gerçekleşirken aktifleşmiş oksijen türleri oluşur. Ayrıca peroksizom, endoplazmikretikulum, vakuol ve plazma membranlarında reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Singletoksijen (1O_2), hidrojenperoksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil ($\cdot OH$), perhidroksil ($HO_2^{\cdot}$), alkoksil ($RO^{\cdot}$), peroksil ($ROO^{\cdot}$), radikalleri ve organik hidroperoksit ($ROOH$) gibi reaktif oksijen türleri birçok stres faktörünün etkisiyle canlılarda oluşmaktadır. Bu bileşikler bitkilerin metabolik fonksiyonlarının bozulmasına yol açar, Reaktif oksijen türleri toksik etkisi ile bitkinin büyüme, gelişmesine zarar verir. Fakat yapılan araştırmalarda reaktif oksijen türlerinin bazıları sinyal iletimi gibi metabolik olaylarda rol oynadığı gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Başlıca reaktif oksijen türleri (Tabloda radikal olan türlerde eşleşmemiş elektron olduğu için üzeri nokta ile gösterilmiştir)

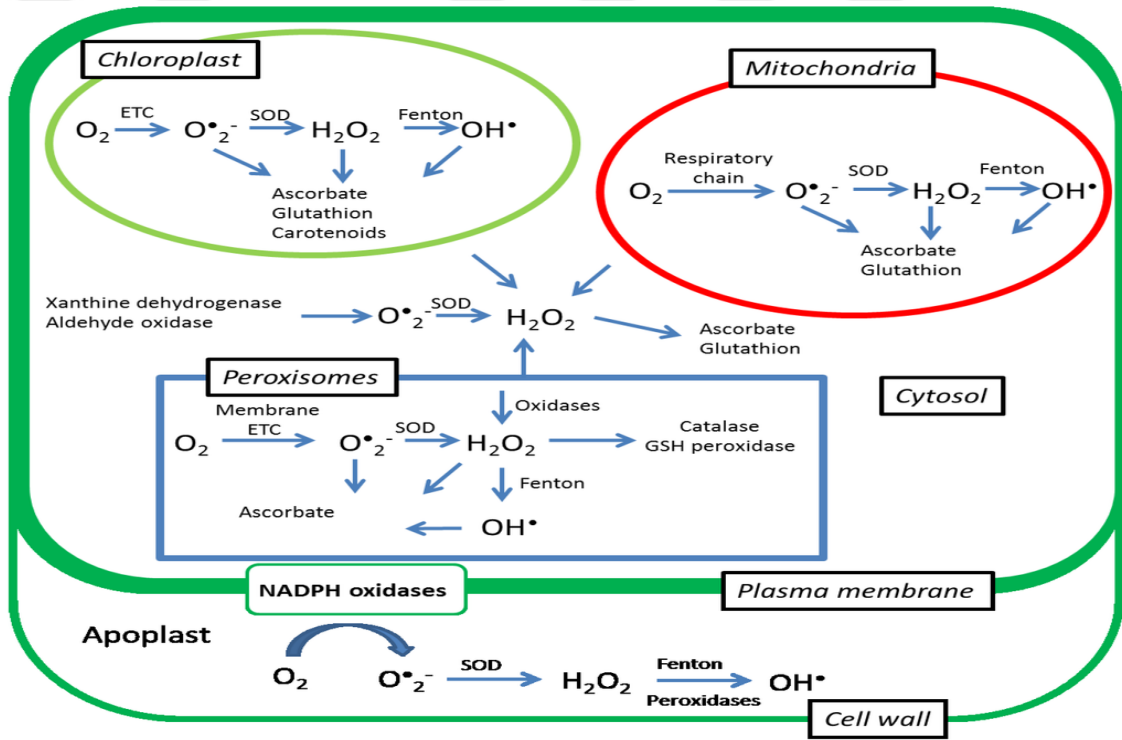
Oksijen kaynaklı reaktif türler	Nitrik oksit kaynaklı reaktif türler
Superoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)	Nitrik oksit ($NO^{\cdot}$)
Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	Nitrojen dioksit ($NO_2^{\cdot}$)
Peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$)	Nitril katyonu (NO_2^+)
Alkoksil radikali ($RO^{\cdot}$)	Nitroksil ($NO^{\cdot}$)
Hidroperoksil radikali ($HO_2^{\cdot}$)	Nitrozil (NO^+)
Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Peroksinitrit radikali ($ONOO^{\cdot}$)
Singlet oksijen (1O_2)	Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)
Ozon (O_3)	Dinitrojen trioksit (N_2O_3)
Hipokloroz asit ($HOCl$)	Dinitrojen tetraoksit (N_2O_4)
Hidroperoksit ($ROOOH$)	
Endoperoksit ($ROOR^{\cdot}$)	

Oksijenin bulunduğu bir ortamda serbest radikaller; çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörlerle kovalent bağların homolitik kırılması, normal bir molekülün elektron kaybetmesi ve normal bir moleküle elektron transferi olmak üzere başlıca üç ana mekanizma ile oluşmaktadır (Eryılmaz, 2007). Yüksek enerji düzeyli elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık ($500-600^{\circ}C$) kimyasal bağlarda kırılmaya neden olmaktadır. Kırılma sonrası bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı atomlar üzerinde kalıyorsa bu şekildeki kırılmaya homolitik kırılma denir. Organik moleküllerin heterolitik kırılmasında zıt yüklü iyon çiftleri oluşmaktadır ve bu türlerde reaktiftir.

Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, radikal formu oluşmaktadır. Özellikle hücrede

bulunan antioksidan moleküllerin (askorbik asit, glutatyon vb.) radikal türlere elektron vererek kendileri radikalik özellik kazanırlar ve daha sonra antioksidan sistemle rejenere olurlar.

Radikal oluşmada üçüncü bir mekanizma radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış yörüngesinde paylaşılmamış elektron oluşmasıyla radikal üretilmektedir. Oksijen molekülü bir elektron alarak süperoksit radikaline dönüşebilmektedir. Reaktif oksijenler etkili bir şekilde yok edilmedikçe hızlı bir şekilde okside olmakta ve hücre zarı lipidlerine, protein, DNA ve diğer hücre bileşenlere zarar vermekte ve böylece hücre ölümüne neden olmaktadır (Polat, 2007).



Şekil 2.2.Bitki hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluştuğu kaynaklar (Jajic ve ark., 2015)

2.5.Reaktif Oksijen Türlerinin Canlıda Oluşturduğu Hasarlar

Reaktif oksijen türleri düşük konsantrasyonlarda sinyal taşıyıcı etki gösterirken yüksek konsantrasyonlarda oksidan etki göstermektedir. Biyolojik sistemlerde organik substratların ROS ile reaksiyonu, zarların yüzey özellikleri, elektrik yükleri, makromoleküllerin bağlanma özellikleri ve enzimlerin, substratların ve katalizörlerin belirli bölgelerde lokalize olmasından dolayı komplekstir (Polat, 2007).Reaktif oksijen türlerinin saldırısı sonucu meydana gelen oksidatif hasarlar her zaman hücre ölümüne neden olmaz, bazen bu reaktif maddeler membran lipidlerine, protein moleküllerine ve nükleik asitlere ciddi hasar vermektedir.

