

**TRİTİCUM L.'UN BAZI ÇEŞİTLERİ VE AEGİLOPS L.
TÜRÜNDE DÜŞÜK SICAKLIKTA BAZI ANTİOKSİDAN
ENZİM AKTİVİTELERİNİN VE FİZYOLOJİK
PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF SOME ANTIOXIDANT ENZYME
ACTIVITIES AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS
UNDER LOW TEMPERATURE IN SOME CULTIVARS OF
TRITICUM L. AND SPECIES OF AEGILOPS L.**

SEHER POLAT

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

BIYOLOJİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

2007

TRİTİCUM L.'UN BAZI ÇEŞİTLERİ VE AEGİLOPS L. TÜRÜNDE DÜŞÜK SICAKLIKTA BAZI ANTIOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİNİN VE FİZYOLOJİK PARAMETRELERİN ARAŞTIRILMASI

Seher POLAT

ÖZ

Bu araştırmada, hekzaploid ABD genomundan *Triticum aestivum* L. var. *aestivum*'a ait ekmeçlik buğday çeşidi Hawk, tetraploid AB genomundan *Triticum turgidum* L. var. durum (T. durum Desf.)'a ait makarnalık buğday çeşidi Kızıltan-91 ile tetraploid, CD genomundan *Aegilops* L. yabancı buğday türü olan *Aegilops cylindrica*, erken fide evresinde düşük sıcaklık (+1°C, 8 gün) ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık (-10°C, 3 ve 6 saat) stresine maruz bırakılmış ve ardından 7 gün iyileştirme sürecinde kontrol sıcaklığında (20°C) büyütülmüştür. Düşük sıcaklık ve don sıcaklığı uygulamalarından sonra fidelerin gövde uzunlukları ve yaprak dokularında iyon sızıntısı, membran dayanıklılık indeksi ve bazı antioksidan enzimlerin aktiviteleri belirlenmiştir. İyileştirme periyodunun ardından fidelerin gövde taze ve kuru ağırlıkları tartılmış ve gövde uzunlukları ölçülmüştür. Bütün genotiplerin gövde uzunlukları, kontrole göre düşük sıcaklık ile azalmış ve don sıcaklığı ile hemen hemen inhibe olmuştur. Zarlardaki iyon sızıntısı genotiplerin hepsinde düşük sıcaklık ve don sıcaklığı ile kontrole göre artarken; membran dayanıklılık indeksi azalmıştır. Kızıltan çeşidinde, kontrole göre SOD aktivitesinin değişmediği; POD, APX ve GR aktivitelerinin ise azaldığı belirlenmiştir. Hawk ve *Ae. cylindrica* genotiplerinde APX, POD ve SOD enzimlerinin aktiviteleri artarken; GR aktivitesi ise Hawk'ta azalmış, *Ae. cylindrica*'da ise değişmemiştir. İyileştirme sürecinde, düşük sıcaklık uygulaması bitki gelişimini Kızıltan ve *Ae. cylindrica*'da etkilemezken Hawk'ta azaltmıştır. Buna karşın; don sıcaklığında Kızıltan'da büyüme durmuş; Hawk ve *Ae. cylindrica*'da büyüme minimum düzeyde devam etmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan enzim, buğday, düşük sıcaklık, don sıcaklığı, iyon sızıntısı.

Danışman: Prof. Dr. Serpil TERZİOĞLU, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı.

INVESTIGATION OF SOME ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS UNDER LOW TEMPERATURE IN SOME CULTIVARS OF TRITICUM L. AND SPECIES OF AEGILOPS L.

Seher POLAT

ABSTRACT

In this research, a cultivar of Hawk is a bread wheat that is belong to a hexaploid (ABD) *Triticum aestivum* L. var. *aestivum*, a cultivar of Kızıltan-91 is durum wheat that is belong to tetraploid (AB) *Triticum turgidum* L. var. *durum* (T. *durum* Desf.) and a species of *Aegilops cylindrica* is a wild wheat that is belong to tetraploid (CD) *Aegilops* L. were subjected to low temperature at (+1°C for 8 days) and freezing temperature at -10 for 3 and 6 hours during early seedling stage. Following the stress treatments the seedling of the genotypes were subjected to regrowth for 7 days at control temperature (20°C). Length of stem and ion leakage, membrane stability index and some antioxidant enzyme activities of leaves were determined after the stress treatments. At the end of regrowth period, fresh and dry weight and length of stem of genotypes were also determined. In the genotypes, length of stem was decreased by low temperature and nearly stopped by freezing compared to control treatments. Ion leakage of membranes in the genotypes was increased by low temperature and freezing compared to that of the their controls. In contrast to ion leakage, membrane stability index decreased. SOD enzyme activity did not change in Kızıltan, but POD, GR and APX enzyme activities decreased after the low temperature and freezing compared to that of the their controls. Activities of SOD, POD, APX enzymes increased in Hawk and *Ae. cylindrica*, but GR anzyme activity decreased in Hawk and did not change in *Ae. cylindirca*. After the regrowth period, the growth of Kızıltan and *Ae. cylindirca* were not affected by the low temperature, but decreased in Hawk. On the other hand, the seedling of Hawk and *Ae. cylindirca* continued to grow at the minimum level and stopped in Kızıltan by freezing.

Key Words: Antioxidant enzyme, wheat, low temperature, freezing, ion leakage.

Advisor: Prof. Dr. Serpil TERZİOĞLU, Hacettepe University, Department of Biology, Botany Sections.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesi, y¼r¼t¼lmesi ve sonu¼ların değerlendirilmesi aőamalarında değerli katkıları ve y¼nlendirici desteğinden dolayı tez danıőmanım Sayın Prof. Dr. Serpil TERZİOğLU'na (Hacettepe ¼niversitesi, Biyoloji B¼l¼m¼), tez ¼alıőmalarım esnasında y¼ntemlerin oturtulmasında, fikir ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Doğ. Dr. Yasemin EKMEKÇİ'ye (Hacettepe ¼niversitesi, Biyoloji B¼l¼m¼), enzim analizlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Araő. Gör.Tuğçe KALEFETOğLU'na (Hacettepe ¼niversitesi, Biyoloji B¼l¼m¼), y¼ksek lisans tezimin yazım aşamasında yardımlarını ve arkadaőlığını esirgemeyen Doktora oğrencisi Beycan AYHAN'a (Hacettepe ¼niversitesi, Biyoloji B¼l¼m¼) teőekk¼r ederim.

B¼t¼n hayatım boyunca sevgi ve yardımlarını esirgemeyen, hayatlarını benim i¼in arka plana koyan, oğrettikleri ile hayatıma şekil veren değerli ANNE ve BABA'ma, her zaman yanımda olduğunu hissettiğim AğABEY' ime teőekk¼r ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Bitkilerde stres.....	4
2.1.1. Stres kavramı ve stres faktörleri.....	4
2.1.2. Strese karşı bitki tepkileri.....	6
2.1.2.1. Stres'ten kaçınma.....	6
2.1.2.2. Stres'e tolerans.....	6
2.2. Strese maruz kalan bitkide ortaya çıkan fazlar.....	6
2.2.1. Tepki fazı	6
2.2.2. Onarım fazı	7
2.2.3. Rejenerasyon fazı	7
2.2.4. Bitiş fazı.....	7
2.3. Sıcaklık stresi.....	7
2.3.1. Düşük sıcaklık stresi.....	8
2.3.2. Düşük sıcaklık stresinin neden olduğu zararlar.....	9
2.3.3. Don sıcaklık stresi ve neden olduğu zararlar.....	11
2.3.4. Düşük sıcaklık uyumu ve don sıcaklığına toleransın sağlanmasındaki rolü.....	13
2.4. Oksidatif stres ve reaktif oksijen türleri	15
2.4.1. Bitki hücrelerinde reaktif oksijen kaynakları.....	16
2.4.2. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu zararlar.....	20
2.5. Düşük sıcaklık ve don sıcaklığına karşı oluşturulan bitkisel tepki.....	22
2.5.1. Antioksidan sistem.....	22
2.5.1.1. Enzimatik sistem.....	22
Süperoksit dismutaz (SOD).....	23
Katalaz (CAT).....	23

Peroksidaz (POD).....	24
Askorbat peroksidaz (APX).....	25
Glutasyon redüktaz (GR).....	25
2.5.1.2. Enzimatik olmayan antioksidan sistem.....	25
Glutasyon.....	26
Askorbik Asit.....	26
Tokoferol	27
Antioksidan olan fenolik bileşikler:.....	28
Halliwell-Asada döngüsü.....	28
2.5.2. Antifiriz proteinlerinin sentezi (AFP).....	30
2.6. Bitkilerde stres iletimi.....	32
2.6.1. Redoks/H ₂ O ₂ kaynaklı sinyal iletimi.....	33
2.6.2. Hücre çeperi - plazma zarı arayüzeyindeki sensör sistemler.....	34
2.6.2.1. Reseptör benzeri kinazlar (RLK _s).....	34
2.6.2.2. Mekanik algılayıcılar	35
2.6.2.3. Strese duyarlı kalsiyum kanalları	36
2.7. <i>Triticum</i> L. ve <i>Aegilops</i> L.'un tarihi ve yayılış alanları	39
2.8. <i>Triticum</i> L. ve <i>Aegilops</i> L. cinslerinin sistematığı.....	43
2.9. Buğdayın sitogenetiği.....	43
2.10. Buğdayın morfolojisi.....	44
2.11. Buğday ıslahında <i>Aegilops</i> 'ların kullanımı.....	46
2.12. Buğdayın ekonomik önemi.....	46
3. MATERYAL VE METOTLAR	
3.1. Kimyasallar.....	48
3.2. Bitki materyali.....	48
3.3. Bitki yetiştirme yöntemi.....	48
3.3.1. Bitki yetiştirme ortamı olarak perlit.....	49
3.4. Bitki yetiştirme koşulları.....	49
3.5. Sıcaklık uygulamaları.....	50
3.6. Belirlenen bazı parametreler.....	51
3.6.1. Gövde uzunluğu.....	51
3.6.2. Gövde taze ve kuru ağırlığı.....	51
3.6.3. Gövde su miktarı.....	52
3.6.4. Yaprak dokularında iyon sızıntısı.....	52
3.6.5. Yaprak dokularında membran dayanıklılık indeksi.....	52

3.6.6. Bazı antioksidan enzim aktiviteleri.....	53
3.6.6.1. Protein miktarı.....	53
3.6.6.2. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi.....	54
3.6.6.3. Glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi.....	55
3.6.6.4. Peroksidaz (POD) enzim aktivitesi	55
3.6.6.5. Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi	56
3.7. İstatistiksel analizler	56
4. BULGULAR	
4.1. <i>Aegilops</i> L. türü ve <i>Triticum</i> L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının bazı parametreler üzerine etkisi.....	57
4.1.1. Gövde uzunluğu	57
4.1.2. Yaprak dokusundaki iyon sızıntısı	59
4.1.3. Yaprak dokusundaki membran dayanıklılık indeksi (MDI).....	60
4.1.4. Gövde taze ağırlığı.....	61
4.1.5. Gövde kuru ağırlığı.....	62
4.1.6. Gövde su miktarı.....	62
4.2. <i>Aegilops</i> L. türü ve <i>Triticum</i> L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi.....	63
4.2.1. Toplam süperoksit (SOD) aktivitesi.....	64
4.2.2. Toplam peroksidaz (POD) aktivitesi.....	65
4.2.3. Toplam askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi.....	66
4.2.4. Toplam glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi.....	67
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	
5.1. <i>Aegilops</i> L. türü ve <i>Triticum</i> L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının gövde uzunluğu üzerine etkisi.....	69
5.2. <i>Aegilops</i> L. türü ve <i>Triticum</i> L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının yaprak dokusundaki iyon sızıntısı ve membran dayanıklılık indeksi üzerine etkisi.....	73
5.3. <i>Aegilops</i> L. türü ve <i>Triticum</i> L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının gövde taze ve kuru ağırlığı ve yüzde su miktarı üzerine etkisi.....	75
5.4. <i>Aegilops</i> L. türü ve <i>Triticum</i> L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi.....	79
6. ÖNERİLER.....	86

KAYNAKLAR DİZİNİ.....	88
EKLER.....	110
EK 1. Kullanılan kimyasallar ve formülleri.....	110
EK 2. Hewitt stok besin çözeltisi.....	111
ÖZGEÇMİŞ.....	112

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Stres faktörleri ve bunların çoklu ilişkileri.....	5
Şekil 2.2.	Bitkilerde düşük sıcaklığa uyum esnasında meydana gelen metabolik değişiklikler.....	14
Şekil 2.3.	Singlet oksijen oluşumu.....	15
Şekil 2.4.	Bitki hücresindeki ROS kaynakları.....	19
Şekil 2.5.	Serbest radikallerin etkisinin antioksidan ile uzaklaştırılması.....	22
Şekil 2.6.	Askorbat-glutasyon döngüsü.....	29
Şekil 2.7.	Kışlık çavdar (<i>Secale cereale</i>) bitkisinde antifiriz (AFP) ve patojen ilişkili proteinlerin (PR) regülasyonu.....	31
Şekil 2.8.	Orta ve yüksek şiddetteki stres faktörlerine karşı oluşturulan tepkide sinyal iletiminin basit şeması.....	38
Şekil 2.9.	Verimli Hilal olarak tanımlanan ve bugünkü İran, Irak, Türkiye, Suriye, Lübnan, İsrail ve Filistin'i kapsayan yay biçimindeki bölgenin harita üzerindeki gösterimi.....	40
Şekil2.10.	Hititlere ait Konya yakınlarındaki İvriz kaya kabartması.....	42
Şekil 3.1.	Soğuk odanın genel görünümü.....	50
Şekil 3.2.	Protein standart grafiği.....	54
Şekil 4.1.	Sıcaklık uygulamalarının 15. günde, Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> 'nın gövde uzunluğu üzerine etkisi.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ devamı

Şekil 4.2.	Sıcaklık uygulamalarının 22. günde, Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> 'nın gövde uzunluğu üzerine etkisi.....	58
Şekil 4.3.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> 'nın yaprak dokusundaki iyon sızıntısı üzerine etkisi.....	59
Şekil 4.4.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> 'nın yaprak dokusundaki membran dayanıklılık indeksi üzerine etkisi.....	60
Şekil 4.5.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> 'da gövde taze ağırlığı üzerine etkisi.....	61
Şekil 4.6.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> 'da gövde kuru ağırlık üzerine etkisi.....	62
Şekil 4.7.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> 'da gövde su içeriği üzerine etkisi.....	63
Şekil 4.8.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> yapraklarındaki toplam SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	64
Şekil 4.9.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> yapraklarındaki toplam POD enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	65
Şekil 4.10.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> yapraklarındaki toplam APX enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	66
Şekil 4.11.	Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve <i>Ae.cylindrica</i> yapraklarındaki toplam GR aktivitesi üzerine etkisi.....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

- Çizelge 1.** Kontrol uygulamasında genotiplerin 7., 15. ve 22. günde belirlenen gövde uzunlukları..... 70
- Çizelge 2.** Genotiplerin sıcaklık uygulamalarından sonra 15-22 gün iyileşme sürecindeki fidelerde belirlenen büyüme hızları..... 71
- Çizelge 3.** Genotiplerde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde uygulanan don sıcaklık uygulamalarında belirlenen antioksidan enzim aktivitelerinin kontrole göre değişimi..... 82

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA	Askorbik asiti
ABA	Absisik asit
AFP	Antifiriz protein
AGP _s	Arabinogalaktan proteinler
ATP	Adenozin trifosfat
ATPaz	Adenozin trifosfataz
ROS	Reaktif oksijen türü
APX	Askorbat peroksidaz
BSA	Bovin serum albumin
CAT	Katalaz
CHT	Kitinaz
Cu ⁺²	Bakır iyonu
Cu/ZnSOD	Bakır/Çinko süperoksit dismutaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
DHA	Dehidroaskorbat
dH ₂ O	Distile su
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ETC	Elektron transfer zinciri
ER	Endoplazmik retikulum
FeSOD	Demir Süperoksit dismutaz
Fe ²⁺	Demir iyonu
GPCR _s	G-protein çifti reseptörleri
GSSG	Okside glutatyon
GSH	İndirgenmiş glutatyon
GLU	Glukonaz
GR	Glutatyon redüktaz
HO ₂ ⁻	Perhidroksil radikali
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
KCN	Potasyum siyanür
LOX	Lipoksijenaz

LP	Lipid peroksidasyonu
MAPK _s	Mitogen aktivasyonlu protein kinaz
MDI	Membran dayanıklılık indeksi
MDAR	Monodehidro askorbat redüktaz
MnSOD	Mangan süperoksit dismutaz
NADPH	İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NaOCl	Sodyum hipoklorid
NBT	Nitroblue tetrazolyum
¹ O ₂	Singlet oksijen
O ₂ ⁻	Süper oksit anyonu
OH [·]	Hidroksil radikali
PUFA	Çoklu çift bağa sahip doymamış yağ asidi
PA	Fosfotidik asit
PLD	Fosfolipaz D
PtdOH	Fosfotidil alkol
PLC	Fosfolipaz C
PIP ₂	Fosfotidilinositol-4,5-bifosfat
PVP	Polivinilpirolidon
POD	Peroksidaz
PSI	Fotosistem I
PSII	Fotosistem II
ROO [·]	Peroksil radikali
ROOH	Organik hidroperoksit
RO [·]	Alkoksil radikali
RLKs	Reseptör benzeri kinazlar
R [·]	Lipid radikali
SA	Salisilik asit
SOD	Süperoksit dismutaz
TLP	Thauman benzeri protein
TRP	Kısa süreli reseptör potansiyelli kanal proteini
IP ₃	İnositol-1,4,5-trifosfat
UV	Ultraviyole
WAKs	Hücre duvarı ilişkili kinazlar
μmolm ⁻² s ⁻¹	Mikromol metre ⁻² saniye ⁻¹

1. GİRİŞ

İklim değişikleri, doğal sebeplere (Güneş yüzeyinde meydana gelen lekeler, yanardağ patlamaları vb.) ve insan faaliyetlerine (endüstrinin yarattığı kirlilik ve tarımsal faaliyetler) bağlı olarak meydana gelmektedir. Troposfer sıcaklığı, sera etkisine sebep olan ozon, karbon dioksit, diazot monoksit, su buharı gibi gazlar ile artarken, aksine insan aktiviteleri ve yanardağ faaliyetleri sonucunda açığa çıkan toz bulutu, güneşten gelen sıcaklığı engelleyerek yeryüzünün soğumasına neden olmaktadır (Boşgelmez vd., 2000).

Stres, kısaca yaşam için gerekli optimum koşullardan sapma olarak tanımlanır (Taiz and Zaiger, 1998). Tarım alanlarında yetişen bitkiler büyüme ve gelişimleri sırasında hayvanlar ve mikroorganizmalar gibi biyotik ve düşük/yüksek sıcaklık ve kuraklık gibi abiyotik çevresel streslere maruz kalmaktadırlar. Yüksek ve düşük sıcaklık, şiddet ve sürelerine bağlı olarak metabolik aktiviteyi, büyüme ve gelişmeyi etkiler. Tropik ve yarı tropik bitkiler genellikle 15-45°C'de gelişme göstermektedir. Bu sınırın alt ve üst sıcaklık derecelerinde, bitkilerin bölgelere göre yayılışları, metabolizma ve ürünün nitelik ve niceliği ciddi şekilde etkilenmektedir (Kacar vd., 2002).

Düşük sıcaklık stresi, genelde 0°C ile 15°C arasında tropik ve yarı tropik bitkilerde görülmektedir. Düşük sıcaklık stresi, bitki türüne göre değişiklik göstermektedir. Düşük sıcaklıkta zarar gören organeller arasında kloroplast, mitokondri, vakuol ve bu organellerle ilişkili zarlar yer almaktadır (Christiansen and St. John, 1981). Suyun donma sıcaklığının (<0°C) altındaki sıcaklık, **don sıcaklığı** olarak tanımlanır. Donma zararı, buz kristalleri oluşumu sonucu; hassas zarlarda hücre organizasyonunun bozulması ve dokuların su içeriğinin azalması ile kademeli olarak ortaya çıkan kuraklığa (fizyolojik kuraklık) bağlı olarak meydana gelir. Bazı grup bitkilerin don sıcaklıklarına karşı tolerans kazanabilmesi için, belirli bir süre düşük, fakat sıfırın üzerindeki sıcaklıklara maruz kalması gerekmektedir. Bu olay '**düşük sıcaklığa uyum**' olarak bilinir. Düşük sıcaklığa uyumda birçok fiziksel ve biyokimyasal değişiklik meydana gelir. Bunlar arasında en çok dikkate değer değişiklikler; büyümenin minimum seviyede tutulması veya yavaşlaması, doku su içeriğinin azalması (Lewitt, 1980), absisik asit seviyesinin geçici olarak artması (Chen et al., 1983), hücre zarlarının lipid kompozisyonundaki değişiklikler (Lynch

and Steponkus, 1987; Uemura and Steponkus, 1994), prolin, betain ve çözünebilir şekerler gibi osmolitlerin birikimi, antioksidan seviyesinin artışı yer alır (Koster and Lynch, 1992; Kishitani et al., 1994; Murelli et al., 1995; Nomura et al., 1995; Dörffling et al., 1997; Tao, et al., 1998).

Düşük sıcaklık stresinin, zar lipidleri, nükleik asitler ve proteinlere zarar vererek hücre ölümlerine neden olan (Kendall and McKersie, 1989), singlet oksijen, hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri (ROS) konsantrasyonunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Okuda et al., 1991; Wise and Noylar, 1987). ROS, etkili bir şekilde yok edilmedikçe, hızlı bir şekilde okside olur ve hücre zar lipidlerine, protein, DNA ve diğer hücre sel bileşenlere zarar vererek hücre sel ölümlere ya da nekrotik zonların oluşmasına neden olmaktadır (Doke, 1997; Foyer and Noctor, 2005). Aerobik organizmalar biyotik ya da abiyotik orjinli ROS'un etkisini minimuma indirgemede enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemine sahiptirler. Enzimatik sistemde yer alan süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1), katalaz (CAT; EC 1.11.1.6), peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7), askorbat peroksidaz (APX; EC 1.1.1.11), glutatyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) gibi enzimler, antioksidan moleküllerin sentezini, parçalanmasını, geri kazanılmasını ve ROS'un hücre den doğrudan uzaklaştırılmasını katalizler.

Poaceae grubunu oluşturan buğday (*Triticum*), arpa (*Hordeum*), çavdar (*Secale*), yulaf (*Avena*), mısır (*Zea*), çeltik (*Oryza*) ekiliş ve üretim yönünden tarla bitkileri arasında en önemli yere sahiptir. Ülkemizde 1990 yılında 9,3 milyon hektar olan buğday ekim alanı ve 14,07 milyon hektar olan tahıl ekim alanı günümüzde de aynı sınırlarda (FAO, 2005) olup önemini korumaktadır.

Dünyada insanların aldıkları günlük kaloringin %50'sinden fazlası tahıllarla karşılanmaktadır ve daha spesifik olarak bakılacak olursa Avrupa'nın günlük kalori ihtiyacının %30'dan fazlası, Türkiye'nin ise %53'ü ekmek ve diğer buğday ürünlerinden karşılanmaktadır.

Abiyotik streslerin en önemlilerinden biri olan düşük sıcaklık stresi, normal büyüme ve gelişmeyi engellerken; tahıl bitkilerinde ürünün miktarını ve besin kalitesini düşürmektedir (Sachs and Ho, 1986; Sung et al., 2003). Artan dünya nüfusu ve insanların daha sağlıklı beslenme isteklerine paralel olarak stres koşulları tarımsal

verimi azaltmakta ve ürün kalitesini düşürmektedir. Bunun sonucu olarak çevresel streslere karşı dayanıklılığın geliştirildiği etkin araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

Bu araştırmanın amacı, birbirine yakın akraba olan *Triticum aestivum* L.'un iki çeşidi ve *Aegilops* L.'un bir türünde düşük sıcaklık ve don sıcaklığı toleransını morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreler kullanarak belirlemek ve tolerans ile genotipler arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Bu nedenle, *Triticum aestivum* L.'un Kızıltan ve Hawk çeşitlerine ve *Aegilops* L.'un *Ae. cylindrica* türüne ait özenle seçilen tohumlar 7 gün kontrol şartlarında (20°C) büyütülmüş; ardından düşük sıcaklık (+1°C) ve düşük sıcaklığı takiben 3 ve 6 sa don sıcaklık (-10°C) uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Düşük ve don sıcaklık uygulamalarının bitiminde ve 7 gün kontrol sıcaklığında büyütmenin ardından yapılan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin analizleri ile genotiplerin toleransları belirlenmiştir. Sonuçlar genotipik farklılıklar esas alınarak tartışılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerde stres

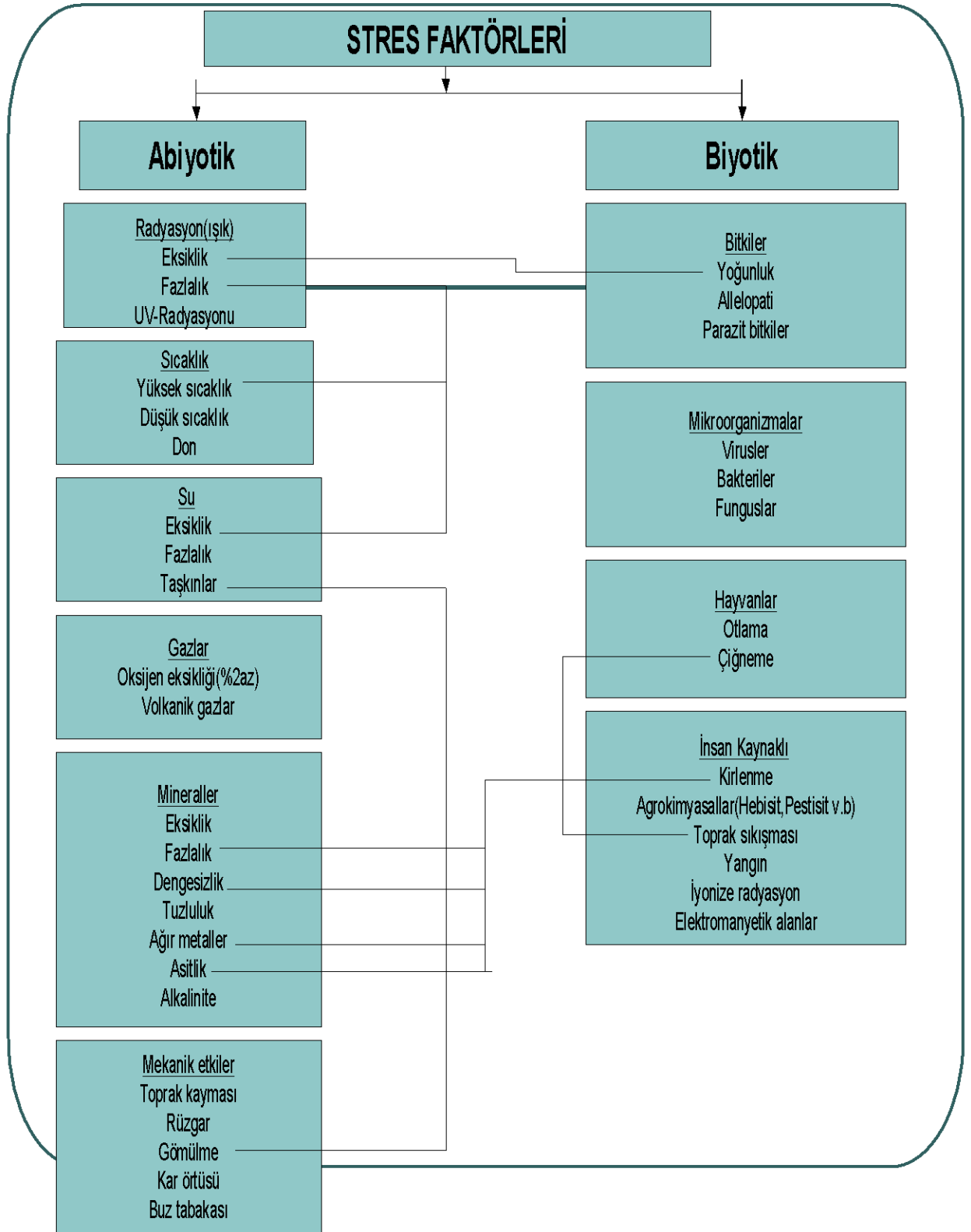
2.1.1. Stres kavramı ve stres faktörleri

Stres, yaşam için optimal olan koşullardan önemli sapmalar olarak açıklanır (Taiz and Zeiger, 1998). Bitkide metabolizmayı, büyüme ve gelişmeyi etkileyen veya engelleyen, uygun olmayan herhangi bir durum veya madde **stres faktörü** olarak tanımlanır (Mahajan and Tuteja, 2005). Genel olarak biyotik ve abiyotik olmak üzere iki grupta sınıflandırılan stres faktörleri Şekil 2.1'de verilmiştir (Larcher, 1995). Bitkiler yaşamları boyunca birçok stres faktörü ile karşılaşabilirler ve bitkilerin stressiz bir ortamda yaşamaları nadir bir olay olup, bu durum **sıfır stres** olarak adlandırılır.

Stres faktörleri, bitkiler üzerine ender olarak tek başlarına etki etmelerine rağmen genellikle eş zamanlı olarak meydana gelirler. Stres faktörlerinin birlikte etki göstermesi, bitkinin tek bir stres faktörüne olan tepkisini kuvvetlendirilebilir, zayıflatabilir, örtebilir veya tersine çevirebilir (Gürel ve Avcıoğlu, 2001).

Bir bitkinin strese maruz kalıp kalmadığı bu bitkinin optimum yetiştirme koşullarındaki davranışıyla yapılacak bir karşılaştırma ile anlaşılabilir. Stres faktörü ya da faktörlerine maruz kalan bir organizmada meydana gelebilecek spesifik olmayan etkileri, zar özelliklerindeki değişiklikler, solunumun artışı, fotosentezin engellenmesi, kuru madde üretiminin azalması, büyümedeki gerileme, verimliliğin azalması ve vaktinden önce senesens oluşturmasıdır (Gürel ve Avcıoğlu, 2001).

Metabolik bozulma nedeniyle, hücre içi enerji üretimindeki azalma veya tamir sentezleri için enerji tüketimindeki bir artış, stres durumunun erken belirtisi olarak da kabul edilmektedir (Larcher, 1995; Edreva, 1998).



Şekil 2.1. Stres faktörleri ve bunların çoklu ilişkileri (Larcher, 1995'den değiştirilerek alınmıştır).

2.1.2. Strese karşı bitki tepkileri

Bitkilerde stres faktörlerine karşı iki farklı tepki gözlenmektedir. Bunlar; stres faktörlerinden **kaçınma** ve strese karşı **tolerans**'tır.

2.1.2.1. Stres'ten kaçınma

Kaçınma, stres faktörlerinin bitki dokularına girişinin önlenmesi veya azaltılması olarak ifade edilir. Bu mekanizma; yaprak ayasının kalınlığı ve alanı, kütikulanın kalınlığı, stomaların büyüklüğü ve yoğunluğu gibi bitkinin çevre ile temas halinde olduğu yüzeylerinde morfolojik ve kimyasal kompozisyonudaki değişiklikler ve/veya stres olayından önce dormant ontogenetik faz olan tohum veya yumru oluşumu ile bitki üretkenliğinin garanti altına alınması ile sağlanabilir (Gürel ve Avcioglu, 2001).

2.1.2.2. Stres'e tolerans

Tolerans, stres faktörlerinin etkisini elimine etme, azaltma veya tamir etme mekanizmaları olarak ifade edilir. Tolerans, doku seviyesindeki değişiklikleri (sakızların, yara periderminin oluşumu gibi), subselüler seviyedeki değişiklikleri (çeper ilavelerinin; zar, kloroplast ve hücre çeper modifikasyonları gibi), moleküler (sekonder metabolitlerin, polisakkaritlerin, fenol polisakkaritlerin, stres proteinlerin oluşumu gibi) ve submoleküler seviyedeki değişiklikleri kapsamaktadır (Edreva, 1998).

2.2. Strese maruz kalan bitkide ortaya çıkan fazlar

Stres faktörleri veya kompleks stres olayları, bitkilerin strese karşı üç tepki fazını ve eğer zarar çok şiddetli değilse, bu stres faktörleri uzaklaştırıldıktan sonra dördüncü olarak rejenerasyon fazını geçirmelerine yol açmaktadırlar. Böylece stres süresince organizma, karakteristik bir fazlar dizinini izlemektedir (Larcher, 1995; Lichtenthaler, 1996).

2.2.1. Tepki fazı (alarm reaksiyonu)

Bitkide optimum gelişim için gereksinim duyulan protein gibi yapısal moleküllerde ve fotosentez gibi fizyolojik olaylarda sapmalar meydana gelmekte ve

katabolizmanın anabolizmaya üstün olduğu bir stres reaksiyonu ile alarm fazı başlamaktadır. Bu fazda bitkide gelişim gerilemektedir.

2.2.2. Onarım fazı (dayanıklılık aşaması)

Stres yoğunluğunun değişmeden devam etmesi durumunda koruyucu madde ve protein sentezi gibi tamir ve adaptasyon olayları bitki tarafından hızla başlatılmaktadır. Bu olayların başlatılması ile devam eden stres koşulları altında koruyucu madde ve protein sentezinin optimum seviyeye çıkması ile bir dayanıklılık fazına geçiş meydana gelmektedir.

2.2.3. Rejenerasyon fazı (kısmi veya tam rejenerasyon)

Zararın çok yüksek olmadığı durumlarda, stres faktörlerinin etkisinin azalması veya tamamen kaybolmasıyla birlikte bitkide fizyolojik fonksiyonların kısmi veya tam rejenerasyonu ile zararlar tamir edilmektedir. Stres süresi ve yoğunluğu çok uzun ve yüksek değilse, bitkiler minimum ve maksimum dayanıklılık aralığı içerisinde kendilerini düzenlemeye çalışırlar (Larcher, 1995; Lichtenthaler, 1996; Edreva, 1998).

2.2.4. Bitiş fazı (tükenme dönemi)

Stres dönemi çok uzun sürerse veya stres faktörünün şiddeti artarsa tükenme dönemi ortaya çıkar. Bu fazda tolerans sınırı aşılmakta ve bitkide kalıcı zararlar ortaya çıkmakta hatta bu faz ölüm ile sonuçlanmaktadır.

2.3. Sıcaklık stresi

Sıcaklığın yükselmesi ya da düşmesi, madde moleküllerinin yüksek veya düşük kinetik enerjisi ile karakterize edilen termodinamik olgulardır. Yüksek sıcaklık moleküllerin hareketini hızlandırırken makromoleküller arasındaki bağların gevşemesine ve biyomembranların lipid tabakalarının daha fazla akışkan olmasına neden olur. Buna karşın düşük sıcaklıkta biyomembranlar sertleşir ve biyokimyasal işlevlerinin aktive edilebilmesi için daha fazla enerjiye gereksinim duyulur. Donma suyun katı şekle dönüşümünün olgusudur ve bu nedenle bitkilerde yaşamsal işlevler için büyük önem taşır (Kacar vd., 2002).

Sıcak ve soğuk, şiddet ve sürelerine bağlı olarak metabolik aktiviteyi, büyüme ve gelişmeyi etkileyerek bitki çeşitlerinin ülkelere ve bölgelere göre dağılımını sınırlar. Çoğu bitki genellikle 15-45°C'de gelişme gösterir. Bu sınırın alt ve üst sıcaklık derecelerinde, bölgelere göre bitkilerin büyümeleri ve metabolizmaları ile ürünün nitelik ve niceliği ciddi şekilde etkilenir (Kacar vd., 2002).

Canlılar doğada üç farklı sıcaklık stresi ile karşılaşır. Bunlar; yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık (üşüme) ve don sıcaklığı stresleridir. Düşük ve don sıcaklık stresleri genel olarak 'soğuk' terimi içinde yer alan iki kavramdır.

2.3.1. Düşük sıcaklık stresi

Düşük sıcaklık stresi genelde 0°C ile yaklaşık 15°C arasında (Kacar vd., 2002) olup, bu sıcaklık aralığı bitki türüne göre değişiklik göstermektedir. Tropikal orijinli birçok bitki gibi subtropikal orijinli birçok bitkide düşük sıcaklığa karşı duyarlıdır. Dünya tahıl üretiminde büyük orana sahip olan mısır (*Zea mays*) ve pirinç (*Oryza sativa*) bitkileri düşük sıcaklık stresine hassas türler olup, bitkilerin büyüme ve gelişmesini etkileyen 10°C'nin altındaki sıcaklık derecesi bitkilerde ürün kaybına neden olmaktadır. Pamukta fide aşamasında meydana gelen düşük sıcaklık stresi aynı zamanda su stresi ve yaprak dehidrasyonuna neden olur, bitki boyunu azaltır, çiçeklenmeyi erteler, ürün ve lif kalitesini olumsuz olarak etkiler. Örneğin; ekimi takiben meydana gelen düşük sıcaklık stresi pamuk endüstrisinde 60 milyon dolar zarara neden olmuştur (Christiansen and St. John, 1981). Domates (*Lycopersicon esculentum*), salatalık (*Cucurbita sp.*), soya (*Glycine max L.*) ve diğer tahıl ürünleri gibi ekimden sonra düşük sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde, ürün azalır ve olgunlaşma ertelenir (Fowler and Limin, 2003).

Tohumlu bir bitkide çimlenmeden tohum oluşumuna kadar olan süreci tanımlayan fizyolojik yaş, düşük sıcaklık hassasiyetini etkiler. Örneğin, düşük sıcaklığa hassas olan türlerde, suyu soğuran tohum ve polenin gelişim basamağı gibi evreler düşük sıcaklığa daha fazla hassastır. Yüksek sıcaklıkta olgunlaşan meyve, düşük sıcaklıkta olgunlaşan meyveye oranla düşük sıcaklığa karşı daha fazla hassastır. Düşük sıcaklığa hassas dokularda, yaralanmanın derecesi azalan sıcaklık ve maruz kalınan düşük sıcaklık süresi ile artar (Fowler and Limin, 2003).

Bitkiler düşük sıcaklık toleranslarına göre üç grupta incelenebilir (Sutka and Galiba, 2003):

a) Düşük sıcaklığa duyarlı (hassas) bitkiler, 12°C altında zarar görebilirler. Örneğin, muz (*Musa sapientum*).

b) Düşük sıcaklığa dayanıklı fakat donmaya duyarlı bitkiler, 12°C altındaki sıcaklıklara uyum gösterebilirler fakat 0°C altındaki sıcaklıklarda yaşamlarını sürdüremezler. Örneğin, domates (*Lycopersicon esculentum*).

c) Donmaya dayanıklı bitkiler, düşük sıcaklığa uyum sağlayabilir ve sıfırın altındaki sıcaklıklarda da yaşamlarını sürdürebilirler. Örneğin, otsu veya odunsu ılıman iklim kuşağı bitkileri.

Düşük sıcaklık, bazı hücresel işlevleri geri alarak ve diğerlerini yavaşlatarak hücrenin bütün metabolik sistemini değiştirmektedir. Düşük sıcaklık her hücrenin iç yapısını, hücre içindeki her molekülü, enzimatik reaksiyonları, substrat-difüzyon hızını ve zarın taşıyıcı özelliklerini etkiler. Bu yüzden düşük sıcaklık zararları bu etkilerin doğrudan sonucudur (Kratsch and Wise, 2000).