2.5.1.Bitki proteinlerinde oluşan hasarlar

Reaktif oksijenler proteinlerde çeşitli şekillerde hasar oluşturur. Zar yüzeyindeki spesifik aminoasit modifikasyonlarına, peptit bağ zincirlerinin parçalanmasına, çapraz bağ oluşturmuş ürünlerin kümeleşmesine, moleküllerde elektriksel yük değişimlerine, parçalanmalara duyarlılığın artmasına neden olur. Kükürt içeren amino asitler ve tiyol grupları oksidanlara oldukça duyarlı yapılardır. Proteinlerin oksidatif zarar görmesi Fe^{2+} gibi redoks dönüşümü yapabilen metal kofaktörlerin varlığında artar. Böyle durumlarda metal, proteinin iki değerlikli katyonları bağlayan yüzeyine bağlanır sonra metal hidroksil radikali oluşturmak için hidrojen peroksitle reaksiyona girer ve reaksiyon sonunda meydana gelen hidroksil radikali amino asit dizilerini oksitler (Kısa, 2010).

2.5.2.Bitki DNA'larında oluşan hasarlar

Canlıların yaşamları boyunca görülen yaşlanma, mutasyon, kanser gibi hücre ölümü ile sonuçlanan olayların temelinde reaktif oksijenlerin DNA'da oluşturdukları hasarlar vardır. DNA'da oluşan bu hasarlar tek hücreli canlıların ölümü ile sonuçlanmakta, çok hücreli canlılarda dejenerasyona ve yaşlanmaya neden olmaktadır (Atmaca ve Aksoy,2009).DNA'daki şeker ve bazlar oksidasyona karşı çok hassastır, şeker ve bazların oksidasyonu tek ipliğin kırılmasına, bazların yıkımına ve proteinlerle çapraz bağlanmaya sebep olabilir. Bazların bozulması sonucu 8-hidroksiguanin,

hidroksimetil üre, üre ve timin glikol gibi bileşikler oluşur. Hidroksil pürin, pirimidinbazlarında ve deoksiriboz iskeletinde hasarlara neden olmaktadır.

2.5.3.Bitki membranlipidlerinde oluşan hasarlar

Hücre membranlarının içerdiği lipidlerin yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinden dolayı reaktiflerle çok kolay oksidasyona girebilmektedir. Serbest oksijen radikalleri hücre membranlarına lipid peroksidasyonu yolu ile hasar vermektedir. Canlılarda stres faktörü ile hücrelerde oluşan hasarın temelini lipid peroksidasyonun oluşturduğu düşünülmektedir. Lipid peroksidasyonu etkisi ile plazma membranında akışkanlığın azalmasına, membran geçirgenliğinin değişmesine, membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde azalmanın gözlenmesine neden olmaktadır. Peroksidasyon reaksiyonları yağ asiti zincirlerindeki çift bağlarla serbest oksijen radikalleri arasında gerçekleşmektedir.

2.6.Bitkilerde LipidPeroksidasyonu

Hücre membranının yapısı protein ve fosfolipidlerden oluşmaktadır. Membran lipidleri hem hidrofobik hem de hidrofilik özelliğinden dolayı amfipatik moleküllerdir. Yağ asitleri de fosfolipitlerin temel moleküllerindendir. Membran yapısındaki yağ asitlerinin çoğu bir veya çoklu doymamış yağ asitleri içermektedir. Doymamış yağ asitleri tek bağları çift bağa dönüştüren yağ asitidesaturazlar ile doymuş yağ asitlerinden sentezlenir. Akıcı mozaik zar modeline göre membran yapısında proteinler çift katlı lipid tabakasına gömülü vaziyettedir. Bu yapı tüm hücre ve organel membranlarının yapısını oluşturmaktadır. Hücre membranları akıcı, hareketli, canlı aktivitelerin olduğu ve moleküllerin hareket halinde olduğu bir yapıdır. Membranın akışkan olması hücre sel fonksiyonların birçoğundan bağımsızdır. Membran akışkanlığı genellikle lipid bariyerin her iki tarafına yerleşmiş olan fosfolipit moleküllerinin yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ile düzenlenmektedir.

2.6.1.Peroksidasyon

Hücrelerde metabolik aktiviteler ve çeşitli stres faktörlerinin etkisi ile oluşan reaktif oksijen türleri; membran yağ asitleri başta olmak üzere karbonhidrat, protein ve nükleik asitler gibi çeşitli moleküllerden bir proton çıkararak karbon merkezli organik alkil radikallerinin ($R\cdot$, $RCOO\cdot$, $RO_2\cdot$ ve $RO\cdot$) oluşmasına ve lipit peroksidasyonu zincir tepkimelerini başlatarak yapısal ve fizyolojik bazı değişimlere neden olmaktadır (Eryılmaz, 2007). PUFA'ların karbonları arasında çift bağ bulunması okside olma eğilimini artırmaktadır. Ayrıca karbonlar arasındaki çift bağların bulunması karbon atomlarının farklı atomlarla bağ yapma isteğini artırır bu da hidrojen atomunun ayrılmasını sağlar. Hidrojen molekülünün ayrılması ile oluşan molekülde eşleşmemiş elektron çiftleri kalır.

PUFA'ların $\cdot OH$ ile reaksiyonu lipit radikalinin oluşmasına neden olur. Lipit radikalide moleküler oksijenle etkileşime girerek lipit peroksil radikalini ($LOO\cdot$) oluşturur. $LOO\cdot$, lipit hidroperoksit ($LOOH$) ve ikinci bir lipit radikali oluşturmak için komşu yağ asitinden hidrojeni çıkarır. Oluşan $LOOH$ Fe^{2+} gibi indirgeyici metallerle indirgenir ve lipit alkoksil radikali ($LO\cdot$) oluşur. Hem alkoksil hem de peroksil radikalleri yeniden hidrojen atomlarının çıkarılmasıyla lipit peroksidasyon zincirini uyarır. Lipit peroksidasyonu sırasında polar oksijen kısmının çoklu doymamış yağ asitlerinin hidrofobik kuyruklarına sokulmasının iki sonucu vardır.

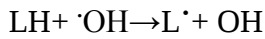
1. Hidroperoksigrup varlığında hidrofobik lipit/lipit ve lipit/protein etkileşimleri bozulur buda biyomembranlarda ve lipoproteinlerde yapısal değişimlerin oluşmasına neden olur.
2. Hidroperoksit lipitler diğer membran veya lipoprotein bileşenlerde ikincil modifikasyonları indükleyen serbest radikal oluşumunun kaynağıdır.

Lipit peroksidasyonu hücrenin membran bütünlüğünü, akışkanlığını ve seçici geçirgenliğini etkiler, iyon geçişi ve metabolik işlemlerin inhibisyonuna neden olur. Ayrıca lipit peroksidasyonu mitokondrinin hasar görmesine de neden olarak ROS üretiminde artışa neden olur. Lipit peroksiyonu ile lipit hidroksitler, lipit epoksitler, epoksi alkoller, malondialdehid (MDA), etan, pentan, 4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE), 4-hidroksi-2-heksanal (4-HHE) ve akrolein oluşmaktadır. Biyolojik sistemlerde MDA üreten tek mekanizma lipit peroksidasyonudur fakat MDA lipit peroksidasyonunun ana

ürünü değildir. Lipit peroksidasyonu başlama, ilerleme, yıkım ve sonlanma olmak üzere dört aşamada meydana gelmektedir.

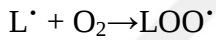
2.6.1.1. Lipit peroksidasyonunun başlangıç aşaması

Oksitleyici $\cdot\text{OH}$ radikali yağ asitlerinin metilen kısmından bir hidrojen atomunun çıkarılmasıyla lipit radikali meydana gelir.

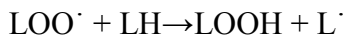


2.6.1.2. Lipit peroksidasyonunun ilerleme aşaması

Karbon merkezli lipit radikaline moleküler oksijenin hızla bağlanmasıyla lipit peroksil radikali ($\text{LOO}\cdot$) oluşmaktadır.



Lipit peroksil radikal başka bir lipit molekülünden bir hidrojen atomu ayırarak lipitperoksit meydana gelmektedir.