2.3.2. Düşük sıcaklık stresinin neden olduğu zararlar

Yapılan ilk araştırmalar, düşük sıcaklığın bitkide bozulmalara neden olduğu fizyolojik işlevler üzerine yoğunlaşmıştır. Düşük sıcaklık, O₂ evrimini, organik asit, şeker, polifenol, protein ve ATP'yi etkiler. Yapılan araştırmalar, düşük sıcaklığın, düşük sıcaklığa duyarlı bitkilerde bazı kimyasal maddelerin konsantrasyonunu değiştirdiğini göstermektedir; etanol ve asetaldehit gibi toksik maddelerin biriktiğine dair kanıtlar vardır. Zar permeabilitesindeki değişikliklerden kaynaklanan iyon sızması, düşük sıcaklığa duyarlı bitkilerde bildirilmiştir (Fowler and Limin, 2003).

Organel seviyesinde meydana gelen bazı zararlar düşük sıcaklıkla ilişkilidir. Çok çeşitli düşük sıcaklık zararları olmasına rağmen farklı türlerde meydana gelen organel seviyesindeki düşük sıcaklık zararları benzerdir. Organel seviyesindeki düşük sıcaklık zararları; net, gözle görülebilir fiziksel değişikliklerden önce düşük sıcaklık zararlarına dair kanıt olmaktadır. Zarar gören organeller arasında kloroplast, mitokondri, vakuol ve bu organellerle ilişkili zararlar yer almaktadır (Christiansen and St. John, 1981). Bu zararlar, kloroplast ve mitokondrinin

organizasyonun bozulmasını ve şişmesi, nişasta granüllerinin sayısının ve büyüklüğünün azalmasını, kloroplast periferel retikulumunda küçük veziküllerin oluşumunu, kloroplastta lipid damlalarının birikimini ve nukleus kromatinlerinin yoğunlaşmasını kapsar (Kratsch and Wise, 2000).

Kloroplast ilk ve en çok zarar gören organel olup, düşük sıcaklık esnasındaki ışık, zararın daha fazla artmasına neden olmaktadır. Karanlıkta düşük sıcaklığa maruz kalan bitkilerin yeşil kaldığı ve kloroplastların normal olduğu buna karşın nişasta miktarının azaldığı belirlenmiştir. Işık varlığında, klorofil beyazlaşmakta, lipid damlaları birikmekte ve tilakoyitler dejenere olmaktadır. Mitokondri düşük sıcaklığa daha dayanıklı olarak görülmekte, fakat düşük sıcaklığa duyarlı türlerde meydana gelen ani sıcaklık düşmesi mitokondri aktivitesini yok etmektedir.

Hücre içi pH, düşük sıcaklığa oldukça hassas türlerde vakuol zarı üzerinde yer alan H⁺-ATPaz (sitoplazmadan vakuole H⁺-taşıyan pompa) tarafından kontrol edilir. Vakuoler H⁺-ATPaz, düşük sıcaklığa aşırı derecede duyarlı olup, düşük sıcaklığa maruz kaldığı zaman inaktive olur. Bu inaktivasyon düşük sıcaklık zararlarından çok önce meydana gelir ve plazma zarı, mitokondri, ve endoplamik retikulumla ilgili enzimlerin aktivitesi azalır. Düşük sıcaklığın neden olduğu H⁺-ATPaz'ın inaktivasyonu düşük sıcaklığa duyarlı olan pirinç ve *Vigna radiata* bitkilerinde belirlenmiştir. Düşük sıcaklık ile proton taşınımının bastırılması, sitoplazmik dengenin bozulmasına ve pH değişikliklerine neden olur (Yoshida et al., 1999).

Düşük sıcaklık stresi, özellikle soğuğa hassas bitkilerde, büyümenin azalmasına, nekrozlara (bitki dokusunun parçalanması ve kararması sonucu ölmesi), renk bozulmasına, tohumların çimlenme yeteneğinin azalmasına veya tamamen ortadan kalkmasına, tahıl bitkilerinde dane dolumunun azalmasına, hasat zamanının gecikmesine, toprak suyunun alınımının ve bütün bitkilerde fotosentezin azalmasına neden olur (Kadioğlu, 2004).

Düşük sıcaklıkta fotosentez hızının azalmasında, pirüvat ortofosfat dikinaz enzim aktivitesinin azalmasının önemli rolü olduğu saptanmıştır. Düşük sıcaklıkta karboksilasyonda önemli rolü olan rubisko enzim aktivitesinin de olumsuz şekilde

etkilendiği görülmüş ve aynı zamanda düşük sıcaklıkta nişasta ve şeker gibi fotosentez ürünlerinin biriktiği saptanmıştır (Guy et al., 1992).

Duyarlı bitkilerin çoğunda toprakta yeterli su olmasına rağmen su alınımının azalması ile yapraklarda solma meydana gelir. Bitkilerde solma; düşük sıcaklıkta kök hücre zarlarında geçirgenliğin azalması ile yeterli miktarda su alınamaması, suyun viskozitesinin (akışkanlığının) artması ve soğuk koşullarda gözeneklerin açık kalması ya da çok az kapanmasından dolayı meydana gelmektedir (Kacar vd., 2002).

Hem düşük sıcaklık hem de donma hasarında hücre zarı, merkezi öneme sahiptir. Her iki durumda da zarara neden olan kritik bir sıcaklık derecesi vardır. Sıcaklıktaki değişiklikten dolayı zar enzimlerinin aktivitesi azalmakta, zar geçirgenliği değişmekte ve bunun sonucunda çeşitli derecelerde zarar meydana gelmektedir. Düşük sıcaklıkta yarı akışkan olan hücre zarındaki lipidler katılaştır, bir başka ifade ile kristalize olur. Bu da zarların geçirgenliğinin azalmasına ve zar enzimlerinin aktivitesinin kaybolmasına neden olurken; duyarlı bitkilerde, düşük sıcaklık stresi K^+ , amino asitler ve şekerler gibi iyonlar ile fotosentez ürünlerinin plazma zarından dışarı sızmalarına yol açar (Kacar vd., 2002).

Zar lipidleri, doymuş ve doymamış olmak üzere iki çeşit yağ asidinden meydana gelmektedir. Doymamış yağ asitleri (-CH=CH-), iki karbon atomu arasında bir veya daha fazla çift bağa sahip iken; doymuş yağ asitleri (-CH₂-CH₂)'ndeki C atomlarının tamamı hidrojen atomları ile bağ yapmıştır. Doymamış yağ asidi içeren lipidlerin, doymuş yağ asidi içeren lipidlere oranla daha düşük sıcaklıklarda katılaştığı iyi bilinen bir gerçektir. Bu yüzden doymamış yağ asitlerinin oranı, güçlü bir şekilde zar akışkanlığı üzerine etki etmektedir (Steponkus et al., 1993). Düşük sıcaklığa duyarlı bitkiler, genellikle, yüksek doymuş yağ asidi oranına bu yüzden yüksek geçiş sıcaklığına sahipken; düşük sıcaklığa dayanıklı bitkiler, yüksek doymamış yağ asidi oranına ve dolayısı ile düşük geçiş sıcaklığına sahiptir (Mahajan and Tuteja, 2005).

2.3.3. Don sıcaklık stresi ve neden olduğu zararlar

Suyun donma sıcaklığının (<0°C) altındaki sıcaklık, **don sıcaklığı** olarak tanımlanır. Donma zararları iki önemli mekanizma ile meydana gelir. İlk olarak, buz

kristalleri hassas zar ve hücre organizasyonunu bozarak mekanik hasara neden olurken; ikinci olarak, buz oluşumu sonucu, dokuların su içeriği azalmakta ve kademeli olarak kuraklık (fizyolojik kuraklık) meydana gelmektedir. Hücreler arası boşluklarda su, yüksek bir su potansiyeline sahip olmasına rağmen, sitoplazma ve vakuoller düşük (negatif) bir su potansiyeline sahiptir. Bu yüzden buz kristalleri ilk olarak hücreler arası boşluklarda meydana gelir (Kadioğlu, 2004). Bu kristallerin büyümesinin devamı, protoplasttan suyun osmoz yoluyla hücreler arası boşluklara taşınımına ve hücrel dehidrasyona neden olur. Eğer dehidrasyon yeterli değilse hücre içi buz oluşumu başlar ve bu durum genellikle hücrenin tahrip ve ölümü ile sonuçlanır. Hücrenin hasar ve ölümü, hücre içindeki buzun erimesi ile ortaya çıkar. Yavaş soğuma durumunda, hücre olaya adapte olarak az bir hasarla kurtulabilir (Kocaçalışkan, 2004).

Hücreden taşınan suyun miktarı, sitoplazmanın çözünmüş madde konsantrasyonuna ve hücreler arası buzun su potansiyelini belirleyen don sıcaklığına bağlıdır. Örneğin; -10°C don sıcaklığı -11.6 MPa su potansiyeline neden olur, hücrenin ilk osmotik potansiyelinin -1 MPa olduğu varsayıldığında, hücredeki osmotik olarak aktif olan suyun %90'ı taşınacaktır. Eğer hücrenin ilk osmotik potansiyeli, düşük sıcaklık adaptasyonu esnasında hücrede artan çözünmüş madde konsantrasyonundan dolayı -2 MPa olsa idi, aynı don sıcaklığında hücrel suyun sadece %80'i dışarı taşınırdı. Bundan dolayı donma zararlarının büyük bir kısmı hücrel dehidrasyondan kaynaklanmaktadır ve bu nedenle don sıcaklığı, kuraklık ve tuz streslerinin birçok özelliği (ve genleri) ortakır (Xin and Browse, 2000).

Amerikan fizyolog P. Mazur, donma olaylarını sırası ile; 1) protoplastın dış kısmında buz kristalleri oluşur ve protoplast su kaybetmeye başlar, eğer soğuma çok hızlı ise protoplast donar, soğuma yavaş ise protoplast sadece su kaybeder, 2) protoplast içinde su azaldıkça çözünebilir maddelerin konsantrasyonu artar, 3) protoplast içinde konsantrasyonu artan maddelerin koagülasyonu ve çökmesi meydana gelir, iyonize bileşikler çökmüş ise, iç pH'da önemli değişiklikler olur, 4) genellikle -35°C ile -40°C arası sıcaklıklarda bütün dokulardaki su donar, 5) küçük olan buz kristalleri zamanla, yüzey serbest enerjisi oldukça düşük olan büyük ve

küresel kristallere dönüşür, şeklinde özetlemiştir. Bu basamakların herhangi birisi ya da tamamı ölüm ile sonuçlanabilmektedir (Kadıoğlu, 2004).

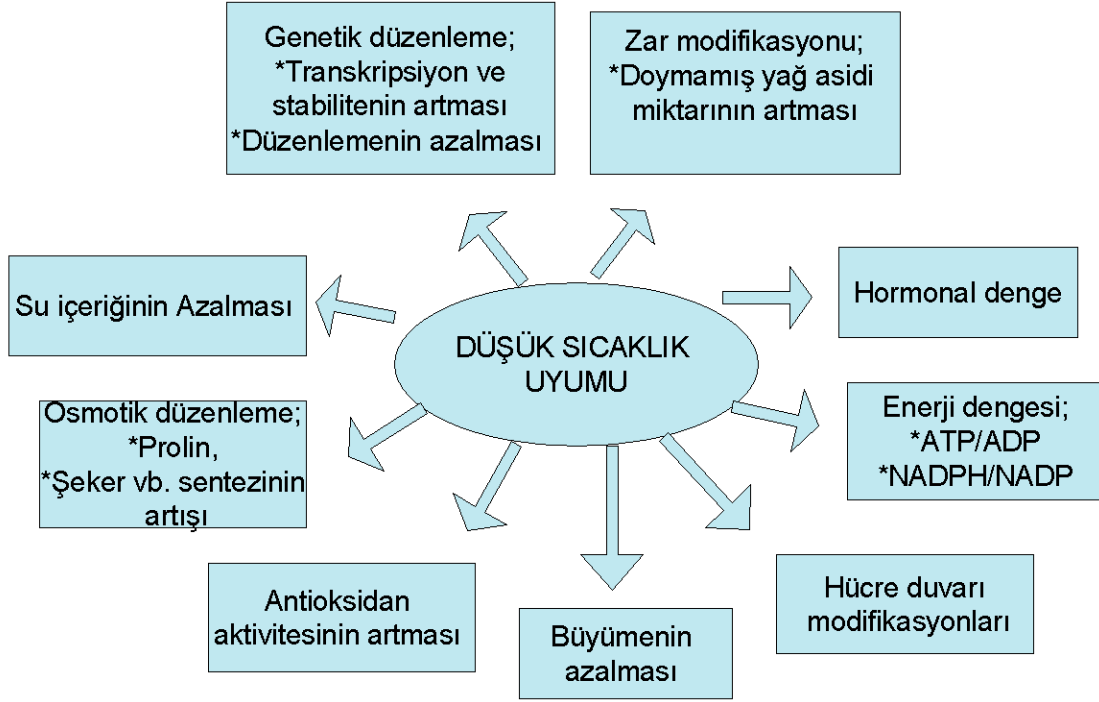
Donmaya dayanıklı bitkilerin protoplastları, kristallerin erimesi sonucunda oluşan suyu tekrar absorbe etme kabiliyetine sahipken, dayanıklı olmayan bitkilerde su hücreler arası boşluklarda kalma eğilimindedir ve üstelik bu tür bitkilerde buz kristalleri ilk olarak protoplastta oluşarak bitkiye doğrudan mekanik zarar verir (Kadıoğlu, 2004).

2.3.4. Düşük sıcaklık uyumu ve don sıcaklığına toleransın sağlanmasındaki rolü

ılıman bölge bitkileri hem düşük sıcaklıklara hem de sıfırın altındaki sıcaklıklara karşı toleranslı bir gruptur. Bu grup bitkilerin donmaya karşı tolerans kazanabilmesi için, belirli bir süre düşük fakat sıfırın üzerindeki sıcaklıklara maruz kalması gerekmektedir. Bu olay '**düşük sıcaklığa uyum**' olarak bilinir. Bir bitkinin herhangi belirli bir strese karşı toleranslı olması, o bitkinin toleransı sağlayan genlere sahip olmasına bağlıdır. Bu genlerin bazıları ortam koşullarından bağımsız olarak sürekli ifade edilmesine rağmen, bazıları da bitkinin stres koşullarına uyum sağlaması gerektiği durumlarda ifade edilir. Bu durum göz önüne alındığında uyum olayı, bitkinin sahip olduğu genetik potansiyeli, indükleyici koşullar altında ifade edebilme yeteneği olarak da tanımlanabilir. Düşük sıcaklığa uyum esnasında ise düşük fakat sıfırın üzerindeki sıcaklıklar, indükleyici çevresel bir faktördür (Pearce, 1999).

Düşük sıcaklık uyumunun birincil fonksiyonu, donma zararlarına karşı zararın stabilizasyonudur. Düşük sıcaklık uyumu zarlarda doymamış yağ asitlerinin oranının artmasına ve dolayısı ile düşük sıcaklıklarda zar geçirgenliğine olanak sağlar (Raison and Orr, 1986; Williams et al., 1988). Düşük sıcaklık uyumu esnasında aynı zamanda birçok fiziksel ve biyokimyasal değişiklik meydana gelir (Şekil 2.2). Bunlardan en çok dikkate değer değişiklikler arasında; büyümenin durması veya yavaşlaması, doku su içeriğinin azalması (Lewitt, 1980), absisik asit seviyesinin geçici olarak artması (Chen et al., 1983), hücre zarlarının lipid kompozisyonundaki değişiklik (Lynch and Steponkus, 1987; Uemura and Steponkus, 1994), prolin, betain ve çözülebilir şekerler gibi osmolitlerin birikimi,

antioksidan seviyesinin artışı yer alır (Koster and Lynch, 1992; Kishitani et al., 1994; Murelli et al., 1995; Nomura et al., 1995; Dörffling et al., 1997; Tao, et al., 1998). Bütün bu komplike cevapları, don toleransı cevabı ya da sadece düşük sıcaklıkta görülen cevaplardan ayırt etmek oldukça zordur.



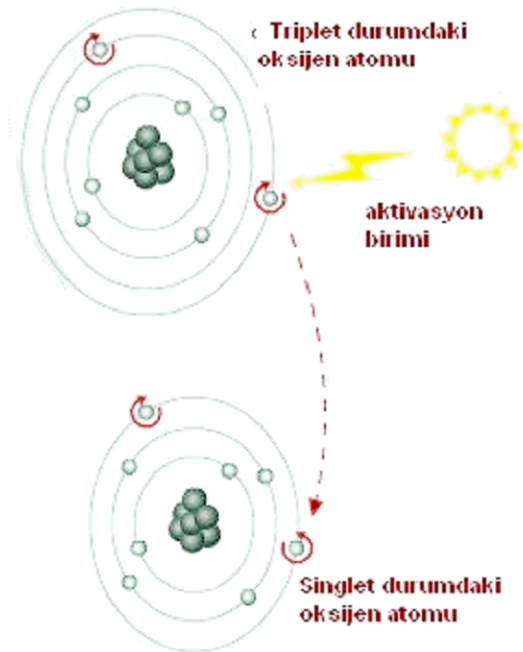
Şekil 2.2. Bitkilerde düşük sıcaklığa uyum esnasında meydana gelen metabolik değişiklikler (Xin and Browse, 2000).

Düşük sıcaklık uyumu hücresel bileşenlerde, doymamış yağ asitlerinin artışı (Cossins, 1994), gliserolipidlerin kompozisyonu (Lynch and Thompson, 1982), karbonhidrat ve protein kompozisyonundaki değişiklikler ve iyon kanallarının aktivasyonunu kapsayan bir seri değişikliğe neden olur. Düşük sıcaklık uyumu ile meydana gelen sükroz ve diğer basit şekerler, donma zararına karşı zarı koruyan moleküller olarak zarın stabilizasyonuna katkıda bulunur. Don sıcaklık toleransı çok yönlü genetik bir özellik olup düşük sıcaklık uyumu, bir miktar düşük sıcaklık-indüklü genleri (Jones and Inouye, 1994) aktive eder.

2.4. Oksidatif stres ve reaktif oksijen türleri

Oksijen, bütün aerobik organizmalarda, oksidatif reaksiyonlar için son oksidan olarak gereklidir. Ancak; evrimsel olarak aerobik organizmaların yaşamsal bir bileşiği olarak seçilmiş olan oksijen çok fazla olduğu zaman oldukça yıkıcı etkilere de neden olabilmektedir (França et al., 2006).

Reaktif oksijen türleri terimi, moleküler oksijenden meydana gelen çeşitli serbest radikal ve molekülleri tanımlamak için kullanılmaktadır. Moleküler oksijen bir radikaldir yani dış yörüngesinde eşleşmemiş iki elektron bulundurmaktadır. Bu durum yani iki eşleşmemiş elektronun paralel yörüngelerde bulunması aynı zamanda 'triplet durum' olarak da bilinir (Şekil 2.3). İki tek elektron farklı yörüngelerde olduğu zaman, oksijen sadece her bir seferde bir elektron ile tepkimeye girebilir, bu yüzden kimyasal bağlanma çok reaktif değildir (Turrens, 2003). Diğer taraftan moleküler oksijenin aktivasyonu, monovalant (tek değerlikli) indirgenme (O_2^- , H_2O_2 , OH^- oluşumu) ve eşleşmemiş elektronlardan birinin yörüngesini değiştirmeye yetecek kadar ışığın absorpsiyonu (singlet oksijen oluşumu) olmak üzere iki farklı mekanizmaya bağlı olarak gerçekleşmekte ve bunun sonucunda diğer eşleşmemiş elektron çiftleri ile tepkimeye girebilen güçlü oksidan türleri oluşmaktadır.



Şekil 2.3. Singlet oksijen oluşumu (<http://www.biolfesolutions.co.uk>).

Singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-), hidroksil ($OH\cdot$) ve perhidroksil ($HO_2\cdot$), alkoksil ($RO\cdot$), peroksil ($ROO\cdot$) radikalleri ve organik hidroperoksit ($ROOH$) gibi reaktif oksijen türleri (ROS), birçok fizyolojik işlev için çok önemli olup genellikle hücre içerisinde biyokimyasal antioksidanlar ile denge halinde bulunmaktadır. Büyük oranlarda biyolojik, fiziksel ve kimyasal streslere maruz kalmak ROS miktarını artırır ve normal biyolojik fonksiyonların bozulmasına yol açar. Bu durum '**oksidatif stres**' olarak tanımlanır (Scandalios, 2001). Düşük sıcaklık stresinin, singlet oksijen, hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi ROS konsantrasyonunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Wise and Noylar, 1987; Okuda et al., 1991).

ROS ile ilgili bilgilerin artarak daha net hale gelmesi ile birlikte, ROS'un toksik ajanlar olarak bitkinin büyüme, gelişme, biyotik ve abiyotik çevre ile olan etkileşiminde rol oynamalarına ek olarak (Alvarez et al., 1998; Blockina et al., 2003) bir de önemli düzenleyici ve sinyal iletim elementleri olarak görev aldığı belirlenmiştir (Lamb and Dixon, 1997; Foyer and Noctor, 2005; Gachomo and Kotchoni, 2006). Örneğin, ROS'un çevredeki oksijen konsantrasyonunun belirlenmesinde sinyal molekülleri olabileceği bilinmektedir (Semenza, 1999). Yani, zehirli ve öldürücü olarak bilinen tarihsel anlayışına ek olarak son zamanlarda edinilen bilgiler ROS'un bir de yararlı rol oynadıklarını göstermektedir.

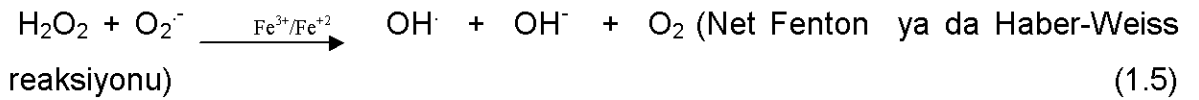
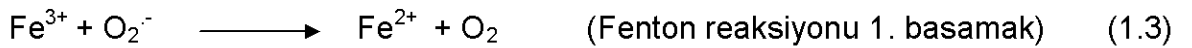
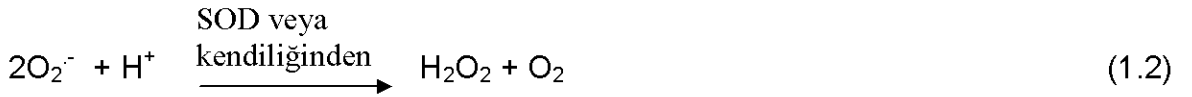
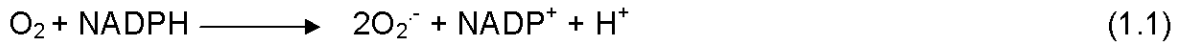
ROS, etkili bir şekilde yok edilmedikçe, hızlı bir şekilde okside olmakta ve hücre zar lipidlerine, protein, DNA ve diğer hücre sel bileşenlere zarar vererek hücre sel ölümlere ya da nekrotik zonların oluşmasına neden olmaktadır (Doke, 1997; Foyer and Noctor, 2005).

2.4.1. Bitki hücrelerinde reaktif oksijen kaynakları

ROS, normal biyolojik işlevler esnasında oluşmakta (Arora et al., 2002; Kotchoni, 2004) ve bitki tarafından tüketilen toplam oksijenin %1'i çeşitli organeller tarafından (Eltisner, 1987; del Rio, 1992) ROS'a dönüştürülmektedir (Asada and Takahashi, 1987). Biyotik ve abiyotik stres etkisi ROS oluşumunun daha fazla şiddetlenmesine neden olmaktadır (Alscher and Hess, 1993; Hammond-Kosack and Jones, 1996; Alscher et al., 1997; Arora et al., 2002).

ROS genellikle hücrede fotosentez ve fotosolunum esnasında meydana gelmektedir (Asada and Takahashi, 1987; Mittler, 2002; Kotchoni et al., 2006). ROS birikimi, abiyotik (Mittler, 2002) ve biyotik stresler altında (Ramanjulu and Bartels, 2002; Mittler, 2002); peroksizom, mitokondri, kloroplast ve hücre çeperine bağlı peroksizomlarda (Mittler, 2002; Davletova et al., 2005) belirlenmiştir.

Hücresel metabolizmada, oksijen molekülünün suya indirgenmesi esnasında oksijen, genellikle elektron transfer sisteminden (ETC) sızan elektronlarla, O_2^- (1.1), H_2O_2 (1.2) ve OH^\cdot (1.4) gibi radikallere indirgenir (Banerjee et al., 2003). Moleküler oksijenin indirgenmesi ile aktivasyonunun ilk basamağı enerjiye bağlıdır ve uygun bir e^- vericisine (NADPH gibi) ihtiyaç duyar (1.1). Sonraki indirgenme basamakları enerjiye ihtiyaç duymaz, kendiliğinden meydana gelebilir ya da uygun bir e^- vericisine ihtiyaç duyar. Biyolojik sistemlerde geçiş metal iyonları (Fe^{2+} , Cu^+) ya da semikinonlar e^- vericisi olarak rol oynayabilirler (Blokhina et al., 2003). H_2O_2 'nin indirgenmesi metal iyonlarının varlığında (Fe^{2+} , Cu^+) Fenton ya da Haber-Weiss reaksiyonları yolu ile gerçekleşir (1.3-1.4-1.5).



Kloroplastlarda ROS'un çoğu ETC'de bir elektronun oksijene transferi sonucu Mehler reaksiyonları esnasında oluşmaktadır (Asada, 1994). Fotosentetik ETC'de moleküler oksijenin tek değerlikli fotoredüksiyonu ile süperoksit oluşumu, keşfedenin ismine hitaben Mehler reaksiyonu olarak adlandırılmıştır (Mehler, 1951). Redoks dengesizliğinin neden olduğu, Fotosistem I (PSI)'deki, e^- akseptörü olan $NADP^+$ eksikliği, süperoksit oluşumunu başlatmaktadır. ETC'deki ferrodoksin $NADP^+$ yokluğunda $NADP^+$ yerine oksijeni indirger ve süperoksit oluşumuna

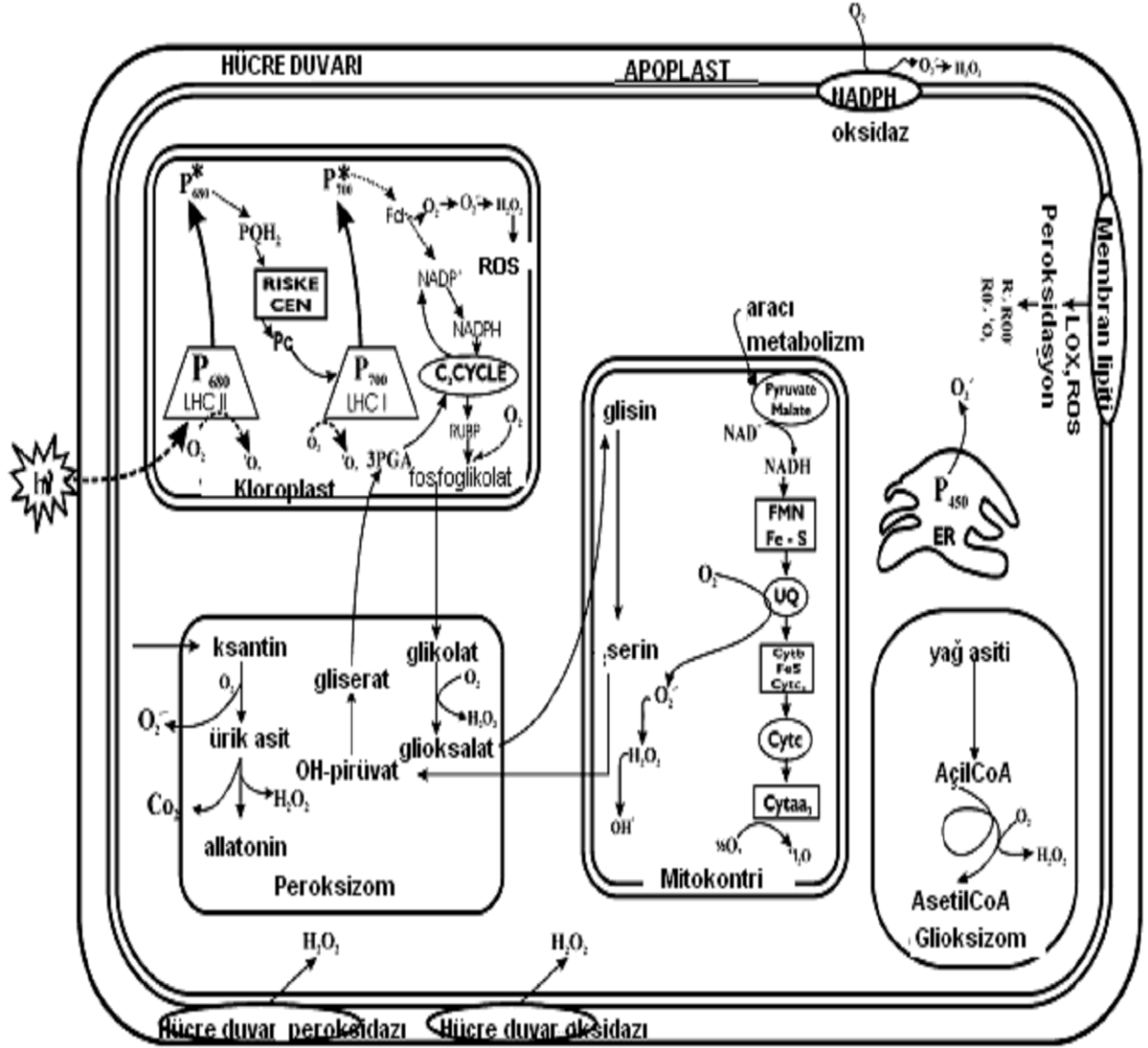
neden olur (Bhattacharjee, 2005). Kalvin döngüsünün düzenlenmesi ve fotosentezin Z-şemasında e^- transfer hızının kontrolü, bitki hücrelerindeki redoks dengesinin düzenlenmesinde önemli faktörlerdir (Bhattacharjee, 2005).

Mitokondrideki elektron taşıma sistemi de süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin oluşumunu içeren potansiyel ROS kaynağıdır (Şekil 2.5). O_2 'nin doğrudan süperoksite indirgenmesi, ETC'nin NADH dehidrogenaz enziminin flavoprotein bölgesinde yer almaktadır. Elektron taşınması sırasında, ubikinondan sonra e^- fırlatılışını engelleyen antimisin A varlığında, ROS oluşumu göze çarpan oranda artmaktadır. Ubikinondan sonra e^- fırlatılmasının engellenmesi, otooksidasyon ile süperoksit oluşumuna (Forman and Boveris, 1982) ve indirgenmiş ubikinon birikimine neden olur. Yapılan araştırmalar, ubikinonu mitokondrial ETC'de H_2O_2 'nin en büyük kaynağı olduğunu *in-vitro* olarak göstermekte ve süperoksitin de, H_2O_2 'nin en büyük öncüsü olduğunu bilinmektedir (Winston, 1990).

Peroksizomlar da, kloroplast ve mitokondri gibi hücre içi organeller olup, çeşitli genlerin yazılımının sinyal iletimi ile düzenlenmesinde rol oynayan ROS oluşumunda potansiyele sahiptir (del Rio et al., 2002). Bitki peroksizomlarının, süperoksit ve H_2O_2 üretiminin kaynağı olduğu gösterilmiştir (Corpas et al., 2001; del Rio et al., 2002). Peroksimal organellerde süperoksit oluşturan en az iki bölge belirlenmiştir; birinci bölge, organeldeki matriks kısmıdır ve ksantin oksidaz üretir. İkinci kısım, peroksimal zar da yer alır ve NAD(P)H bağlıdır. Peroksimal zar polipeptitleri ile bütünleşmiş olan bu ikinci kısım, özellikle süperoksit radikallerinin oluşum kaynağıdır (Kotchon and Gachomo, 2006). Bunlardan farklı olarak, H_2O_2 'nin peroksizomlarda glikolat oksidasyonu esnasında (Şekil 2.4) üretildiği bilinmektedir (Bhattacharjee, 2005).

Lipid peroksidasyonu (LP) da diğer bir ROS kaynağı olup; LP, ROS etkisi ile başlar. Süperoksit radikali ve H_2O_2 'in LP başlatma yeteneğine rağmen, OH^\cdot yeterli aktiviteye sahip olup genellikle LP, OH^\cdot aracılığı ile başlar (2.1). LP aynı zamanda lipoksijenaz (LOX, EC 1.13.11.12) enzimi tarafından da başlatılabilir. LOX, çoklu çift bağa sahip doymamış yağ asitlerinin hidroperoksidasyonunu katalizler (Bhattacharjee, 2005). Lipid peroksidasyonunda, singlet oksijen veya hidroksi radikali reaksiyonu sonucu bir H'in çoklu çift bağa sahip doymamış yağ

asitlerinden (R-H) ayrılması (hidroperoksidasyonunu) ile lipid radikali (R·) meydana gelir (2.1) (Smirnoff, 1995). Oluşan R·, oksijen ile reaksiyona girer ve zincir reaksiyonunu devam ettirebilen, yüksek reaktif lipid peroksi radikalini (ROO·) oluşturur (2.2). Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler (ROOH) oluşur (2.3).



Şekil 2.4. Bitki hücresindeki ROS kaynakları (Bhattacharjee, 2005).

Üretilen lipid hidroperoksit zincir reaksiyonu, Fe²⁺ gibi indirgenmiş metal iyonları ile kesintiye uğrayabilir (2.4); fakat bunun sonucu oluşan lipid alkoksil radikali (RO·), ilave zincir reaksiyonunu (2.5) başlatır (Buettner, 1993). Lipid hidroperoksidadın degradasyon ürünleri arasında, MDA (malondialdehid) gibi hücre için oldukça

yüksek toksiteye sahip olan aldehitler, etan ve etilen gibi hidrokarbonlar genellikle lipid peroksidasyonun son ürünleridir.



Bitkilerdeki diğer ROS kaynakları, sitoplazma ve endoplazmik retikulum (ER)'daki sitokrom₄₅₀ tarafından katalize edilen detoksifikasyon reaksiyonlarıdır (Dybing et al., 1976). ROS aynı zamanda plazma zarında ve apoplastta meydana gelmektedir. Plazma zarında bulunan NADPH oksidaz, oksidatif strese ROS kaynağı olarak oldukça dikkat çekmiştir. NADPH oksidaz'a ek olarak apoplastta bulunan, germin benzeri oksalat oksidaz, amin oksidaz ve pH'a bağlı hücre çeperi peroksidazları bitki hücrelerindeki diğer ROS kaynaklarıdır (Bolwell and Woftastek, 1997). Hücre çeperi peroksidazları alkali pH'da indirgeyici molekül olarak H₂O₂ varlığında aktive edilir.

2.4.2. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu zararlar

ROS; düşük konsantrasyonlarda sinyal taşıyıcı, yüksek konsantrasyonlarda oksidan olarak çift yönlü rol oynamaktadır. Genelde tüm ROS, yüksek konsantrasyonlarda geniş hücre zararlarına ve ölümlerine neden olmaktadır. Bu nedenle hücre ROS seviyesi, sıkı bir düzenlemeye ihtiyaç duyar (Kotchoni, 2004; Mittler et al., 2004).

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. Bu yüzden bir hücre içerisinde dahi oksijen ile reaksiyonun doğası ve boyutu farklılık gösterir (McKersie, 1996).

Hücrenin ölümüne neden olan oksidatif zararın doğası her zaman açık değildir. En çok kabul edilen oksijen radikallerinin zar lipidlerine verdiği zarardır ve daha sonraki zararlar zar lipidlerinin peroksidasyonu ile geniş kapsamda ilişkilidir. Aynı zamanda oksijenin aktif formu protein ve DNA parçalayabilir ki bu reaksiyonlar da öldürücü özellik taşır (McKersie, 1996).

ROS, zar lipidleri üzerine iki şekilde etki eder. Bunlar; doymamış yağ asitlerinin çift bağı ve yağ asitleri ile gliserol arasındaki ester bağlarıdır (McKersie, 1996). LP, ROS etkisi ile veya LOX enzimi tarafından başlatılır. LP sonucu oluşan lipid hidroperoksit (ROOH), çift tabakanın iç kısmının hidrofilik özelliğini artırır (Frenkel, 1991). Hidrofilik özelliğin artması, askorbat tarafından tokoferollerin sentezini teşvik ettiğinden, LP sonlanması için çok önemlidir (Blokhina et al., 2003). Diğer taraftan, süperoksit, fosfolipid katında bulunan ester bağları üzerine etki eder ve bu deesterifikasyon reaksiyonu ile serbest yağ asitlerinin oluşumunu sağlar (McKersie, 1996).

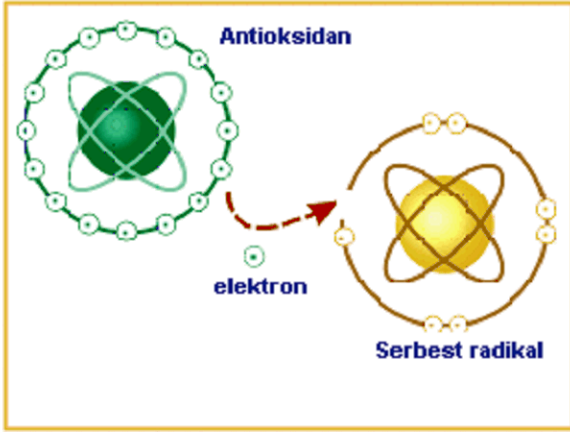
ROS, proteinler üzerine çeşitli şekilde zarar verir; spesifik bölgelerde amino asit modifikasyonlarına, peptit zincirinin parçalanmasına, elektrik yüklerinde değişikliklere neden olur ve proteolize karşı olan duyarlılığı artırır. Sülfür içeren amino asitler ve tiyol grupları daha fazla hassas olan kısımlardır. Tiyol gruplarının oksidasyonu çeşitli enzimler tarafından korunmasına rağmen, serbest radikallerin birkaç formu proteinler üzerine geri dönüşümlü olarak etki eder; örneğin, süperoksitin yıkıcı enzimatik etkisi ile demir-sülfür merkezinin oksidasyonu gibi (Gardner and Fridowich, 1991).

DNA'da meydana gelen ROS kaynaklı zararlar, *in vitro* ve *in vivo* olarak geniş ölçüde çalışılmıştır. DNA'nın, hücrenin ROS'u tolere etme kabiliyetinde zayıf halka olduğu açıktır. İlk olarak, DNA fenton reaksiyonunda yer alan bağlayıcı metallere etki etmektedir ve ikinci olarak, diğer makromoleküllere göre daha az zararı tolere edebilir. ROS, DNA'da iplik bozulmalarına veya deoksiriboz şeker ve/veya bazların modifikasyonuna (Shulaev and Oliver, 2006) ve diğer öldürücü birçok zarara (mutasyon gibi) neden olur (Imlay and Linn, 1986).

2.5. Düşük sıcaklık ve don sıcaklığına karşı oluşturulan bitkisel cevap

2.5.1. Antioksidan sistem

ROS'un çeşitli hücresel kısımlardaki varlığı, bitkinin büyüme ve hayatta kalabilmesi için oksidan yok edicilerinin üretimini mecburi kılmaktadır. Bitkiler ROS'un zararlı etkilerinden korunmak için hücrenin farklı kısımlarında yer alan antioksidan enzim ve moleküllere (Şekil 2.5) sahiptir (Dat et al., 2000).



Şekil 2.5. Serbest radikallerin etkisinin antioksidan ile uzaklaştırılması (<http://www.biolfesolutions.co.uk>).

Düşük sıcaklığa maruz kalmak sadece hassas bitkilerde değil aynı zamanda toleranslı bitkilerde de ROS miktarını artırır. Düşük sıcaklık muamelesinden sonra buğday bitkisinde H_2O_2 seviyesinin kısa bir süre arttığı belirlenmiştir (Okuda et al., 1991). Düşük sıcaklıkta büyüyen düşük sıcaklığa adapte bitkiler artan seviyede antioksidan enzim ve molekül içermektedir. Abiyotik stres altında bu enzim ve moleküllerin seviyesinin artması bitkiye dayanıklılık sağlamaktadır.