2.6.1.3. Lipit peroksidasyonunun yıkım evresi ve oluşan çeşitli organik radikaller

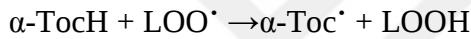
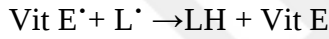
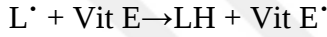
Lipid moleküllerinin peroksidasyonu lipidlerin moleküler çatısını değiştirir ve harabiyete uğratır. Tek elektron üzerinden yeniden yapılanma lipidin parçalanması ile sonuçlanarak çeşitli organik alkil radikalleri meydana gelmektedir.

Organik peroksit radikalleri ($\text{RCOO}\cdot$), lipidlerin yıkımında ortaya çıkantoksik ürünlerden biridir. Peroksil radikali ($\text{ROO}\cdot$), yeni bir lipit peroksidasyonunu tetikleyerek zincirleme tepkimelerin başlamasına neden olan oldukça toksik özelliklere sahip lipidlerin yıkım ürünüdür. Alkoksil radikalleri ($\text{RO}\cdot$), peroksil radikalinden bir oksijen atomunun çıkması sonucunda oluşmaktadır. Lipit peroksidasyonu sonucunda ayrıca jasmonik asitler,

alkoller, etan,etilen ve aldehitler gibi çeşitli sekonder ara ürünler de oluşmaktadır. Bunlardan özellikle malondialdehit, çeşitli mutajenik ve genotoksik etkileri ile en zehirli ürünlerdenbirisidir (Eryılmaz, 2007).

2.6.1.4.Lipit peroksidasyonu sonlanma evresi

Bir radikal, protein ya da serbest radikal yakalama yeteneğindeki bileşik ile reaksiyona girmesi sonucu sonlanma meydana gelir ve stabil son ürün oluşur. Zincir reaksiyonu, askorbat (C vitamini) ve α -tokoferol (E vitamini) gibi antioksidanlar tarafından sonlandırılabilir.

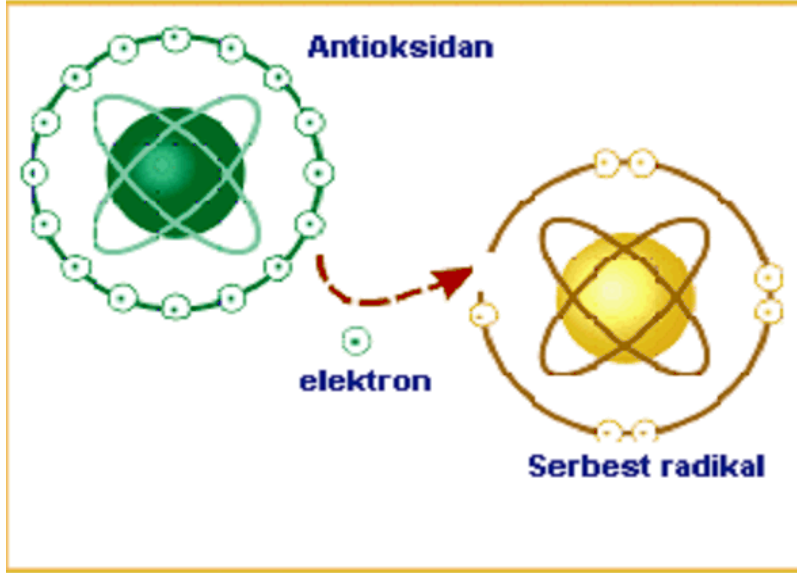


Lipit peroksidasyonu kendini tetikleyerek yeniden lipit radikalleri ve peroksitleri oluşturabilmektedir. Hidroperoksitlerinve sekonderperoksidasyon ürünlerinin konsantrasyonundaki artış plazma membranlarının akışkanlığını, membranın geçirgenliğini etkilemekte, hücre içindeki çeşitli iyon ve maddelerin hücre dışına sızdırarak membran potansiyelini etkiler böylece hücrenin yapısında ve işlevlerinde çeşitli aksaklıklar ortaya çıkmaktadır. Lipit peroksidasyonu ile oluşan ürünlerin tamamı bitkiler için zararlı olmayabilir. Hasarlı bitki dokularının lipit peroksit ürünlerini ve karbonlu bileşikleri hasarın olduğu yüzeyde tutarak patojenik bakteri ve fungusları etkisiz hale getirmede kullanılmaktadır.

2.7. Bitkilerde ROS'lara Karşı Oluşturulan Savunma Sistemleri

Canlı hücrelerdeki karbohidrat, lipit, protein ve DNA gibi okside olabilecek moleküllerin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddelere antioksidan ve bu maddelerle yapılan savunmaya da antioksidan savunma denir. Antioksidanlar ksenobiyotiklerin, ilaçların, kanserojenlerin, toksik maddelerin ve

radikallerin olumsuz etkilerine karşı doğrudan veya dolaylı olarak hücreyi korur (Demirci, 2006).



Şekil2.3. Antioksidan ile serbest radikallerin etkisinin uzaklaştırılması (Polat,2007).

Aerobik canlılar oksidatif özellikteki bileşiklerin oluşturacağı hasarlardan enzimatik olmayan ve enzimatik savunma sistemleriyle kendilerini korurlar.

2.7.1. Enzimatik olmayan savunma sistemi

Enzimatik olmayan savunma sistemini glutatyon, askorbat, tokoferol ve flavonoidler, lignin, tanin gibi bileşiklerden meydana gelir.

2.7.1. Glutatyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisinden meydana gelen bir tripeptiddir. Bitki hücrelerinde bol miktarda bulunur. Yaşla ve bazı çevresel etmenlerle miktarı azalabilir. En fazla kloroplastlarda bulunur (1-4 mM). Singlet oksijen, süperoksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek zararsız hale dönüştürür. Lipid peroksidasyonu sırasında oluşan açıl

peroksitleri parçalayarak membran yapısını stabilize eder. Pek çok biyolojik döngüde indirgeyici ajan olarak görev yapar.

GSH'nin antioksidan özelliğini sistein amino asitinde bulunan reaktif tiyol grubu kazandırmaktadır. Oksidatif stres ile artan reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonu, indirgenmiş glutatyonun oksitlenmiş dimer formuna dönüşümü ile sağlanmaktadır.

2.7.2. Askorbik asit

Bitki dokularında bol miktarda bulunur. Büyüme ve farklılaşma gibi fizyolojik olaylarda rol oynar. Antioksidan özelliği pek çok serbest radikali indirgemesinden kaynaklanır. Askorbat; süperoksit, hidrojenperoksit, hidroksil radikali ve singletoksijen ile kolayca reaksiyona girip indirgeyici olarak görev yapar. Bu indirgeyici özelliği ile oksidatif hasara karşı koruma sağlar.

2.7.3. Tokoferol

α -tokoferol plastidlerde sentezlenir. Membran stabilizasyonunda önemli role sahiptir. Serbest yağ asitlerinin (serbest yağ asitleri deterjan etkisi gösterir) karboksil grupları ile tokoferol halkası arasındaki bağlanma yağ asitlerinin lipid ikili tabakayı bozmasını engeller. Tokoferol oksijen serbest radikalleri, lipid peroksi radikalleri ve singlet oksijeni dismute ederek antioksidan özellik gösterir. Antioksidan özelliği yapısındaki fenolik hidroksil gruplu aromatik halkadan kaynaklanır.

Tokoferol askorbik asit varlığında üretilmektedir. Tokoferoldeki fitil zinciri, aromatik halka membran yüzeyine tutunurken fitil zinciride hücredeki membranlara yerleşir. Bu yapı tokoferollere antioksidan özellik kazandırır ve askorbik asitle reaksiyona girerek rejenere edilir.