2.5.1.1. Enzimatik sistem

Aerobik organizmalar, biyotik ya da abiyotik orjinli ROS'un etkisini minimuma indirmede enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemine sahiptirler. Enzimatik sistemde yer alan süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1), katalaz (CAT; EC 1.11.1.6), peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7), askorbat peroksidaz (APX; EC 1.1.1.11), glutatyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) ve diğer askorbat-glutatyon döngüsünde yer alan monodehidro askorbat redüktaz (MDHAR; EC 1.6.5.4) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR; EC1.8.5.1) gibi enzimler, antioksidan

moleküllerin sentezini, parçalanmasını, geri kazanılmasını ve ROS'un hücreden doğrudan uzaklaştırılmasını katalizlerler.

Süperoksit dismutaz (SOD)

McCord ve Fridovich (1969) tarafından keşfedilen SOD enzimi, süperoksit anyonunun, H_2O_2 'ye dismutasyonunu katalize eder (3.1) ve bu reaksiyon kendiliğinden meydana gelen dismutasyondan 10.000 kat daha hızlıdır (Bowler et al., 1992).



SOD aktivitesi, Haber-Weiss reaksiyonlarında substrat olarak rol oynayan ve en aktif ROS olan hidroksil radikalini oluşturan süperoksit ve hidrojen peroksit konsantrasyonu tarafından belirlenen tek enzimdir. Mikroorganizmalardan insanlara kadar tüm canlılarda oksijen toksisitesine karşı ilk savunma sistemi, SOD enziminin en az bir formunu içermektedir (Pereira et al., 2003). Enzim bu nedenle savunma mekanizmasının merkezi gibidir ve bütün oksijenli solunum yapan organizmalarda ve oksidatif strese karşı duyarlı olan bütün hücre içi organellerde bulunmaktadır (Bowler et al., 1992). Bitkilerde kofaktörlerine göre sınıflandırılan üç farklı SOD tipi bulunmuştur. Bunlar yapısal olarak birbirine yakın olan FeSOD (kloroplast stroması), MnSOD (mitokondri matriksi ve peroksizomlarda) ve yapısal olarak ilişkisiz olan Cu/ZnSOD (sitozol, kloroplast, peroksizom)'tur (Blokhina et al., 2003; Molassiotis et al., 2006). Bu izoenzimler H_2O_2 ve KCN olan duyarlılıklarına göre farklılık gösterirler (Bannister et al., 1987). Cu/ZnSOD, H_2O_2 ile KCN'ye ve FeSOD, sadece H_2O_2 'ye duyarlılık gösterirken, MnSOD her ikisine karşı dayanıklılık gösterir. Bütün bu enzimler, çekirdekte kodlanır ve tahminen artan ROS oluşumunun bir sonucu olarak SOD genlerinin, çevresel streslere karşı duyarlı olduğu gösterilmiştir.

Katalaz (CAT)

Hücreler arası H_2O_2 seviyesi geniş enzim dizileri tarafından düzenlenir ve bu enzimlerin en önemlisi katalazdır (Willikens et al., 1995). Katalaz, H_2O_2 'nin su ve oksijene dismutasyonunu katalizler (3.2).



Katalaz, bütün aerobik ökaryot canlılarda bulunur. Pürin katabolizması, glioksalat (fotosolunum) döngüsü ve yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile peroksizomlarda üretilen H_2O_2 'in ortadan kaldırılmasında önemlidir (McKersie, 1996).

Katalaz'ın çeşitli formları, birçok bitki türünde belirlenmiştir. Örneğin, mısır bitkisinin üç farklı katalaz izoenzimi, peroksizom, sitozol ve mitokondri gibi farklı organellerde lokalize olmuştur (Scandolios, 1993). Katalaz, ışığa karşı duyarlıdır ve aktivitesi ışıkta hızlı bir şekilde azalır ve yüksek-düşük sıcaklık ya da tuz gibi stres koşulları CAT aktivitesinin kesinlikle yok olmasına neden olur (Hertwig et al., 1992).

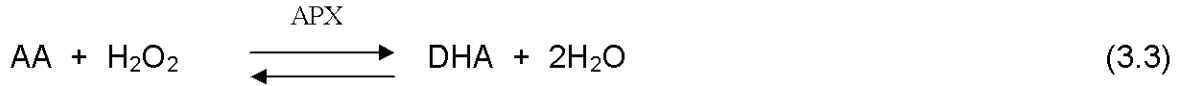
Katalaz tarafından H_2O_2 detoksifikasyonu çoğunlukla peroksizomlarda yer alır. Bununla birlikte katalaz, H_2O_2 'ye karşı çok düşük bir ilgiye sahiptir. CAT aktivitesi sitozol, mitokondri ve kloroplastlarda ya çok düşüktür ya da belirlenemez. Bitkiler, H_2O_2 'e karşı detoksifikasyon mekanizması olarak daha etkili olan mitokondri, sitozol ve kloroplastlarda bulunan ve askorbat-glutatyon veya Halliwell-Asada (Asada and Takahashi, 1987) döngüsü olarak adlandırılan alternatif bir mekanizmaya sahiptir. Bu döngü mitokondri, sitozol ve kloroplastlarda H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda daha önemli bir yol olarak görülmektedir.

Peroksidaz (POD)

H_2O_2 'nin etkisini yok eden diğer bir grup enzim peroksidazlardır (POD). POD, lignin sentezinde, IAA (indolasetik asit) sentezinde ve H_2O_2 'nin suya dönüştürülmesinde yer alır. POD, guaiakol'u geniş oranda e^- vericisini kullanabilir ve bundan dolayı guaiakol peroksidaz (EC.1.11.1.7) olarak da bahsedilir (Hegedus et al., 2001). POD, bitki hücrelerinde geniş dağılım gösterir ve bunlar suda çözünebilen, hücre çeperi peroksidazları olarak sınıflandırılmıştır (Jbir et al., 2001).

Askorbat peroksidaz (APX)

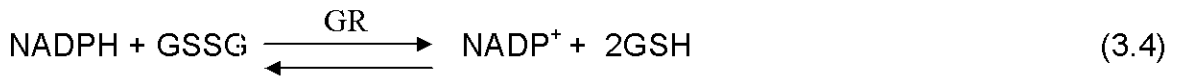
Askorbat peroksidaz (APX), askorbat-glutasyon döngüsünün ilk enzimi olup H₂O₂'yi suya indirger ve indirgeyici olan askorbata (AA) karşı yüksek ilgiye sahiptir (Asada, 1999). Askorbat-glutasyon döngüsü tarafından, askorbat seviyesi değişmeden devamlılığını sürdürdüğü zaman H₂O₂ etkili bir şekilde yok edilmektedir (3.3).



APX dizisi diğer peroksidazlardan farklıdır ve APX'in farklı izoenzimleri kloroplast, sitozol, peroksizom, glioksizom ve mitokondrilerde meydana gelir (Jimenez et al., 1997; Leonardis et al., 2000, Madhusudhan et al., 2003). Zara bağlı APX, peroksizom ve tilakoyit zarlarında bulunur. APX, hücreleri H₂O₂'ye karşı yalnızca stres durumunda değil, normal koşullar altında da korumaktadır.

Glutasyon redüktaz (GR)

GR, askorbat-glutasyon döngüsünün son enzimi olup, NADPH'a bağlı okside glutasyonun (GSSG) indirgenmesini katalizler (3.4).



GR'nin bir kaç izoenzimi bitki dokularında bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar GR'nin kloroplast, sitozol ve bir de mitokondride bulunduğunu göstermektedir (Hausledan and Alscher, 1993). GR, askorbatın yeniden üretilmesi için yüksek GSH/GSSG oranının devamlılığını sağlayan ve H₂O₂'nin yok edilmesinde sınırlı hızla sahip olan bir enzimdir (Sudhakar, 2001).

2.5.1.2. Enzimatik olmayan antioksidan sistem

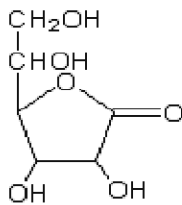
Enzimatik olmayan antioksidan sistem glutasyon, askorbik asit (vitamin C), tokofenol (vitamin E) ve flavonoid, tanen, lignin gibi fenolik bileşenleri içermektedir.

Glutatyon

Üç peptitli olan glutatyon (gama-glutaminsisteinglisin) bitki dokularında bol miktarda bulunan bileşiktir. Neredeyse sitozol, ER, vakuol ve mitokondri gibi bütün hücre kısımlarında, (Jimenez et al., 1998) çok yönlü fonksiyonları yerine getiren indirgenmiş glutatyon (GSH) bulunmuştur. GSH, sülfürün ana depo formudur. GSH-conjugation yolu ile yabancı biyolojik moleküllerin güçlü detoksifiye edicisi olarak rol oynar ve fitoşelatinlerin öncüsü olarak hizmet verir (Noctor et al., 1998). Glutatyon, kendisinin okside formu (GSSG) ile birlikte hücre kısımlarında, redoks dengesinin devamlılığını sağlar ve gen ifadesinin redoks düzenlenmesinde GSH'ın rolü bir çok makalede bildirilmiştir (Wingate et al., 1988; Alscher, 1989). GSH/GSSG çifti'nin redoks özelliklerinden ve GSH'ın indirgenen SH-grubundan dolayı GSH hücre döngüsünün düzenlenmesinde yer alabilir (Sanchez-fernandez et al., 1997).

Antioksidan olarak oksidatif stres altında GSH'ın fonksiyonu son on yıl boyunca çok dikkat çekmiştir. Merkezi nükleofilik sistein kalıntıları, GSH'ın yüksek indirgeyici potansiyelinden sorumludur. Sitotoksik H₂O₂'nin etkisini yok eder ve singlet oksijen, süperoksit radikali ve hidroksil radikali gibi diğer ROS ile enzimatik olmayan reaksiyona girer (Larson, 1988). GSH'ın antioksidan savunma sistemindeki merkezi rolü, onun diğer bir güçlü, suda çözülen antioksidan olan askorbik asiti (AA), askorbat–glutatyon döngüsü yolu ile yeniden oluşturma kabiliyetinden dolayıdır (Foyer and Halliwell, 1976; Noctor and Foyer, 1998).

Askorbik asit (AA)



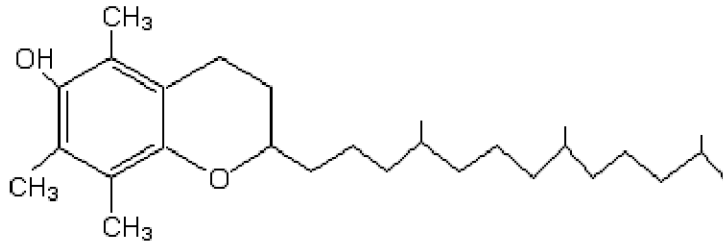
Vitamin C

Askorbik asit (AA), üzerinde en çok çalışılan güçlü bir antioksidan'dır (Smirnoff, 1996; Noctor and Foyer, 1998; Arrigoni and de Tullio, 2000; Horemans et al.,

2000; Smirnov, 2000). Askorbat, yüksek bitkilerin sitozolünde D-glukoz'un askorbata dönüşmesi ile sentezlenir. AA, bitki hücre türlerinin büyük bir çoğunluğunda, organellerde ve apoplastta bulunmuştur. AA, normal fizyolojik şartlar altında, yaprak ve kloroplastlarda çoğunlukla indirgenmiş formda bulunur (Smirnov, 2000). AA'nın e⁻ verici olma özelliği birçok enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarda onu, sıvı fazda ROS detoksifikasyona eden temel bileşik yapar. AA; superoksit, hidroksil radikali ve singlet oksijenin etkisini doğrudan yok edebilir (Noctor and Foyer, 1998). Askorbat, H₂O₂ ile önemli oranda reaksiyona girerek su ve monodehidroaskorbat (MDA) üretir, bu reaksiyon, yüksek bitkilerin kloroplast ve sitozolünde, askorbat peroksidaz (APX) tarafından katalizlenir. Kloroplastlarda H₂O₂'nin detoksifikasyonu, fotosentezin çok az miktarlardaki H₂O₂'ye dahi duyarlı olmasından dolayı çok önemlidir ve askorbat kloroplastlarda H₂O₂'nin aktivitesinin ortadan kaldırılmasında merkezi bir role sahiptir.

Askorbat, antioksidan olma özelliğinin yanında, zar bütünlüğünün korunmasını sağlayan tokoferoksil radikalinden tokoferolü yeniden oluşturmaktadır (Thomas et al., 1992). Hücre bölünmesinde G₁'den S fazına kadar hücre döngü işlevini (Liso et al., 1988; Smirnov, 1996) ve hücre uzamasını (De Tullio et al., 1999) düzenlemek gibi birçok antioksidan olmayan role sahiptir.

Tokoferol (vitamin E)



Vitamin E

Tokoferoller ve tokotrienoller, antioksidan ve antioksidan olmayan fonksiyonlara sahip, biyolojik zarların esas bileşenleridir (Kagan, 1989). Dört tane tokoferol ve tokotrienol izomeri (alfa-beta-gama ve delta) vardır. Tokoferol izomerlerinin *in vivo* olarak antioksidan aktivitesi sırası ile alfa >beta> gama> delta şeklindedir. Bu metilasyon düzeni ve metil gruplarının miktarına bağlıdır. Bu yüzden üç metil grubuna sahip alfa tokoferol, tokoferollerin en yüksek aktivitesine sahip olan izomeridir (Kamal-Eldin and Appelqvist, 1996). Yapılan çalışmalarda zar

çevresinde alfa-tokotrienolün, alfa-tokoferolden daha iyi bir antioksidan olduğu kanıtlanmıştır (Packer et al., 2001). Tokoferoller bitkinin bütün kısımlarında sentezlenmektedir. Yüksek bitkilerin kloroplast zar aktivitesi yüksek tokoferol olan alfa-tokoferol içerir ve bu yüzden zar, fotooksidatif zarara karşı iyi korunur (Fryer, 1992).

Vitamin E, bir zincir kıran antioksidandır. Örneğin vitamin E, oksitleyici radikalleri doğrudan tamir edebilir ve böylece lipid otooksidasyonu esnasında zincir reaksiyonunun yayılmasını engeller (Serbinova and Packer, 1994). Vitamin E, çoklu çift bağa sahip doymamış yağ asitleri (PUFA)'nin oksidasyonunda üretilen alkil radikali (R·), alkoksil radikali (RO·) ve lipid peroksil radikali (ROO·) ile tepkimeye girer (Buettner, 1993; Kamal-Eldin and Appelqvist, 1996).

Vitamin E, antioksidan fonksiyonlarına ek olarak, zarlarda birkaç antioksidan olmayan fonksiyona da sahiptir. Tokoferoller zar yapısının devamlılığını destekler. Yapılan önceki çalışmalar tokoferollerin, kolesterole benzer biçimde zar akıcılığını ve aynı zamanda küçük iyonlar ve moleküllere karşı zar geçirgenliğini ayarladığını göstermektedir (Fryer, 1992). Serbest yağ asitleri ve lizofosfolipidler ile tokoferolün komplikasyonu ROS'un yok edici etkisine karşı zar yapısını korur (Kagan, 1989).

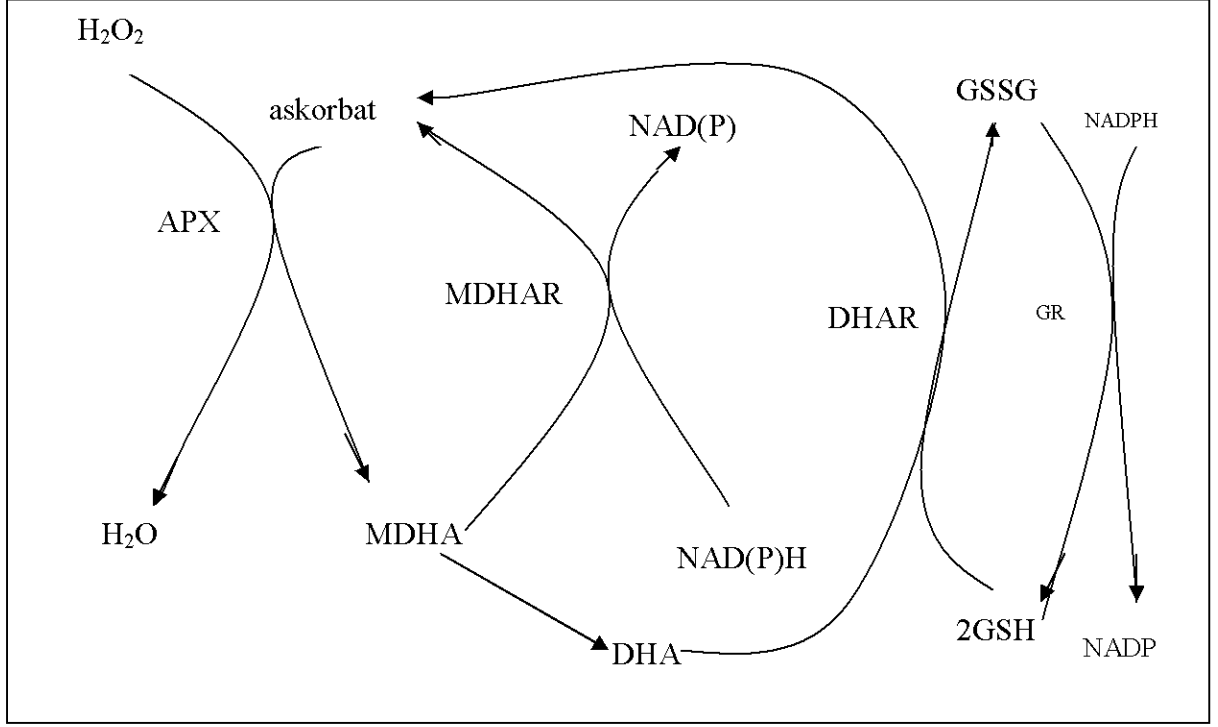
Antioksidan olan fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler (flavonoitler, taninler ve lignin), bitki dokularında bol bulunan, farklı ikincil metabolitlerdir (Grace and Logan, 2000). Polifenoller, ROS'un etkisinin yok edilmesi için ideal bir kimyasal yapıya sahiptir. Polifenollerin, tokoferol ve askorbattan daha fazla antioksidan etkisine sahip olduğu *in vitro* olarak gösterilmiştir. Polifenollerin antioksidan etkileri, onların e⁻ veya H⁺ vericisi olarak yüksek aktivitesinden, polifenol kaynaklı radikali stabile etme, eşleşmemiş radikali tekrar yerleştirme ve metal iyonlarını şelata dönüştürme (Fenton reaksiyonunun sonlanması) yeteneğinden kaynaklanmaktadır (Rice-Evans et al., 1997).

Halliwell-Asada döngüsü

Stres koşulları altında, farklı antioksidanların işbirliği içerisinde çalışması bitkinin canlılığını devam ettirebilmesi için gereklidir. Böylece daha iyi bir savunma ve aktif

indirgenen formların tekrar oluşması sağlanır. Bu konuda en çok çalışılan örnek Şekil.2.6 gösterildiği gibi kloroplastlarda H_2O_2 'nin kaldırılması ile foto koruma sağlayan Halliwell-Asada (Glutasyon-Askorbat) yoludur (Noctor and Foyer, 1998). Son zamanlarda bu döngünün bileşenleri farklı bitki bölmelerinde de belirlenmiştir (Jimenez et al., 1998).



Şekil 2.6. Askorbat-glutasyon döngüsü (Blokhina et al., 2003). DHA: dehidroaskorbat, MDHA: monodehidroaskorbat, GSH: indirgenmiş glutasyon, GSSG: okside glutasyon, APX: askorbat peroksidaz, MDHAR: monodehidroaskorbat redüktaz, DHAR: dehidroaskorbat redüktaz, GR: glutasyon redüktaz.

Askorbik asitin indirgenmesi ardışık iki molekül üzerinden meydana gelir. Bunlar; monodehidroaskorbat (MDHA) ve dehidroaskorbat (DHA)'tır. MDHA, askorbat peroksidaz reaksiyonunun ilk ürünüdür ve NAD(P)H'a bağlı MDHAR'ın hareketi ile doğrudan askorbata indirgenebileceği gibi kendiliğinden oransız olarak DHA indirgenir. DHA, pH değerinin 6.0'dan büyük olduğu durumlarda çok kararsız bir bileşiktir. Karbon zinciri, oksalat gibi ürünlerle kesilir. Bu durumlarda askorbat kaybının önlenmesinde kloroplastlar, MDHA ve DHA'nın geri dönüşümünü sağlayan etkili bir mekanizmaya sahiptir. GSH, kloroplastlarda milimolar (mM) konsantrasyonlarda bulunur ve pH değerinin 7.0'dan büyük olduğu durumlarda enzimatik olmayarak DHA'ı askorbata indirger. Bu reaksiyon, yaprak, tohum ve

diğer dokularda yüksek aktivite sergileyen DHAR tarafından katalizlenir. DHAR, DHA'nın askorbata indirgenmesinde e⁻ vericisi olarak GSH 'ı kullanır (Foyer, 1993).

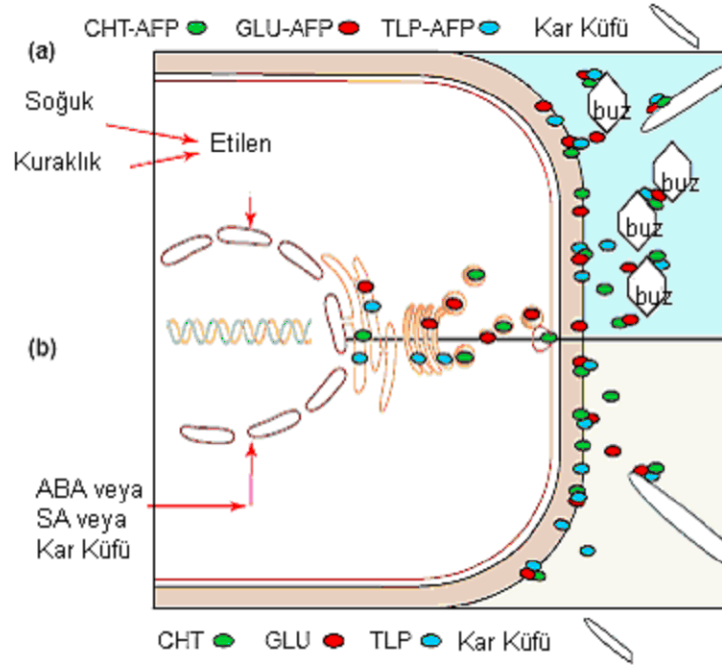
Askorbat, sadece glutatyon ile ortak çalışmaz; aynı zamanda alfa-tokoferol'ün yeniden üretilmesinde yer alır ve zarların sinerjistik korunmasını sağlar (Thomas et al., 1992). Tokoferoller, indirgenmiş koenzim-Q (Buettner, 1993) ve indirgenmiş glutatyon (Fryer, 1992) ile doğrudan etkileşim içerisindedirler ve zarla birlikte bulunan tokoferol ve indirgenmiş koenzim-Q, birleşik antioksidan aktivitesi sergiler (Kagan et al., 2000).

2.5.2. Antifiriz proteinleri (AFP)

Bazı bitkilerin soğuğa maruz kalması durumunda sıcaklık, don sıcaklık sınırına yaklaştığında antifiriz proteinleri denilen proteinler sentezlemektedir. Bitkilerde antifiriz proteinleri aktivitesi ilk olarak 1992 yılında bildirilmiştir (Griffith et al., 1992; Urrutia et al., 1992). Gymnospermler, eğrelti otları, monokotiledon angiospermler ve dikotiledon angiospermler dahil olmak üzere birçok kışlık bitkide varlığı belirlenmiştir (Urrutia et al., 1992; Duman and Olsen, 1993; Doucet et al., 2000; Zamani et al., 2003). Bitkilerde antifiriz aktivitesi, sadece kışlık bitkilerin düşük sıcaklığa maruz kalması ve bitki dokularında meydana gelen buz oluşumunu tolere etmesi durumunda meydana gelebilmektedir. Antifiriz aktivitesi, tohum, gövde, yaprak kını, taç, tomurcuk, petiol, çiçek, kök, rizom ve tuberler dahil olmak üzere kışlık bitkilerin farklı kısımlarında belirlenmiştir (Urrutia et al., 1992; Duman and Olsen, 1993; Doucet et al., 2000).

Hücre içinde sentezlenen, daha sonra apoplastik alana pompalanan ve don toleransının sağlanmasına katkıda bulunan AFP'ler, kendilerine özgü karakteristik yapıları ile buz kristal yüzeyleri tarafından adsorbe edilerek faseta oluşturur. Faseta oluşumu ile buz kristal yapısına diğer su moleküllerinin bağlanması engellenir. AFP ile buz kristalleri arasındaki ilişki buzun büyümesini önemli derecede kontrol altına alır (Şekil 2.7). Milimolar (mM) konsantrasyonlarda AFP buz kristallerinin büyümesini engeller ve AFP'ler çözeltinin don sıcaklığını, kolligatif etki ile beklenenden daha fazla baskılar. Baskılanan sıcaklık genellikle 1-2°C'den fazla değildir ve bu özellik 'termal hysteresis' olarak bilinir (DeVries, 1986). İkinci olarak, AFP'ler, küçük buz kristallerini kullanılarak daha büyük buz kristallerinin

oluşumunu yani buzların rekristalizasyonunu engeller (Knight et al., 1984). Buz rekristalizasyonu don sıcaklığına maruz kalınan sürenin uzaması ile meydana geldiği gibi sıcaklığın sıfırın altına düştüğü anda çok hızlı bir şekilde de meydana gelebilir ve büyük buz kristalleri, donmuş bitki dokuları içerisindeki don zararı olasılığını artırır. Buzun rekristalizasyonunun engellenmesi çok düşük AFP konsantrasyonunda (nM) dahi meydana gelmektedir ve donmaya dayanıklı organizmalarda AFP'ler fonksiyonel olabilir (Knight and Duman, 1986). Son olarak AFP'ler ve buz çekirdekleri (nükleatörleri) birbirleri ile etkileşim yeteneğine sahiptir ve bu etkileşim sonucunda ya buz oluşum aktivitesi inhibe edilir ya da güçlendirilir (Parody-Morreale et al., 1988; Zamecnik and Janacek, 1992; Duman et al., 1993).



Şekil 2.7. Kışlık çavdar (*Secale cereale*) bitkisinde antifriz (AFP) ve patojen ilişkili proteinlerin (PR) regülasyonu (Griffith and Yaish, 2004). CHT; kitinaz, GLU; glukonaz; TLP; thauman benzeri proteinler, ABA; absisik asit, SA; salisilik asit.

AFP, ilk olarak böcek ve balıklarda belirlenmiş ve daha sonra çavdar ve soğuğa dayanıklı bitkilerde tespit edilmiştir. Böcek, balık ve kışlık çavdar AFP'leri karşılaştırıldığında ortak özellik olarak; aspartik asit, asparagin, glutamik asit, glutamin, treonin, glisin ve alanin amino asitlerince zengin oldukları; aromatik amino asitlerin ise çok az bulunduğu belirlenmiştir ve polipeptiddeki amino asit dizisi bakımından benzerlik görülmemiştir (Kocaçalışkan, 2004). Yapılan dizi analizleri birçok AFP ile patojen–ilişkili (PR) proteinin homolog olduklarını

göstermektedir (Hon et al., 1995). Normalde, PR proteinler, patojen saldırısına cevap olarak apoplast içine salınır ve enzimatik olarak patojenin hücre çeperini parçalar ve patojenin enzimlerini inhibe eder (Griffith and Yaish, 2004).

2.6. Bitkilerde stres iletimi

Elverişsiz çevre şartları bitki büyüme ve gelişmesi üzerine etki etmekte ve hücre metabolizmasında alternatif gen ifadesi ve modifikasyonundan, büyüme hızı ve ürün verimine kadar geniş cevapların oluşmasına neden olmaktadır. Stresin etki ettiği hücrede, sinyal yollarının çalışması ve bu yollar arasındaki karşılıklı etkileşim birçok laboratuvarında araştırılan temel problemlerdir (Kacperska, 2004).

Kuraklık, soğuk ve tuz stresi cevap genlerinin aktivasyonunda görev yapan sinyal iletim yolu bileşenleri (İkincil haberciler, fosfoprotein cascade ve transkripsiyon faktörleri) hakkındaki bilgilerin hızla artmasına rağmen bu sinyal yolundaki algılayıcı (sensör) sistemler hakkındaki bilgiler nispeten azdır. Bitkilerin osmotik strese olan tepkisinde, stres seviyesine bağlı olarak farklı reseptörlerin aktivasyon kazandığı (Munnik and Meijer, 2001) ve diğer taraftan farklı sinyallerin, iş birliği içerisinde veya bağımsız olarak çalışan aynı kökenli reseptörlere sahip olduğu ve bu reseptörlerin birbirlerini takip eden sinyal akışını başlattığı ileri sürülmektedir (Xiong and Zhu, 2002). Soğuk, kuraklık ve tuz stresine maruz kalan hücrelerde üç sistemin çalıştığı ileri sürülmektedir (Xiong and Zhu, 2002) Bunlar; Ca^{2+} akışından sorumlu olan kalsiyum kanalları, fosforilasyon cascade başlangıcı olan histidin kinaz ve/veya iki bileşenli histidin kinaz ve fosfolipaz C'nin aktivasyonu ile meşgul olan G-protein çifti reseptörleridir ($GPCR_s$). Düşük sıcaklıklarda, zar akışkanlığındaki değişikliklerin merkezi rol oynadığı ileri sürülmektedir (Murata and Los, 1997) ve olası iki grup düşük sıcaklık sensörleri belirlenmiştir. Bunlar; kısa süreli reseptör potansiyelli kanal proteinleri (TRP) ve zar ilişkili kinazlardır (Sung et al, 2003).

Son zamanlardaki literatür bilgileri temel alınarak bitki hücrelerinde zar bağlı-strese duyarlı iki grup sistemin olduğu düşünülmektedir. Bunlar; redoks/ H_2O_2 oranına bağlı sistemler ve bu sistemlerin hücre çeperi ve plazma zarı ilişkilerinin bozulmasına bağlılığı olarak tarif edilebilir.

2.6.1. Redoks/H₂O₂ kaynaklı sinyal iletimi

Redoks sinyallerinin bitki metabolizma, morfoloji ve gelişiminde anahtar düzenleyici olduğu görüşü geniş kabul görmektedir (Pastori and Foyer, 2002). Redoks dengesi, süperoksit ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) yok edilmesi ve oluşması arasındaki hücreler arası uygun dengelerden kaynaklanmaktadır. H₂O₂ birikimi redoks sinyalinin yol açtığı gen ifadesi değişikliğini sağlar (Foyer et al., 1997). H₂O₂, üretildiği yerden farklı bölgelere kolayca taşınabilir. H₂O₂-indüklü birbirini takip eden sinyal akış elementleri hakkındaki bilgi oldukça azdır. H₂O₂'nin Ca⁺² ve hormonlar gibi diğer ikincil bileşiklerle olan ilişkileri kadar H₂O₂'nin mitogen aktivasyonlu protein kinaz (MAPK_s)'ın aktivasyonundaki rolü de iyi belirlenmiştir (Pastori and Foyer, 2002). Stresin neden olduğu hücrenin redoks durumunda meydana gelen değişiklikler ve H₂O₂ molekülünün oluşumu stresli durumların uygun sensörleri olarak yer alır.

Bitki mitokondri ve kloroplast ETC'sinde yer alan bileşenlerin, redoks dengesinin ayarlanmasında önemli bir role sahip olduğuna dair güçlü deneysel kanıtlar vardır (Surpin et al., 2002; Dutilleul et al., 2003).

Fotosentezde, kloroplastlarda düzenlenen redoks durumu, gen ifadesinin koordinasyonuna ve stresin neden olduğu belirli nükleer genlerin ifadesine etki eder (Huner et al., 1998; Pfannschmidt et al., 2001; Surpin et al., 2002).

Bitki hücrelerindeki oksidan-antioksidan oranı ve stres dayanıklılığı stresin neden olduğu mitokondri ETC'sindeki değişikliklere bağlıdır (Moller, 2001). Mitokondriye özgü redoks sinyallerinin, taşıyıcı moleküller tarafından nükleusa iletildiği, mitokondri ve diğer hücre kısımlarında ROS oluşumu süresince, antioksidan enzimlerin transkripsiyonunun artması ile sonuçlandığı ileri sürülmektedir (Dutilleul et al., 2003). Bu durum stres dayanıklılığını arttırmakta ve ROS birikimini azaltmaktadır. Bitkilerde, mitokondrideki H₂O₂ oluşumu, kloroplast ve peroksizomlardakinden çok daha azdır ve bununla birlikte oksidatif stres ile (örneğin, diğer organellerden mitokondriye difüze eden dışsal H₂O₂) bu miktar artabilir. H₂O₂ üretiminin artması, mitokondride sitokrom c tarafından salınan H₂O₂ ile karakterize edilen programlı hücre ölümlerine yol açtığı gözlenmiştir (Tiwari et al., 2002). Buna ek olarak; yüksek sıcaklık şoku (55°C), mitokondri enerjisi

metabolizmasındaki bozulmalardan dolayı, hızlı bir şekilde, H₂O₂ ve süperoksit anyonu oluşumuna neden olmaktadır (Vacca et al., 2004). Bu yüzden mitokondride stres sinyallerinin algılanması stresin şiddetine bağlıdır. Mitokondri orta derecedeki strese cevapta, stres iletim ağında önemli element olarak ikincil role sahipken, şiddetli strese maruz kalan hücrelerde H₂O₂'nin yüksek oranda oluşması ve bunların antioksidan sistemle yok edilememesi ile sinyalle aktive olan programlı hücre ölümlerini oluşturabilir (Vacca et al., 2004).

H₂O₂, aynı zamanda plazma zarında yer alan NADPH oksidazlar ve hücre çeperi peroksidazlarının aktivasyonunu içeren birkaç süreç tarafından hücre çeperinde üretilmektedir (Pastori and Foyer, 2002). Plazma zarının apoplastik yüzeyindeki bu güçlü oksidatif sinyaller, plazma zar kökenli elektron taşınım sistemlerinde ve iyon giriş-çıkışında değişikliklere neden olmaktadır (Pastori and Foyer, 2002).

2.6.2. Hücre çeperi - plazma zarı arayüzeyindeki sensör sistemler

Bitki hücrelerinin, hücre çeperi, plazma zarı ve sitoplazmik iskeletten oluşan güçlü, bütünleşmiş varlıklar olduğuna dair şüphe yoktur (Baluska et al., 2003). Bundan dolayı, zarda yer alan farklı fonksiyona sahip proteinlerde aktivite değişiklikleri ile sonuçlanan stresin neden olduğu plazma zarının fiziksel özelliklerindeki değişiklikler, hücre çeperi özelliklerinden ve varlığından etkilenmektedir. Bu görüş, daha sonraki çalışmalarda farklı stres faktörlerine karşı uyumu sağlanan hücrelerin strese karşı olan daha az yoğunluktaki cevaplarının güçlenen hücre çeperi ile ilişkili olduğunun gözlenmesi sonucunda daha da desteklenmiştir (Marshall et al., 1999; Stefanowska et al., 1999).

Hücre çeperi-plazma zarı arayüzeyinde tanımlayıcı ve düzenleyici birkaç grup protein olduğu düşünülmektedir (Kohorn, 2000). Bunlar; arabinogalaktan proteinler (AGP_s), selüloz sentaz ve reseptör benzeri protein kinazlardır. Bu proteinlerin hepsi hücre plazma zarı ve selüloz, hemiselüloz ve pektinler gibi hücre dışı karbonhidratlara bağlıdır.

2.6.2.1. Reseptör benzeri kinazlar (RLK_s)

Hücre çeperi ile ilişkili kinazlar (WAKs), reseptör benzeri protein kinazların yegane sınıfını oluşturur. WAKs, hücre çeperi ve sitoplazma arasında sinyal iletimi

fonksiyonu ile hizmet eder (Baluska et al., 2003). Bilinen beş WAKs'dan her biri plazma zarını kapsayan ve hücre çeperi içine uzanan sitoplazmik Serin/Treonin protein kinaz bölgesine sahiptir (Kohorn, 2000). Böylece, WAKs plazma zarından, esası hücre çeperi pektinleri olan karbonhidrat matriksine fiziksel olarak bağlıdır. WAKs, patojenlere karşı bitki dayanıklılığını arttırmakta ve salisilik asidin öldürücü seviyeye ulaşmasını engellemektedir (He et al., 1998). WAKs'nin abiyotik stres sinyal iletimindeki fonksiyonu günümüzde deneysel olarak doğrulanmayı beklemektedir.

Bitkilerde artan kanıtlar RLK_s'nin diğer bir sınıfının varlığını da desteklemektedir. Bu grup hücre çeperine kovalent olarak bağlı değildir; fakat hücreler arası bölge, transmembran bölge ve sitozolik kinaz bölgesinden meydana gelmektedir. Reseptör benzeri protein kinazı kodlayan *RPK1* gen ifadesinin, *Arabidopsis* bitkisinde dehidrasyon, yüksek tuz ve soğuk muamelesi ile hızlı bir şekilde indüklendiği bulunmuştur (Hong et al., 1997).

Elde edilen bilgiler, farklı RLK_s'lerin, stres faktörlerinin farklı etkileri ile aktive olabileceğini desteklemektedir. RLK_s ve histidin kinazların indüklenmesi için gerekli turgor basıncı azalma derecesi ve/veya hücrenin dehidrasyon derecesi ile ilgili bilgiler elde edilebilmiş değildir (Kacperska, 2004).

2.6.2.2. Mekanik algılayıcılar (mekanosensörler)

Dokunma ile aktive olan [(Touch-activated (TCH)] genlerin ürünleri kalmodülin ilişkili proteinler ve ksiloglukan endotransglikosilaz'dır (Braam et al., 1997). Bu genlerin küçük alt birimlerinin ifadesi, üç sınıf uyarıcı tarafından düzenlenir (Braam, 2000). Bunlar; 1- dokunma, rüzgar ve yaralanmalar gibi doğrudan mekanik bozulmalara neden olan uyarıcılar, 2- hormonlar (inositol-3-asetik asit vb.) ve karanlık gibi büyümeyi artıran uyarıcılar ve 3- sıcaklık değişiklikleridir. TCH genlerinin aynı zamanda düşük sıcaklık şokuyla da düzenlendiği gösterilmiştir (Polisensky and Braam, 1996).

Mekanik etkinin algılanmasında, en az 2 çeşit sensörün yer aldığı düşünülmektedir (Braam, 2000): 1- zar basıncı ve çeper basıncındaki değişiklikler, hücreler arasındaki sinyal iletimini sağlayan integrin benzeri moleküller tarafından sitoplazmik iskelete iletilir ve 2- mekanik stres, zar gerilimiyle zar kanallarının

açılmasına bağlı olan kalsiyum veya diğer iyon giriş çıkışı olarak iletilebilir. Sitozolik kalsiyumun hızlı bir şekilde azalıp çoğaldığı, mekanik bozulmalara maruz kalan bitkilerde gösterilmiştir (Haley et al., 1995). Düşük sıcaklığa duyarlı hücrelerin, plazma zarındaki mikro bölgelerin sertleşmesi, gerilim bağımlı kanalların indüklenmesi, sitozole olan kalsiyum akışının artması ile sonuçlanır. Plazma zarındaki mikro bölgelerin sertleşmesinde aktin sitoplazmik iskeletin yeniden düzenlenmesi, birincil neden olarak düşünülmektedir (Örvar et al., 2000). Bu nedenle, mekanik ve düşük sıcaklık sinyal iletim yollarının strese bağlı indüklenmesi, plazma zarında gerilim bağımlı kalsiyum kanallarının fonksiyonundaki modifikasyonlara bağlı olduğu açıktır.