2.7.4. Karotenoidler

Fotosentetik ve fotosentetik olmayan bitki dokularında bulunur. Işık absorpsiyonunda yardımcı pigmenttir. Farklı aktif oksijen türlerinin ve triplet korofilin detoksifikasyonunda rol oynar.

Karotenler hidrokarbon yapısındadır. Ksantofiller ise bir ve ya daha fazla oksijen atomu ihtiva eden karoten türevleridir. Karotenoidler fotosistem merkezlerini koruyarak antioksidan özelliklerini gösterirler. Bitkilerde fotosentez sırasında oluşan ROS oluşumunu önlemeye çalışırlar. Antioksidan etkileri yapılarındaki konjuge çift bağlardan kaynaklanan karotenoidlerperoksil, hidroksil ve süperoksit radikalleri ile singlet oksijenin uzaklaştırılmasında ve lipidlerinperoksitatif yıkımından korunmasında rol almaktadır(Eryılmaz, 2007).

2.7.5. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler en az bir aromatik halka ve bu halkaya bağlı bir ya da daha fazla sayıda hidroksil grubu içerirler. Aromatik halka benzen halkasıdır. Fenolik hidroksil grupları mevcut aromatik halkadan etkilenmektedir. Aromatik halka yüzünden fenolik hidroksillerin hidrojenleri kararsızdır ve bu yüzden fenoller zayıf asidik özellik gösterirler. Fenolik bileşikler bitkinin meyve, tohum, gövde, dal, yaprak ve çiçek gibi organlarında bulunurlar. Hücre içerisinde ise sitoplâzma, hücre duvarı, vakuolde yer alırlar.

Bitkide fenolik bileşiklerin en önemli özelliklerinden birisi antioksidan aktivite göstermeleridir. Hücrelerde metabolizma olayları sonucu reaktif oksijen türleri oluşur. Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri, oksidasyon sonucu oluşan serbest radikallere hidrojen vererek onları söndürmesinden ileri gelmektedir.

Fenolik bileşikler metalleri şelatlama eğilimindedirler. Hidroksil ve karboksil gruplara sahip fenolik bileşikler demiri şelatlayarak etkisizleştirebilir ve Fenton reaksiyonlarını baskırlar. Fenolik bileşiklerin şelatlama yetenekleri muhtemelen aromatik halkanın yüksek nükleofilik yeteneği ile ilişkilidir (Michalak, 2006).

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri; molekülünaromatik halka yapısındaki OH grup sayısına ve konumuna göre değişmektedir. Fenolik bileşiklerin elektron alıp/vermeleri ile oluşacak olan radikallerrezonans kararlılığından dolayı stabil radikal olurlar ve kolaylıkla diğer radikallerle reaksiyona girmezler.

2.8. Enzimatik Savunma Sistemi

Enzimatik savunma sisteminde süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz, fenilalanin amonyumliyaz gibi enzimler görev alır.

2.8.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz süperoksit radikallerine karşı hücrede enzimatik antioksidan savunmalarından biridir. Süperoksit radikalini serbest oksijen ve hidrojen peroksit'e dönüştürür. SOD aktivitesindeki artış oksidatif strese karşı geliştirilen dirençle ilgilidir. Mn-SOD mitokondri, Fe-SOD kloroplast, CuZn-SOD ise kloroplast ve sitoplazmada bulunur. SOD aktif oksijen türlerinden süperoksit anyon radikallerini katalizleyerek moleküler oksijen ve hidrojen peroksit oluşturur. Böylelikle organizmalara oksijen varlığında hayatta kalma imkânı verir (Parida and Das, 2005).

2.8.2. Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksiti su ve oksijene katalizleyen antioksidan bir enzimdir. Ökaryotik organizmaların katalazı hem prostetik grubu ihtiva eder. Katalaz hidrojen peroksiti dismute eden diğer enzimlerden daha yüksek bir Km değerine sahiptir. Fakat diğer enzimlerden turnover sayısı daha yüksektir. Tütün genleri baz alınarak fotosentetik dokularda (Sınıf I, CAT II), vasküler dokularda (Sınıf II-CAT III), üreme organları ve tohumlarda (Sınıf III-CAT I) ifade edilenler şeklinde sınıflandırma yapılmaktadır (Mhamdi ve ark., 2010).

2.8.3. Peroksidaz (POD)

Peroksidazlar H_2O_2 'yi hidrojen alıcısı olarak kullanıp farklı fenolik substratların oksidasyonunu katalizleyen hem proteinlerdir. Peroksidazlar bitki hücrelerinin sitozol, kloroplast, vakuol ve hücre çeperlerinde bulunur. Peroksidazlar hormonal sinyal iletimi,

toksik bileşiklerin oksidasyonu, bitki savunma sistemi, etilen biyosentezi, suberizasyon ve lignifikasyon gibi pek çok fizyolojik işleve sahiptirler (Sonkar ve ark., 2015).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) tohumları tohumculardan temin edilmiştir. Çalışmada fasulyenin baromaçeşidi kullanılmıştır.

3.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Araştırmamızda kullanılan kimyasallar; triklor asetik asit, potasyum iyodür, hidrojenperoksit, fosforik asit, hekzan, sülfürik asit, potasyum klorür, sodyum klorür, metanol, potasyumhidroksit, kloroform, sodyum karbonat, tiobarbütirik asit, askorbik asit (Carlo Erba) kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan cihaz ve aletler

Manyetik karıştırıcı: Heidolph (Almanya)

Etüv: Nüve (Ankara, Türkiye)

UV spektrofotometre: Jasco 530 V-UV/VIS Spectrophotometer (Japonya)

Soğutmalı mikrosantrifüj: Hettich R22 (Almanya)

Buzdolabı: Regal (Türkiye)

Otomatik pipetler: Eppendorf (Almanya)

pH metre: Hanna (Romanya)

Santrifüj: Nüve (Ankara, Türkiye)

-80° C derin dondurucu: Hettich (Almanya)

Hassas/Analitik terazi: Shimadzu (Osaka, Japonya)

Evaporator: Enviromentalshaker ES – 20 Biosan

3.1.3. Kullanılan çözeltiler

3.1.3.1. Yağ asitlerinin miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

1. Metanol: Kloroform (1: 2)
2. % 1 (w/v) KCl
3. Kloroform
4. % 2 (v/v) H₂SO₄
5. % 5 (w/v) NaCl
6. Hekzan
7. % 2 (w/v) KHCO₃

3.1.3.2. Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

1. % 0.1 (w/v) Triklor asetik asit (TCA)
2. 1M Potasyum İyodür (KI)
3. 10 mM KH₂PO₄ (pH=7)

3.1.3.3. Malondialdehit miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

1. % 0.1 (w/v) Triklor asetik asit (TCA)
2. % 0.5'lik Thiobarbitirik asit (TBA) içeren %20'lik Triklor asetik asit (TCA)

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi

Toprak olarak % 50 torf, %50 bahçe toprağı kullanıldı. Torf ve toprak ayrı ayrı 4mm'lik elek yardımıyla elendi, homojen şekilde karıştırıldı. Topraklar tartılarak 32saksıya eşit miktarda konuldu. Fasulye tohumları %5' liksodyumhipoklorit ile 15- 20 dakika yüzeysel sterilize edildi ve takiben saf su ile durulandı. Daha sonra her bir saksıya 6 tohum ekilerek karanlıkta çimlenmesi sağlandı. Çimlenme sonrası fasulye fideleri üç farklı ortamda büyütülmüştür. 1. Kontrol grubu: Tohumlar çimlendikten sonra 6 adet saksı ışıktaki (15 saat ışıktaki, 9 saat karanlıkta) gelişmeye bırakıldı. 2. De-etiyole grubu: Çimlenmeden 7 gün sonra 7 adet saksı karanlık ortamdan aydınlık (7 gün karanlık+ 7 gün ışık) ortama çıkarılarak bitkilerin büyümeleri sağlandı. 3. Etiyole grup: Saksıların 19 tanesi ise karanlık ortamda gelişimine devam etmesi sağlandı. Saksılar gün aşırı periyodik bir şekilde sulandı. Bitkilerin gelişimleri takip edildi ve çimlenmeden sonra 14 gün sonra ise bitkilerin kökleri ve yaprakları hasat edildi. Bitki numuneleri analiz yapılncaya kadar – 80 C'de derindondurucuda muhafaza edildi.

3.2.2. Malondialdehit tayini

Kontrol ve muamele gruplarından 0.5 g yaprak 5 ml %0.1 (w/v) TCA ile homojenize edilerek 10000g'de 20 dakika santrifüj edildi. 0.5 ml süpernatant üzerine 1 ml % 0.5TBA içeren TCA ilave edilerek 95°C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra buz banyosunda soğutulmak suretiyle reaksiyon durduruldu. Karışım 10 dakika 10000g'de tekrar santrifüj edildi. Spektrofotometre'de 532 nm' de ölçüm yapılarak absorbanları kaydedildi. Non-spesifik absorpsiyonlar için her bir numunenin 600 nm'deki absorbanı da ölçülerek absorbanıdan düşüldü. Numunelerdeki malondialdehit konsantrasyonu $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı (Velikova ve ark., 2000).

3.2.3. Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi

0.3 g yaprak dokusu 3 ml %1' lik (w/v) TCA' dahomojenize edilerek homojenat 12000g de santrifüj edildi. 0.5 ml süpernatant üzerine 10 mM (pH=7) fosfat tamponu ve 1 MKI ilave edildi. Elde edilen karışımın absorbanısı 390 nm' de ölçüldü. Daha sonra hidrojen peroksitten hazırlanan standart grafikten yararlanılarak bitki örneklerindeki hidrojen peroksit miktarı belirlendi (Velikova ve ark.,2000).

Standart grafik için 163 μ M H₂O₂ stok çözeltisinden sırasıyla 50, 100, 200, 300, 400,500 ve 700 μ l pipetlendi. Her bir tüpe 1 ml 1 M KI ilave edildi. Daha sonra son hacimler 10 mM fosfat tamponu ile 2 ml' ye tamamlandı. Hazırlanan tüplerin absorbanısı 390 nm' de okunarak kaydedildi.

3.2.4. Yağ asititayini

Işıklı ortamda büyüyen bitkilerin (kontrol), etiyole ve de-etiyolefidelerinin kök ve yapraklarından alınan 1.30 g taze bitki dokusu etüvde kurutuldu. Kuru numuneler havanda öğütülerek deney tüplerine alındı. 2 ml metanol-kloroform(1:2) karışımı ilave edildi ve süzgeç kağıdıyla süzülerek yeni tüplere alınan örneklerin üzerine tekrar 2 ml metanol-kloroform (1:2) karışımı eklenerek 4500xg de 10 dk santrifüj edildi. Tüplere 3 ml metanol-kloroform (1:2) karışımı ve % 1'lik 1 ml potasyum klorür ilave edilerek vortekslendi. Numuneler 4500xg' de 7 dk santrifüj edilerek bir faz oluştu. Süpernatant kısmı alınıp üzerine 2 ml kloroform ve % 1'lik 1.5ml potasyum klorür çözeltisi konularak örnekler tekrar vortekslendi. Tekrar 4500xg' de 7 dk santrifüj edilen numunelerin süpernatantından 1,5 ml alınarak üzerine %2'lik 5 ml sülfürik asit çözeltisi eklenip parafinle kapatıldı. Tüpler 12–15 saat süresince etüvde 50°C de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra oda sıcaklığında soğuması sağlanan örneklerin üzerine 5 ml %5'lik NaCl ilave edilip vortekslendi ve tüplere 5 ml hekzan ilave edilerek yeni bir faz oluştu. Hekzanlı faz yeni tüplere alınarak üzerine 5ml %2'lik potasyum bikarbonat ilave edildi. Oda sıcaklığında 4 saat bekletilerek üst faz kısmı tekrar tüplere alınarak evaporatörde 42°C' de tamamen uçuruldu. Tüplere 1 ml hekzan konulup örnekler

viallere alındı. Daha sonra numuneler gaz kromatografisicihazına verilerek yağ asidi kompozisyonu ve % miktarları belirlendi.

3.2.5. Gazkromatografisi ve çalışma şartları

- HP 88 model kolon; uzunluk 100m, iç çap 0.25 mm, film kalınlığı 0.20 µm
- Enjeksiyon sıcaklığı 250°C
- Dedektör sıcaklığı 250°C
- Fırın çalışma sıcaklığı: Başlangıç sıcaklık 100°C, sıcaklık 10°C/dk artırılarak 180°C'ye, sonra 2°C/dk artırılarak 230°C'de 5 dk. bekletildi.
- Taşıyıcı gaz: hidrojen akış hızı 40ml/dk, hava gazı 400ml/dk, azot 50ml/dk
- Split oranı: 20/1, split akış hızı: 20.0 ml/dk

3.2.6. Yağ asitlerinin tanımlanması ve hesaplanması

Gaz kromatografisinden elde edilen kromatogramlardaki pikler, standart yağ asitlerinin aynı şartlarda elde edilen kromatogram piklerinin alıkonma sürelerine karşılık gelen pik alanları, standart pik alanlarıyla karşılaştırılarak yağ asitlerinin tanımlanması ve yüzde hesaplanması yapılmıştır.

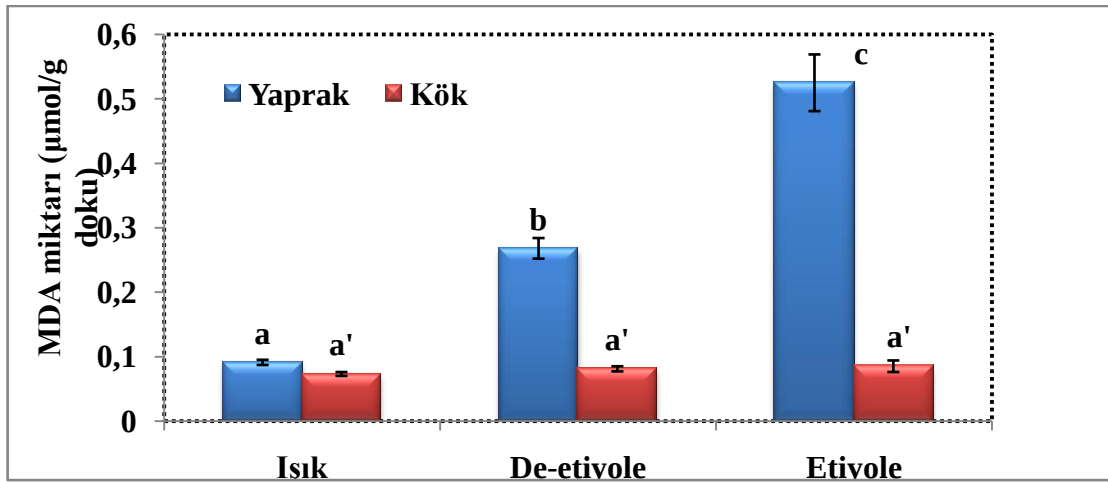
3.2.7. İstatistik analiz

Kontrol ve uygulama gruplarındaki farklılıklar, Duncan çoklu aralık testine göre $p < 0,05$ önemlilik değerinde yapılmıştır. Çalışmada her grup için 3 tekrar yapılmıştır ($n=3$). İstatistikî analizler SPSS for Windows 15.0 Standart version paket programı kullanılarak kontrol ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile yapıldı (Duncan, 1955).