2.6.2.3. Strese duyarlı kalsiyum kanalları

Voltaj yüklü kalsiyum kanallarının açılması sonucu sitozolik serbest kalsiyumun artması, birçok çevresel streslerin neden olduğu ikincil sinyaldir. Sinyale cevap olarak kalsiyum kanalları açılır ve Ca^{+2} hücre çeperi ve hücre organelleri gibi iki farkı havuzdan, sitoplazmaya elektrokimyasal gradiyent doğrultusunda girer (Knight, 2000). Ca^{+2} un, kanallar yolu ile hücre içine, ATP veya proton pompaları veya taşıyıcıları ile hücre dışına taşınması ile oluşan Ca^{+2} konsantrasyonu, kalmodülin ve kalsinörin B-benzeri proteinlerin aktivasyonu için spesifik bir potansiyele sahiptir.

Voltaj yüklü kanallar stres durumunda ortaya çıkar. Kısa süreli zar depolarizasyonu, ani sıcaklık düşüşüne maruz kalan salatalık köklerinde gözlemlenmiştir. Buna rağmen yavaş sıcaklık değişimlerinin dokularda bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir (Minorsky, 1989). Zar hiperpolarizasyonunun, plazma zarındaki Ca^{+2} geçiş kanallarını aktive ettiği bilinmektedir (Gelli and Blumwald, 1997). Aynı zamanda osmotik stresin plazma zarının elektrik özelliklerine etki ettiğine dair deneysel kanıtlar vardır (Lew, 1996).

Zar potansiyeli, bitki plazma zarının iyon transport sistemindeki H^{+} -çiftine bağlıdır. K^{+} hücrenin dışına akışı ile birlikte gelen hücreler arası ortamın alkalizasyonu, osmotik olarak şoklanan domates hücrelerinde belirlenmiştir (Felix et al., 2000). Soğan yumru kabuğunun dona cevabı ile plazma zar ATPaz ilişkisi deneysel olarak kanıtlanmıştır (Arora and Patla, 1991). Bu yüzden plazma zar H^{+} -ATPaz'ı

bitki hücrelerinde hücre çeperi ve plazma zarı ilişkileri etkileyen stres faktörlerinin algılanmasını kapsayan birincil sensörlerden biri olarak düşünülebilir. Ca^{+2} 'un salındığı kanallardan bir diğeri de vakuol zarında yer alır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla, hiperosmotik stresin *Arabidopsis*'in saçak kök hücre vakuollerinin elektrik özelliklerinde hızlı değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (Lew, 2004). Yine de vakuol zarının ikincil veya birincil stres sensörü olup olmadığının belirlenmesi için detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

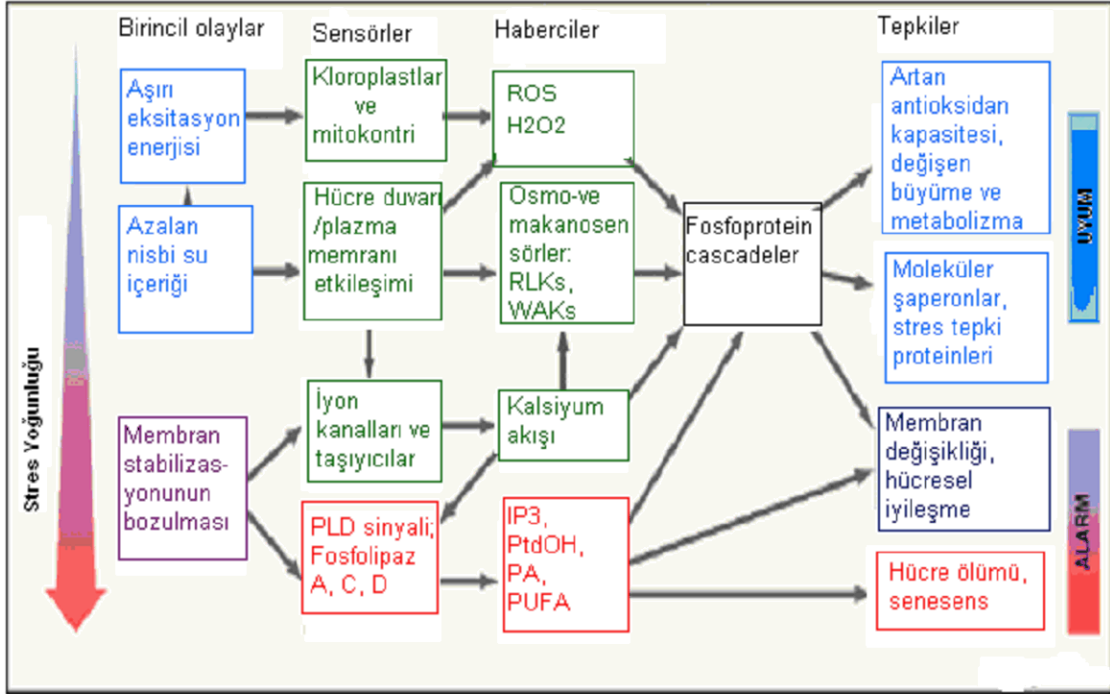
Hücre sel Ca^{+2} 'daki belirli değişikliklerin, özel sinyal iletim fonksiyonuna sahip olmayan Ca^{+2} dengesinin bozulmasını yansıtabileceği kesin olarak bilinmektedir. Diğer etkileri arasında, sitoplazmadaki Ca^{+2} 'un yükseliş devamlılığının fosfolipazları (fosfolipaz D vb.) aktive ettiği gösterilmiştir. Bu metabolik süreç fosfolipidlerin parçalanması ile sonuçlanır. Soğan yumru kabuğundaki donun çözülmesi ile meydana gelen dönüşümsüz zarara, sitoplazmik Ca^{+2} 'un kritik sınırın üstünde artışın neden olduğu ileri sürülmüştür (Arora and Patla, 1989).

Stres iletiminde zar fosfolipidleri, inositol-1,4,5-trifosfat (IP_3), fosfotidik asit (PA) ve diaçil gliserol (DAG) gibi önemli stres iletim moleküllerini oluşturmaktadır (Zhu, 2002). Tonoplastta Ca^{+2} kanallarının açılmasında görev alan kısa süreli IP_3 sinyalleri, fosfotidilinositol-4,5-bifosfat'nin (PIP_2) fosfolipaz C (PLC) kaynaklı hidrolizi ile meydana gelir.

Farklı abiyotik stres faktörlerine bitki cevaplarından sorumlu olan sensör tipleri hakkındaki bilgiler, sensör aktivasyonunun stresin neden olduğu birincil olaylara bağlı olabileceğine işaret etmektedir. Hücre; orta derecede ve/veya yavaş etki eden stres faktörlerine, aniden ve/veya şiddetli etki eden stres faktörlerine karşı olan tepkilerden daha farklı tepki vermektedir (Şekil 2.8).

Orta veya yavaş etki eden stres faktörlerinin varlığında hücre sel su içeriği (nisbi su miktarı)'nin azalması ve/veya kloroplastlarda artan eksitasyon basıncı (fotosentetik olarak aktif radyasyonun fazlalığından); **1.** Kloroplast ve mitokondri gibi plazma zarı ve hücre çeperi arasında yer alan redoks'a duyarlı sistemlerin aktivasyonunu sağlar, bu da H_2O_2 seviyesinin nisbeten az artmasına ve hücrenin antioksidan kapasitesinin artmasına neden olabilir. **2.** Hücre zarı ve hücre çeperi etkileşimindeki değişiklikler sırası ile hücre çeper ilişkili veya plazma zar ilişkili

reseptör benzeri kinazları (histidin kinaz dahil) ve plazma zarında yer alan mekanosensörleri aktive eder.



Şekil 2.8. Orta ve yüksek şiddetteki stres faktörlerine karşı oluşturulan tepkide sinyal iletiminin basit şeması (Kacpelska, 2004). PUFA; çoklu çift bağa sahip doymamış yağ asidi, IP₃; inositol-1,4,5-trifosfat, PA; fosfotidik asit, PLD; fosfolipaz D, PtdOH; fosfotidil alkol, RLKs; reseptör benzeri kinazlar, WAKs; hücre çeperi ilişkili kinazlar, ROS; reaktif oksijen türleri.

Bu etkileşimdeki değişiklikler, plazma zarında Ca²⁺ kanallarının açılmasını ve apoplasttan Ca²⁺ akışının artmasını kapsar. Kuraklık, soğuk ve tuz streslerine orta derecede maruz kalan bitkilerde, stres sinyal iletimi ile meşgul olan ABA sentezi ve birikiminin arttığı belirlenmiştir (Xiong et al., 2002). Orta derecede ve yavaş stres faktörlerinin ortaya çıkardığı bu sinyal iletim yolu 'erken cevap' ve 'geç cevap' genlerinin indüklenmesine neden olabilir (Denekamp and Smeeken, 2003). Bu genler, stresli koşullar altında bitki büyüme ve metabolizmasının düzenlenmesini sağlayan hücresel metabolizmanın kontrolünü kapsar.

Şiddetli veya aniden etki eden stres faktörleri sitozolde artan Ca²⁺ konsantrasyonunun devamlılığına yol açan zar destabilizasyonu (zar depolarizasyonu, iyon taşınım sistemindeki değişiklikler) ile hissedilir. Zar destabilizasyonunun sonucu olarak, fosfolipid sinyal iletimi çalışmaya başlar ve

ROS üretiminin artması, H₂O₂ birikimi, lipid peroksidasyonu ve aynı zamanda jasmonik asit ve etilen gibi hormonların sentezinin artmasına yol açabilir (Wang, 1999; Wang et al., 2000). Bütün bu tepkilerin sonucu olarak savunma sistemi aktif hale getirilir. Bu; hücrede, dönüşümsüz zararlara ve ölümlere ya da hücrenin iyileşmesine yol açabilen alarm durumudur. Zarar boyutu stres faktörlerinin etkisine bağlıdır.

Stresin etki ettiği hücrelerdeki stres sinyal iletim yollarının çalışması hakkındaki daha sonraki araştırmalar; turgor değişiklikleri dizini, plazma zarının işlevini yitirmesi, kloroplastlardaki fotosistem aktivitesi, H₂O₂ seviyesi ve birikimi gibi stresi çağrıştıran olayların tam ölçümü stres yollarının tanınmasına, bitki uyumu ve alarm cevaplarını kapsayan genlerin belirlenmesine yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Kacperska, 2004).

2.7. *Triticum* L. ve *Aegilops* L.'un tarihi ve yayılış alanları

2000 yılında, dünya buğday üretiminin yüzde 3.6'sını karşılayan Türkiye (BM Gıda ve Tarım Örgütü-FAO, 2000), dünyanın en önemli buğday üretici ve tüketici ülkeleri arasında yer almaktadır. Buğday, ekonomik öneminin yanında, yurdumuzda toplumsal, kültürel ve aynı zamanda tarihi ve hatta arkeolojik bir değerdir. Çünkü, buğdayın yurdumuz topraklarındaki öyküsü, pek çoğumuza hayal etmesi bile güç olabilecek kadar eski zamanlara; okuduğumuz, bildiğimiz tüm uygarlıklardan öncelere uzanmaktadır. Buğday, insanın bugün ulaştığı yaşam biçimini belirleyen devrim niteliğindeki değişikliklerin, üstelik de bugün üzerinde yaşadığımız coğrafyada meydana gelen değişikliklerin merkezinde yer alan değerdir (Bilgiç, 2002).

Günümüzden 12 bin yıl öncesinde göçebe insan toplulukları, eski dünyada uzun süren buzul çağının ardından gelen daha elverişli iklim koşulları sayesinde sayıca çoğalmaya ve doğada hazır bulduklarından daha fazla yiyeceğe gereksinim duymaya başladılar. Bunlar arasında, bugün "Verimli Hilal" olarak adlandırdığımız bölgede (Şekil 2.9) yaşayanlar diğerlerine göre daha şanslıydılar, çünkü; bu bölge, başta buğday ve arpa olmak üzere pek çok tahılın yabani atalarının merkezidir ve insanların küçük ama elde etmesi kolay ve besleyici değeri yüksek buğday ve arpa

tanelerini fark edip diyetlerine ve yaşamlarına katmaları kadar doğal bir şey olamazdı (Bilgiç, 2002).



Şekil 2.9. Verimli Hilal olarak tanımlanan ve bugünkü İran, Irak, Türkiye, Suriye, Lübnan, İsrail ve Filistin'i kapsayan yay biçimindeki bölgenin harita üzerindeki gösterimi (<http://bugday.org.tr>).

Önceleri bu iki tahılı doğadan toplamalarına rağmen zaman ilerledikçe kendileri ekip biçmeye başladılar ve bu durum, günümüzden bakınca algılanması zor büyüklükte bir sonucu beraberinde getirdi: İnsanlar, var oldukları ilk günden beri, binlerce yıldır sürdürdükleri göçebe avcı-toplayıcı hayat biçiminden yerleşik-üretici yaşama geçtiler, çünkü ekim ve hasat aynı yerde uzun süre kalmayı gerektiriyordu. Olasılıkla, uzunca bir süre her iki yaşama biçimi de beraberce götürüldü, ama sonunda, günümüzden yaklaşık 10 bin yıl önce yeryüzünde tarım yapılan ilk insan köyleri güneydoğu Anadolu'da ve kuzey Suriye'de görülmeye başladı (Nesbitt and Samuel, 1996). Suriye'deki Abu Hüeyra ve Türkiye'deki Cafer Höyük, Çayönü, Nevali Çori gibi arkeolojik ören yerleri bu ilk tarım köyleri arasında yer almaktadır. Bundan sonraki 1500 yıl içinde de buğday tarımı güneye (Örneğin Ürdün Vadisi'ndeki Beidha), doğuya (İran'daki Jarmo ve Ali Kosh) ve batıya (Orta Anadolu'daki Aşıklı Höyük, Can Hasan III ve Çatalhöyük) yayıldı. Avrupa'da ele geçen en eski kültür buğdayı örnekleri Yunanistan'dan elde edilip M.Ö. 5900 yıllarına tarihlenenlerdir (Nesbitt and Samuel, 1996). Neolitik (Yenitaş Çağı) olarak adlandırılan bu döneme ait yerleşmelerden, düzenli olarak ele geçen buğday kalıntıları tarımın, artı ürünün, yerleşik yaşamın ve toplumsal değerlerin

ortaya çıkmaya başladığı ilk zamanlarda buğdayın insanlar için vazgeçilmez yerine işaret etmektedir. Daha sonraları Anadolu'da görülmeye başlanan siyasi yapılanmalar ve büyük devletler döneminde ise buğdayın ekonomik ve kültürel önemi geride bıraktıkları büyük miktarlardaki buğday stokları ve kayalara oydukları dinsel sahnelerden izlenebilmektedir. Örneğin, Anadolu'daki en eski ve ilk imparatorluğu kuran Hititler'in Çorum yakınlarındaki başkenti Hattuşa'da, M.Ö. 13. yüzyıla tarihlenen 4200-5900 ton kapasiteli buğday siloları bulunmuştur (Seeher, 2001). Yine Hititler'e ait Konya yakınlarındaki İvriz Kaya Kabartması ise buğdayın toplumsal ve dinsel önemine işaret etmektedir (Şekil 2.10). Van'a bağlı Patnos'ta, M.Ö. 800-700'lere tarihlenen Urartu tapınak ve sarayının yakınlarında da ortaya çıkarılan tahıl siloları ve ele geçen buğday kalıntıları (Balkan, 1964) benzer geleneklerin Anadolu'da bin yıllar boyu devam ettiğine işaret etmektedir. Buğday, Anadolu'da yer alan tüm uygarlıklarda, günümüze kadar önemini korumuştur (Bilgiç, 2002).

Buğday, insan yaşamını ekonomik ve kültürel olarak etkilerken, insan da buğdayın evrimini etkilemiştir. İlk tarım köylerinde ekilen iki çeşit buğday vardı: Siyez (*Triticum monococcum*) ve gernik (*Triticum dicoccum*). Bunlar, yabani atalarına göre biraz daha iri taneli ama yine yabancılar gibi kavuzlu (taneyi sıkıca saran örtü) ve başağı taşıyan sapları yarı kırılğan yapıda türlerdi. Daha sonraki dönemlerde ise iri taneli, uzun boylu ve kavuzsuz, bu nedenle işlemesi çok daha kolay iki tür ortaya çıktı: Makarnalık buğday (*Triticum durum*) ve ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*). Buğdayın geçirdiği bu genetik ve fiziksel değişiklikler, insanların kendi işlerine yarayan özellikteki buğdayları seçerek bir sonraki yıl ekmek üzere ayırmaları ile başlayıp zaman içinde birikerek oluşan seçilim baskısının sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Bugün tüm dünyada yaygın olarak yalnız bu iki türün ekimi yapılmaktadır. Türkiye'nin bazı yüksek bölgelerinde ise çok kısıtlı miktarda da olsa, çoğunlukla hayvan yemi olarak siyez ve gernik tarımına rastlanmaktadır. Dünyanın başka bölgelerinde de yöresel iklim ve toprak koşullarına uygun, kısıtlı miktarda üretimi yapılan başka buğday türleri ya da alttürleri mevcuttur. Ayrıca, Avrupa'daki spelt buğdayı gibi (*Triticum spelta*) geçmişte çok yaygın olarak ekilirken sonradan makarnalık ve ekmeklik buğdaylar ile yeri değiştirilen ve kaybolan buğday türleri de mevcuttur (Bilgiç, 2002).



Şekil 2. 10. Hititler'e ait Konya yakınlarındaki ivriz kaya kabartması ([http:// bugday.org.tr](http://bugday.org.tr)).

Ülkemiz yabancı buğday türlerinin (*Aegilops* sp.) genetik çeşitlilik merkezidir. Orta Doğu ve ona komşu Akdeniz çevresi ile Batı Asya, 22 yabancı buğday türünün yayılım gösterdiği alandır. Ancak 14 tür ile bunların en yoğun biçimde bir arada bulunduğu coğrafya ülkemizdir (Van-Slageren, 1994). Ülkemizin her köşesinde rastlayabileceğimiz yabancı buğday türleri, hem buğdayın ıslahı, yayılışı ve evrimi ile ilgili çalışmalarda hem de günümüzdeki makarnalık ve ekmeklik buğdayların kalitelerinin artırılması amacıyla yapılan genetik iyileştirme çabalarında büyük önem taşımaktadır. Günümüze ait yabancı ve ilksel (siyez) buğday örnekleri üzerinde yapılan çalışmalar, Diyarbakır'daki Karacadağ bölgesinin siyez çeşidi buğdayın tarımının başladığı yer olduğunu göstermiştir (Heun et al., 1997). Bu önemli çalışma, ülkemizdeki buğday varlığı ve çeşitliliği üzerine kapsamlı araştırmalar yapılması gereğini işaret etmektedir. Böylece, ülkemizin buğday tarihi,

gelişimi ve iyileştirilmesi konularındaki henüz keşfedilme aşamasında olan büyük potansiyelini kullanma olanağı doğacaktır (Bilgiç, 2002).

2.8. *Triticum* L. ve *Aegilops* L. cinslerinin sistematığı

Linnaeus (1953)'nin isimlendirdiği *Triticum* L. ve *Aegilops* L. cinsleri, *Liliopsida* sınıfı, *Poaceae* (*Graminaceae*) familyasının, *Pooideae* alt familyasının, *Triticeae* tribusunda yer almaktadır (Davis, 1985).

Triticum cinsi, buğdayın çoğunlukla kültür türlerini, *Aegilops* cinsi ise yabani buğday türlerini kapsamaktadır (Özgen, 1984). Sistematik olarak *Aegilops* cinsi, *Triticum* ve *Agropyron* cinsi arasında yer alır (Raskina et al., 2004). Bu ikiye bölünme taksonomistlerce 200 yıl boyunca kabul görmüş olmasına rağmen çeşitli bilim adamlarınca yapılan değişiklikler de kullanılmaktadır (Kimber and Feldman, 1987). Özellikle son yıllarda *Triticum* ve *Aegilops* cinslerine bağlı türlerin aralarındaki yakınlık nedeni ile *Triticum* adı altındaki tek bir cinste toplandığı görülmektedir (Özgen, 1984).