4. BULGULAR

4.1. Malondialdehit Miktarı Bulguları

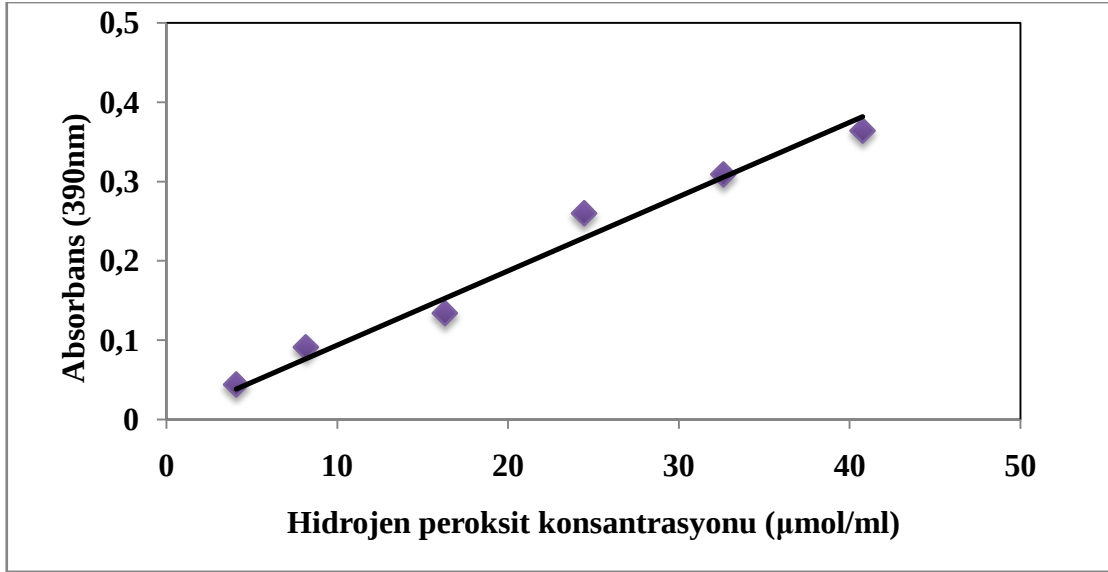
Lipit peroksidasyonu kontrol ve uygulama gruplarında malondialdehit miktarı ölçülerek belirlenmiştir. Kontrol, etiyole ve de-etiyole fasulye fidelerinin kök ve yapraklarında lipid peroksidasyonu Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Etiyole fasulye fidelerinin yapraklarında lipid peroksidasyonunu kontrol grublara göre önemli oranda artırmıştır. Karanlıktan ışığa çıkarılan fidelerin yapraklarında lipid peroksidasyonu etiyole fasulye yapraklarından daha az olmasına rağmen kontrol gruba göre önemli oranda yüksektir ($p<0,05$). Fasulye bitkilerinin köklerinde ışık-karanlık uygulaması lipid peroksidasyonunda istatistiksel açıdan önemli bir değişim meydana getirmemiştir. Karanlıkta yetişen fasulye köklerinde lipid peroksidasyonu kısmi olarak artarken de-etiyole fasulye köklerinde lipid peroksidasyonu kontrol grubu ile karanlık ortamda yetiştirilen bitkilerin kök lipid peroksidasyon değerleri arasında seyretmiştir.



Şekil 4.1. Malondialdehit miktarı bulguları

4.2. Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesinde Kullanılan Standart Grafik

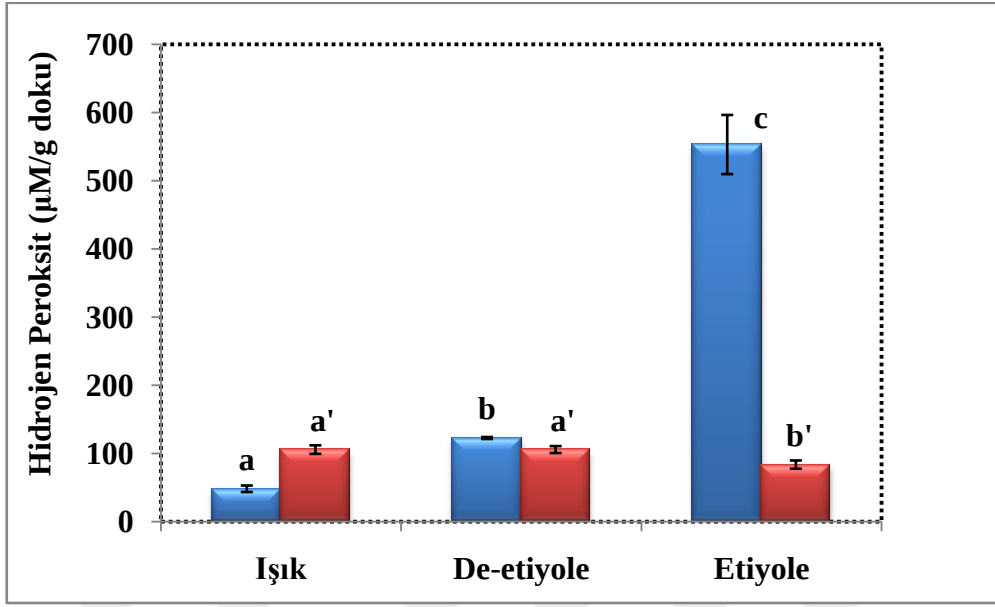
Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesinde kullanılacak olan standart grafik bölüm 4.2.8.'de anlatıldığı gibi hazırlandı. Kontrol, etiyole ve de-etiyolefasulye fidelerinin yaprak ve köklerinde hidrojen peroksit miktarları standart grafikten yararlanılarak belirlenmiştir. Standart çözeltilerin μM hidrojen peroksit karşılık gelen absorbans değerleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2.H₂O₂ miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik

4.3. Hidrojen Peroksit Miktarı Bulguları

Kontrol ve uygulama gruplarında hidrojen peroksit miktarının değişimi Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Karanlık ortamda büyütülen etiyole fasulye yapraklarında hidrojen peroksit miktarı kontrol grubuna göre önemli oranda artmıştır ($p < 0.05$). De-etiyole fasulye yapraklarında hidrojen peroksit miktarı etiyole fasulye yapraklarına göre önemli oranda azalmıştır. Fakat de-etiyole fasulye yapraklarındaki hidrojen peroksit miktarı kontrole göre yinede çok yüksektir. Karanlıkta bırakılan fasulye fidelerinin köklerinde hidrojen peroksit miktarı kontrole göre önemli oranda azalmıştır.



Şekil 4.3. Hidrojen peroksit miktarı bulguları

4.4. Yağ Asiti Tayini Bulguları

Fasulye bitkisinin kök ve yapraklarında meydana gelen total yağ asidi içeriğindeki değişimler % olarak Çizelge2’de gösterildi. Fasulye yapraklarında doymamış yağ asidi yüzdesi köklerden fazla, doymuş yağ asiti yüzdesi ise köklerden daha azdır. Yapraklarda doymuş yağ asitlerinden en fazla olanlar sırasıyla palmitik asit, stearik asit ve lignoserik asit, tekli doymuş asitlerden oleik asit, çoklu doymuş asitlerden linoleik asit, eicosatrienoik asit, linolenik ve linoelaidik asit bulunmaktadır. Fasulye köklerinde doymuş yağ asitlerinden sırasıyla en fazla palmitik asit, stearik asit, heneikosanoik asit ve miristik asit bulunmaktadır. Köklerde tekli doymamış asitlerden palmitoleik asit; çoklu doymamış asitlerden sırasıyla en fazla linoleik asit ve linolenik asit bulunmaktadır. Karanlık-ışık geçişlerinde fasulye fidelerinin yaprak ve köklerinde doymuş yağ asidi yüzdesi artarken doymamış yağ asidi yüzdesi azalmıştır. Karanlık-ışık geçişlerinde fasulye yapraklarında 16:0 ve 18:0 yağ asitleri artarken köklerde azalma gözlenmiş; 18:2 yapraklarda azalırken köklerde artmıştır.

Çizelge 4.1. Kontrol, de-etiyole ve etiyole fasulye yaprak ve köklerinde yağ asidi yüzdeleri

Yağ asidi	Kontrol	De-etiyole	Etiyole	Kontrol	De-etiyole	Etiyole
C10:0	n.d	0.54	n.d	0.22	0.37	0.02
C11:0	0.01	0.57	0.15	n.d	0.11	0.14
C12:0	0.17	1.33	0.26	0.45	0.78	3.50
C14:0	0.31	0.56	0.47	1.25	0.04	0.24
C15:0	0.10	0.20	0.34	0.47	0.08	n.d
C15:1	n.d	0.04	n.d	0.13	0.09	0.05
C16:0	6.70	5.17	2.03	3.05	8.92	6.33
C16:1	0.93	0.56	0.59	1.27	0.97	0.68
C17:0	0.10	0.26	0.21	0.39	0.24	0.10
C18:0	2.48	2.28	1.44	2.23	3.17	3.45
C18:1n9c	8.87	n.d	0.06	0.79	9.29	n.d
C18:1n9t	0.09	3.89	0.89	n.d	2.33	15.71
C18:2n6t	2.68	0.42	2.41	0.33	2.09	0.21
C18:2n6c	52.08	79	73.13	82.73	52.45	66.42
C18:3n3	9.83	1.76	3.02	1.15	7.08	1.93
C18:3n6	0.04	0.74	0.11	0.08	0.08	0.22
C20:0	0.04	0.25	0.22	0.27	0.04	0.05
C20:1	0.04	0.74	0.05	0.07	0.43	0.07
C20:2	0.30	0.20	0.19	1.08	0.16	0.08
C20:3n6	12.9	0.32	9.59	0.48	9.16	0.20
C20:3n3	0.15	0.38	0.58	0.30	0.17	0.04
C20:4	0.02	0.09	0.22	0.36	0.23	0.08
C21:0	0.01	0.07	0.71	2.07	0.22	0.05
C22:1	0.47	0.35	0.51	0.18	0.34	0.10
C23:0	0.09	0.09	0.29	0.21	0.03	0.06
C24:0	1.63	0.16	2.46	0.38	1.13	0.20
MUFA	10.40	5.58	2.10	2.50	13.45	16.61
PUFA	78	82.91	89.25	86.51	70.97	69.20
USFA	88.40	88.49	91.35	89.01	84.89	85.81
SFA	11.64	11.55	8.58	10.99	15.13	14.14

MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri, PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri, USFA: Doymamış yağ asitleri, SFA: Doymuş yağ asitleri, n.d: Belirlenemedi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Işık fotosentez için enerji kaynağı olmasına karşın tohum çimlenmesi, gravitropizm, fototropizm, çiçeklenme zamanı, kloroplast hareketi, gölgeden kaçınma, sirkadian ritim gibi pek çok gelişim olayında rol oynamaktadır. Işığın bitki büyüme olayları üzerinde en belirgin etkisi de-etiolasyon sürecinde görülmektedir. Apikal kancanın açılması, gövde uzamasının durması ve gövdenin kalınlaşması, yaprak büyümesi ve kloroplast oluşumu karanlık-ışık geçişlerinde gözlenen değişikliklerdir. Bitkiler tarafından ışığın algılanmasında fitokrom, mavi ışık reseptörleri ve UV-B reseptörleri rol oynar. Bu pigmentler ışığın yönünü, şiddetini, etki süresini ve dalga boyunu algılayacak donanımına sahiptirler. Arabidopsis'te fitokromlar Fit A, B, C, D ve E olmak üzere beş formda bulunmaktadır. Fit A ve B başlıca fitokromlardır pek çok fizyolojik olay üzerine etkilidirler (Symons and Reid, 2003; Chen and Chory, 2011).

Bitkilerin ilk gelişim safhasında karanlık-ışık dönüşümleri organların yapısını ve büyümesini derinden etkiler. Toprak altındaki genç fidelerde güneş ışığına ulaşmak için hızlı büyüme meydana gelir. Mısır ve buğdaygillerde bu olay çok belirgindir ve koleoptil toprak yüzeyine çıktığında büyüme ışık tarafından inhibe edilir. Farklı fotoreseptörler vasıtasıyla gerçekleşen bu fotomorfogenik olay koleoptildenmesokotile sağlanan indol- 3-asetikasitin azalmasıyla ilgili olduğu varsayılır (Cona ve ark., 2003).

Lipitler biyolojik membranların en önemli bileşenleridir. Biyolojik membranlar hücre zarı ve organel zarlarından meydana gelmektedir. Lipitler genelde membranların geçirgenlik ve akıcılığında sorumludur. Hücre zarı; transport, hücre duvarı biyosentezi, hormon ve fitokrom cevapları ve çeşitli stres faktörlerinin hücreye nüfuzunu engelleme gibi pek çok olayda rol oynar. Hücre organellerinin membranları işlevlerine uygun lipid kompozisyonuna sahiptirler. Çevre şartlarında meydana gelen değişimler özellikle hücre zar yapısının lipid kompozisyonunu değiştirir. Lipit bileşimindeki değişiklikler hücre zarının elastikiyet sınırları içerisinde, membranın geçirgenlik ve akıcılığının korunmasına yöneliktir. Doymuş ve doymamış yağ asidi miktarlarının birbirlerine oranı çevre şartlarına bağlı olarak değişebilmektedir. Yüksek ve düşük sıcaklık streslerinde zar yapısındaki doymuş ve doymamış yağ asidi miktarları zar bütünlüğünün korunması için genotipik kapasiteye bağlı artıp-azalabilmektedir. Hücre çeperi ve zar yapısındaki sıkı paketlenme stres faktörlerinin hücreye girişini

önlemekte veya azaltmaktadır. Biyolojik zarların lipid kompozisyonunu değiştirme potansiyeli bitkilerin çevreyle adaptasyonunda önemli bir özelliktir (Arbaoui and Link, 2008).

Bu çalışmada; karanlık-ışık geçişlerinde yapraklarda doymuş yağ asidi miktarları artarken doymamış yağ asidi miktarları azalma göstermiştir. Fasulye yapraklarında de-etiolasyon sırasında palmitik ve stearik asit miktarları artmıştır. Doymamış yağ asitlerinden linoleik asit yapraklarda en yüksek miktarda bulunmaktadır ve de-etiolasyon sırasında miktarında artış meydana gelmiştir. Linolenik asit miktarının yapraklarda düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar Trémolières ve Lepage (1971) sonuçlarıyla tutarlı değildir. Fasulye köklerinde karanlık-ışık geçişlerinde doymuş yağ asidi miktarında kısmi bir artış meydana gelmiştir fakat köklerdeki doymuş yağ asidimiktari yapraklardan daha fazladır. Palmitik (16:0) ve lignoserik asit (24:0) miktarında artış meydana gelmiştir. Köklerde doymamış yağ asidi miktarları yapraklardan daha azdır. Köklerde en yüksek miktarda bulunan doymamış yağ asidi linoleik asittir (18:2). Dokular arasındaki yağ asidi miktarındaki farklılıklar ve karanlık-ışık geçişlerinde dokulardaki yağ asidi değişimindeki farklar kök ve yaprakların metabolik aktiviteleriyle ilgili olabilir.

Karanlık-ışık geçişlerinde yapraklarda MDA ve H_2O_2 miktarında önemli oranda azalma meydana gelmiştir. Köklerde ise lipid peroksidasyonunda kısmi bir değişim gözlenmiştir. Etiyole fasulye bitkisinin embriyonik ekseninde lipid peroksidasyonunun arttığı rapor edilmiştir (Munro ve ark., 2004). Etiyole bitkilerde hızlı büyüme gerçekleşmesinde aktif oksijen türlerinin katkılarının olduğu özellikle $\cdot OH$ radikali kaynaklı hücre duvarı gevşemesinde etkili olduğu ifade edilmektedir (Cona ve ark., 2003). Karanlık-ışık geçişlerinde bitki yapraklarının yeşillenmesine bağlı olarak fotosentezin artmasıyla antioksidan özellikleresahip sekonder metabolik ürünlerin sentezinde artış meydana gelmektedir (Akgül, 2010). Bu çalışmada, karanlık-ışık geçişlerinde çoklu doymamış yağ asit miktarındaki azalma ve antioksidan enzim ve bileşiklerin sentezlerinde meydana gelen artışın yapraklarda lipid peroksidasyonunun azaltılmasında etkili olabileceği tezini güçlendirmektedir.

KAYNAKLAR

- Akgül, B., 2010. Etiyole fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerinde antioksidan enzim aktivitelerinin ve total fenolik bileşiklerin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Arbaoui, M., and Link, W., 2007. Effect of hardening on frost tolerance and fatty acid composition of leaves and stems of a set of faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. Received: 19 February 2007/ Accepted: 18 July 2007/ Published online: 31 July 2007. Springer Science + Business Media B.V. 2007
- Atmaca, E. ve Aksoy, A., 2009. Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. Yüzüncüyıl Üniv. Veteriner Fak. Dergisi, 20 (82), 79-83.
- Chen, M., Chory, J., 2011. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development. Trends in Cell Biology, 21(11), 664-671.
- Cona, A., Cenci F., Cervelli M., Federico R., Mariottini P., Moreno S. ve Angelini R., 2003. Polyamine Oxidase, a Hydrogen Peroxide-Producing Enzyme, Is Up-Regulated by Light and Down-regulated by auxin in the outer tissues of the maize mesocotyl. Plant Physiology, 131, 803-813.
- Demirci, O., 2006. *Phanerochaete chrysosporium*'ün antioksidatif sistemi üzerine azotazon kırmızı FBL tekstil boyasının etkisi. (Yüksek Lisans Tezi), İnönü Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Duncan, B.D., 1955. Multiple range and multiple F-tests. Biometrics, p. 1- 42.
- Edreva, A., Yordanov, I., Kardjieva R., Gesheva, E., 1998. Heat shock responses of bean plant: involvement of free radicals, antioxidants and free radical/active oxygen scavenging systems. Biologia Plantarum, 2, 185-191.
- Eraslan, F., İnal, A., Savaş Türk, O., ve Güneş, A., 2007. Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. Scientia Horticulturae, 114, 5-10.
- Ertekin, A., Türel, İ., Çelikezen, F. Ç., Yaşar, S., 2008. Isırgan otunun dimetilbenzantrasen uygulanan tavşanlarda lipid peroksidasyonu, antioksidan maddeler ve nitrit-nitrat düzeyleri üzerine etkisi, 2, 11-15.

- Eryılmaz, F., 2007. Bakır (Cu) uygulanmış mısır (*Zeamays*L.) fidelerinde antioksidan aktivitelerin fizyolojik ve anatomik yönden incelenmesi. (Doktora Tezi), İstanbul Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Graham, L.E. Graham, J.M. Wicox, L.W. 2004. Bitki Biyolojisi. Çeviri Editörü: Prof.Dr. Kani Işık. Palme Yayıncılık, Ankara, s. 204-205.
- Gündüz, E., Demirsoy, A., Türkan, İ., 2008. Biyoloji. Palme Yayıncılık, Ankara, s. 822
- Jajic, I., Sarna, T., Strzalka, K., 2015. Senescence, Stress, and Reactive Oxygen species, Plant, 4, 393-411.
- Kısa, D., 2010. Tuz stresinin börülce (*Vigna unguiculata*L.) Yağ asiti içeriğine etkisinin araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Tokat.
- Michalak, A., 2005. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. Institute of Dendrology, Polish Academy of Science, 5, 62-035.
- Mhamdi, A. Queval¹, G. Chaouch, S. Vanderauwera, S. Van Breusegem, F. And Noctor, G., 2010. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. Journal of Experimental Botany, 61 (15), 4197–4220.
- Munro, K. D., Hodges, D.M., DeLong J.M., Forney, C.F., ve Kristie, D.N., 2004. Low temperature effects on ubiquinone content, respiration rates and lipid peroxidation levels of etiolated seedlings of two differentially chilling-sensitive species. Physiologia Plantarum, 121, 488-497.
- Parida, A. K., ve Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60, 324–349.
- Polat, S., 2007. Triticum L.'un bazı çeşitleri ve Aegilops L. türünde düşük sıcaklıkta bazı antioksidan enzim aktivitelerinin ve fizyolojik parametrelerin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Sonkar, K.S. Pachauri, M. Kumar, A. Shukla, A. Patel, M. Jagannadham, M.V. 2015. Heme-peroxidase from medicinal plant *Artocarpus lakoocha*: Purification, characterization and wound healing studies. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2015.03.002>
- Symons, G.M ve Reid, J.B., 2003. Interactions between light and plant hormones

- During de-etiolation. J. Plant Growth Regulation, 22, 3-14.
- Taiz, L. ve Zeiger, E. 2008. Bitki Fizyolojisi, Üçüncü baskıdan çeviri. Editor: Prof. Dr. İsmail Türkan. Palme Yayıncılık, Ankara, s. 591-602.
- Trémolières, A. ve Lepage, M., 1971. Changes in Lipid Composition during Greening of Etiolated Pea Seedlings. Plant Physiology, 47, 329-334.
- Toprak, G., 2007. Cd (II) ve Cu(III) Ağır metal stresi uygulanan *Phanerochaete chrysosporium*'da antioksidan enzimlerde değişen miktarların belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edrava, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. Plant Science, 151, 59-66.
- Yıldız, M. ve Terzi H., 2007. Bitkilerin yüksek sıcaklık stresine toleransının hücre canlılığı ve fotosentetik pigmentasyon testleri ile belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 23 (1-2) 47 – 60.
- Yılmaz, E., Tuna, A.L., Bürün, B., 2011. Bitkilerin tuz stresi etkilerine karşı geliştirdikleri tolerans stratejileri. C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 7(1), 47-66.
- Yoshida, S. ve Uemura, M., 1986. Lipid Composition of Plasma Membranes and Tonoplasts Isolated from Etiolated Seedlings of Mung Bean (*Vigna radiata* L.) Plant Physiology, 82, 807-812.
- Zhang, Y. ve Schroeder, D. F., 2009. Effect of overexpression of Arabidopsis Damaged DNA –binding protein 1A on De-etiolated 1. Planta 231, 337–348.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hayati DEMİR

Doğum Tarihi ve Yer : 1.1.1977 Ünye

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Telefon : 05055815220

e-mail : demirhay52@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	GAZİOSMAN PAŞA ÜNİVERSİTESİ	2012
Lisans	ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ	1999
Lise	ÜNYE İMAM HATİP LİSESİ	1994