2.9. Buğdayın sitogenetiği

Buğdaylarda temel kromozom sayısının 7 olduğunun Sakamura ve Sax tarafından saptanmasından ve doğada buğdayların 14, 28 ve 42 kromozom sayıları gösteren üç grup oluşturduklarının anlaşıldığı 1920'lerden sonra bu üç grubun oluşumunda allopoliploidinin (genetik olarak birbirinden farklı kromozom takımlarının bir araya gelmesi ile oluşan organizma) etkili olduğu melezleme çalışmalarıyla gösterilmiş ve diploid, tetraploid ve hekzaploid türler için genom formülleri belirlenmiştir (Kün, 1988). Buna göre;

Diploid buğday genom formülü	AA	(2n=14)
Tetraploid buğday genom formülü	AABB	(2n=28)
Hekzaploid buğday genom formülü	AABBDD	(2n= 42)'dir.

Triticum diploidlerinin sınıflandırılması yapıldığında 9 diploid tür tanımlanmıştır. Bunların bazılarının genlerinin diğerlerinden değişerek geldiği düşünülmektedir (Kimber and Sears, 1987).

Tetraploid buğdayların, diploid buğdayların farklı biyotiplerinden köken alan B ve A genomunun otoploidisi ile oluştuğu düşünülmektedir (Bedetti et al., 1974). Bunlar arasında ilk olarak tanımlananlar *T. turgidum* var. *diccocooides* ve *T. timopheevii*'nin yabancı formlarıdır.

Hekzaploid buğdaylar ise 3 ata türden türevlenen A, B ve D olarak isimlendirilen 3 yakın ilişkili genomdan oluşmaktadır (Lagudah et al., 2001).

D genomu içeren türler 3 farklı kısımda incelenmektedir. 1. grupta *T. cylindricum* (*Ae. cylindrica*) ve *T. aestivum* bulunmaktadır. Bu grubun türlerinin diploid ataları *T. tauschii*'nin D genomuna çok az bir değişiklikle sahip oldukları görülür. 2. grup *T. crassum*'un hekzaploid ve tetraploid formlarını içerir. Bu grubun formları 1. gruptaki D genomunun biraz daha değişmiş halidir. 3. grupta olan *T. juvenale* ve *T. syriacum* diğer bütün D genomlarının esaslı bir şekilde değiştirilmesinden oluşmuştur. A genomu içeren türler kültür çeşitleridir. Hekzaploid ve tetraploid buğday türlerinde bulunurlar. A genomu, diploid buğdaylardan değişmeden geçmiştir. Diğer bir grup U genomudur. Birçok tetraploid U genomu arasında, doğal hibridizasyon olduğu bildirilmiştir (Kimber and Feldman, 1987). B genomunun kaynağının tartışmaya açık olduğu kabul edilmiştir. Morfolojik, sitogenetik ve biyokimyasal kanıtlar sonucunda *Ae. spaldoides*, B genomu vericisi olarak bildirilmiştir (Bedetti et al., 1974). B veya G genomuna homolog olan hiçbir diploid tanımlanmamıştır. S genomu diploidleri, B veya G genomuna diğer genomlardan daha yakındırlar (Kimber and Feldman, 1987).

2.10. Buğdayın morfolojisi

Kök: Orijinleri, oluşum sırası ve düzenindeki değişim bakımından iki farklı gruba ayrılır. Embriyonal kökler, doğrudan tohum embriyosundaki radikulanın gelişmesiyle meydana gelir. Embriyonal kök sayısı 3 ile 6 arasında olup genetik olarak belirlenmektedir. Nodal (adventif) kökler ise bitkide vejetatif gelişimin ilerlediği ve besin gereksiniminin arttığı dönemde çevre koşullarına bağlı olarak genellikle embriyonal kök oluşumundan kısa bir süre sonra, koleoptil nodundan veya ilk dört yaprak ile ilişkili olan nodlardan çıkmaktadır. Nodal kökler, bitkiye besin maddeleri taşır, bitkinin toprağa sıkıca tutunmasını sağlayarak destek görevi yaparlar. Embriyonal köklere oranla çapları daha kalındır ve aynı koşullar altında

uzamaları daha hızlıdır; bu kökler, bitkinin tüm yaşamı boyunca yenilenebilmektedir (Lersten, 1987).

Gövde (sap): Buğday bitkisinde gövde, ince olup sayısı genellikle 5 ile 9 arasında değişen boğum (nod) ve boğumlarından (internod) oluşur. Boğumlar, sapla yaprak kınının bağlandığı noktalardır ve içleri doludur. Boğumları ise destek ve iletken dokudan meydana gelir ve içi boştur. Buğday bitkisinde ana gövdeden başka gövdelerin meydana gelmesi olayına 'kardeşlenme' denir ve vejetatif evrede ana gövdeden 3. yaprak çıktıktan sonra ilk kardeş meydana gelmektedir. Ana gövdeden sonra oluşan ilk kardeşin gelişimi hemen hemen ana gövde ile aynı olmasına rağmen daha sonraki kardeşlerin gelişimi ana gövdeye göre daha zayıftır (Lersten, 1987).

Yaprak: Boğumdan çıkıp boğumarasını saran yaprak kını (vagina), yaprak ayası, yaprak ayasının kınla birleştiği yerde gövdeyi iki yandan saran bir çift küçük organ olan kulakçık (ligula) ve yaprak ayasının sapa ulaştığı yerde sapla yaprak ayası arasında yaprak kınının üst uzantısı biçiminde zarımsı bir organcık olan yakacık olmak üzere 4 kısımdan oluşmaktadır. Gövdenin en üst boğumundan çıkan yaprağa 'bayrak yaprak' adı verilir ve çiçek topluluğu bu yaprakların kını içinde gelişip ortaya çıkmaktadır (Lersten, 1987).

Çiçek: Çiçeklenme uyarımının tamamlanmasından belli bir süre sonra, gövde büyüme bölgesindeki (apeks) meristem farklılaşır ve başak kısımlarına ait taslaklar (primordium) ortaya çıkar. Buğdayda çiçek durumu başak (spika) biçimindedir ve çiçekler başakcık (spikula) adı verilen organlar içinde bulunur. Başakcık iki dış kavuz (gluma) ve bunlar arasında yer alan çiçek ya da çiçek topluluğu taşıyan organlardan oluşur. Başakcık içerisinde çiçekler başakcık eksenine bağlıdır. Buğday bitkisi başak eksenindeki her boğumda bir başakcık taşır ve her başakcık da 3-6 arasında değişen fertil çiçeğe sahiptir. Çiçek lemma, palea, 3 stamen ve 1 pistilden oluşur. Dışı organın stıgması iki parçalı olup her biri üzerinde fırça biçiminde tüyler bulunur (Lersten, 1987).

Meyve: Buğdayda meyve karyopsis olup, meyve kabuğu (perikarp) ve tohum kabuğu (testa) birbirine bitişik durumdadır. Tohum; testa, besi doku (endosperm) ve embriyodan oluşmaktadır (Lersten, 1987).

2.11. Buğday ıslahında *Aegilops*'ların kullanımı

Modern bitki ıslahı uygulamaları, günümüzde buğdaydaki genetik çeşitliliği giderek azaltmakta ve ıslah çalışmalarının dar alanlarda yapılmasına neden olmaktadır. Buğdayın yakın akrabalarının kullanılması, buğday ıslahında yeni gen kaynaklarının oluşturulması için gereklidir. Yapılan çalışmalarda buğdaya en yakın akraba olarak *Aegilops*'lar gösterilmekte ve cinsler arası melezlemelerde bu bitkilere öncelik verilmektedir (Özgen, 1984).

Buğday ıslahında cinsler arası melezlemelerden yararlanma çalışmaları son yıllarda çok yaygınlaşmıştır (Özgen, 1984). Buğdayın yabani akrabaları hastalıklara dirençte ve strese karşı tolerans sağlayan genlerin potansiyel vericisi olarak dikkat çekmiştir (Landjeva and Ganeva, 2000). Özellikle *Aegilops*'lar buğdaya olan yakın akrabalığı nedeni ile çok kullanılabilir duruma gelmiştir. Buğday ıslahında geniş ölçüde yararlanılan *Aegilops*, buğday evrimi ve sınıflandırılması, buğdayda erkek kısırlığının kazandırılması, hastalıklara karşı dayanıklılık ve kalite ıslahı gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır.

2.12. Buğdayın ekonomik önemi

Tek yıllık, otsu ve serin iklim bitkisi olan buğday, danesinin uygun beslenme değeri, taşınma, saklanma ve işlenmesindeki kolaylık ve bitkinin geniş adaptasyon sınırları nedeniyle (Kün, 1988) dünyada en geniş çapta yetiştirilen, en çok tüketilen ve ilk ıslah edilen tahıllardan biridir (Kronstad, 1996). Dünya tahıl üretiminin bu denli yüksek olmasının nedenini başlıca iki gruba ayıracak olursak, ilk olarak *Poaceae* familyasının; tarımın tarihsel gelişimi içinde en eski kültür bitkisi oluşu (Kün, 1988) ve ikinci olarak çok geniş bir bitki grubu oluşunu sayabiliriz, yani; geniş tür, çeşit ve ekotip zenginliğine sahip olup ekvatorlardan kutuplara ve alçak ovalardan yüksek yaylalara kadar geniş bir ekim alanına sahiptir. Yüksek verimli topraklarda yetişen tahıl, tür ve çeşitleri olmasına karşın aynı zamanda verimsiz topraklarda dahi yetişen tür ve çeşitleri de bulunmaktadır. Dolayısı ile böyle bir geniş alanda yayılım gösterebilmesi için geniş bir toleransa sahip olması gerekmektedir (Briggle and Curtis, 1987; Kün, 1988).

Elde edilen istatistikî bilgilere göre; dünyada tahıllara ayrılan tüm alanların % 42,3'ünde serin iklim tahılları ekilmektedir. Türkiye'de 1990 yılı verilerine göre

işlenen alan 24,192 milyon hektardır ve tahıl ekim alanı nadas ile beraber bu alanın % 78,7 sini oluşturmaktadır. 2005 verilerine göre Türkiye'de toplam tahıl ekim alanı 14,07 milyon hektar, üretimi ise 34,5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Serin iklim tahılları ise 12,9 milyon hektar ekim alanı ile tahıl alanının yaklaşık % 91'ini, 30 milyon ton üretim ile de toplam tahıl üretiminin % 86,7'sini karşılamaktadır. Buğday, 9,3 milyon hektar ekim alanı ile Türkiye'de en çok ekim alanı sahip bitki konumundadır. Aynı zamanda buğday ekim alanı tüm tahıl ekim alanının % 66'sına karşılık gelmektedir. Son 15 yıllık veriler incelendiğinde dünyada azalan tahıl ekim alanı ve üretime karşılık Türkiye'de bu rakamlar çok önemli oranda bir değişiklik göstermemiştir. Ülkemizde 1990 yılında 9,3 milyon hektar olan buğday ekim alanı ve 14,07 milyon hektar olan tahıl ekim alanı günümüzde de aynı sınırlardadır (FAO, 2005).

Dünyada insanların aldıkları günlük kalorinin %50'sinden fazlası tahıllarla karşılanmaktadır ve daha spesifik olarak bakılacak olursa Avrupa'nın günlük kalori ihtiyacının %30'dan fazlası Türkiye'nin ise %53'ü ekmek ve diğer buğday ürünlerinden karşılanmaktadır.

3. MATERYAL VE METOTLAR

3.1. Kimyasallar

Bu araştırmada kullanılan kimyasallar Sigma, Fluka, Merck ve Jt. Baker'ın analitik grade ürünüdür. Çözeltilerin tamamının hazırlanmasında distile su kullanılmıştır.

3.2. Bitki materyali

Bu araştırmada kullanılan, ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitleri ve yabancı buğday türüne ait elit tohumlar aşağıda belirtilen kaynaklardan temin edilmiştir:

a) Hekzaploid, ABD genomundan *Triticum aestivum* L. var. *aestivum*'a ait ekmeklik buğday çeşidi Hawk, 2004 hasadı olup, Erzurum Araştırma Enstitüsünden,

b) Tetraploid, AB genomundan *Triticum turgidum* L. var. durum (*T. durum* Desf.)'a ait makarnalık buğday çeşidi Kızıltan 91, 2004 hasadı olup, Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden,

c) Tetraploid, CD genomundan *Aegilops* L. yabancı buğday türü olan *Aegilops cylindrica*'nın başakları, 2004 yılında doğal olarak yetiştiği Hacettepe Üniversitesi Beytepe kampüs arazisinden toplanmıştır.

3.3. Bitki yetiştirme yöntemi

Bu araştırmada çimlendirme ve fide gelişimi 300 cm³ hacmindeki plastik kaplarda gerçekleştirilmiştir. Kapların alt kısımlarına fazla suyun drenajını sağlamak amacı ile 4 adet delik açılmıştır. Bitki yetiştirme ortamı olarak perlit kullanılmıştır. Tohumlar %3'lük sodyum hipoklorid (NaOCl) ile sterilize edildikten sonra 3 kez saf su ile yıkanarak, 5 saat (sa) distile suda (dH₂O) şişirilmiştir. Sterilizasyondan sonra saf suda şişirilen tohumlar, her saksıya 15 tohum olacak şekilde 2.5 cm derinliğe ekilmiş ve yetiştirme ortamına, tarla kapasitesine gelinceye kadar dH₂O ilave edilmiştir. Tohumlar çimlendikten sonra seyreltilerek fide sayısı 10'a indirilmiştir. Tüm denemeler kontrollü iklim dolabında gerçekleştirilmiş olup 72 saat süresince saf su ve bu süreden sonra denemenin sonuna kadar tam Hewitt besin çözeltisi (Hewitt, 1966) tarla kapasitesine gelinceye kadar her gün verilmiştir.

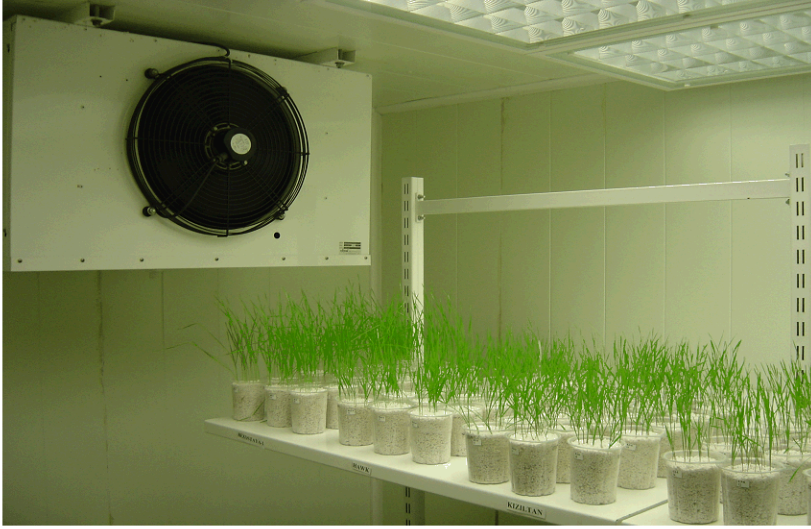
3.3.1. Bitki yetiştirme ortamı olarak perlit

Perstein sözcüğünden türemiş ince taç anlamına gelen perlit, çok sayıda konsantrik (soğansı) yarık içeren volkanik bir kayadır. Mağmatik suyun, oluşum sırasında emilmesi sonucu bünyesinde bir miktar su bulunur. Soğan kabuğu biçiminde ince taneli görünümü kayacın hızlı soğuması ile oluştuğunu göstermektedir. Ocaktan çıkarıldıktan sonra öğütölüp çeşitli işlemlerden geçirilen perlit özel fırınlarda 850-1100°C kadar ısıtıldığında, önce 350°C de gevşek bağlı su uzaklaşır, 850°C de ise perlit tıpkı mısırdaki olduğu gibi patlayarak, başlangıçtaki hacmin 4-20 katına ulaşır. Doğada saydam açık gri, yeşilimsi, morumsu, sarımtırak veya siyah renklerde bulunabilen perlit genleşme sonucunda rengi açık gri veya tamamen beyaza döner.

Perlitin su geçirgenliğinin, su tutma özelliğinin yüksek olmasının yanında havalanma, drenaja karşı sorun yaratmaması, mineralojik kökeni ve pH değerinin nötre yakın olması perlitini, bitki yetiştirme ortamı olarak kullanımda ön plana geçirmiştir.

3.4. Bitki yetiştirme koşulları

Serin iklim bitkisi olan buğdayın optimum çimlendirme sıcaklığı 20-25°C olarak bildirilmiştir (Kün, 1988). Bu nedenle tohumlar 20°C karanlıktaki 48 saat çimlendirilmiştir. Bitkiler çimlendikten sonra kontrollü koşullarda, 20±1°C sıcaklık, 100 µmol m⁻²s⁻¹ işık yoğunluğu, 10/14 sa (gündüz/gece) fotoperiyot ve %75 nem'de iklim odasında büyütölmüştür. Denemelerin gerçekteşiği iklim odası ve bitkilerin düşük sıcaklık ve don sıcaklığı uygulamalarına maruz kalmadan önceki genel görünüşü Şekil 3.1'de verilmiştir.

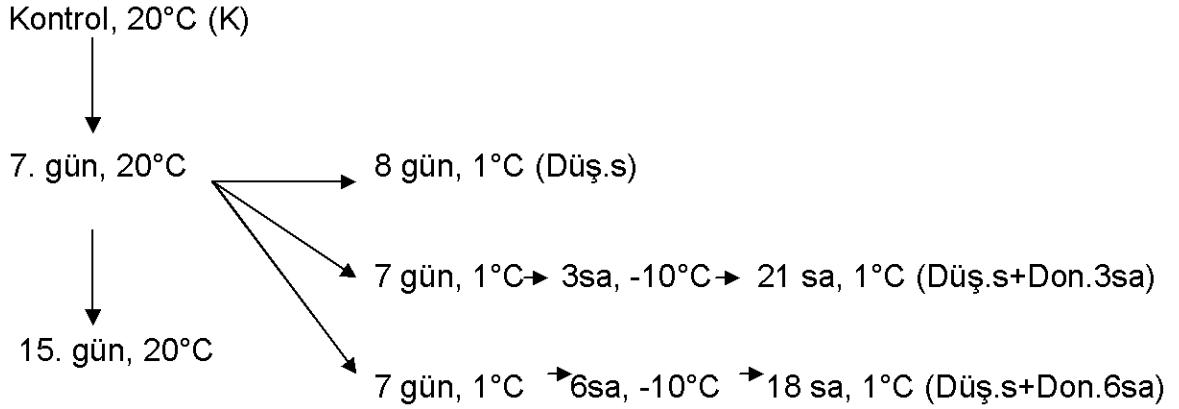


Şekil 3.1. Soğuk odanın genel görünümü.

3.5. Sıcaklık uygulamaları

Deneme süresince 4 farklı sıcaklık uygulaması gerçekleştirilmiştir. İlk 7 gün bütün bitkiler kontrol sıcaklığında (20°C) büyütülmüştür. 7. günün sonunda kontrol grubu hariç diğer bitkiler düşük sıcaklık uygulaması için $+1^{\circ}\text{C}$ sıcaklığa ayarlanmış iklim odasına transfer edilmiş ve burada 8 gün büyütülmüştür. Düşük sıcaklık uygulamasının 7. gününde birinci grup bitkilere 3 sa, ikinci grup bitkilere 6 sa süre ile don sıcaklığı (-10°C) uygulanmış ve üçüncü grup bitkiler ise düşük sıcaklık uygulamasının sonunda düşük sıcaklık etkisinin belirlenmesi için kontrol sıcaklığına ayarlı bitki yetiştirme odasına konularak 7 gün süre ile büyütülmeye devam edilmiştir. 3 ve 6 sa don sıcaklık uygulamalarından sonra bitkiler sırası ile 21 ve 18 sa düşük sıcaklıkta (1°C) bekletilmiş, ardından don sıcaklığı etkisinin belirlenmesi için kontrol sıcaklığında 7 gün büyütülmüştür. Düşük sıcaklıktan ($+1^{\circ}\text{C}$) don sıcaklığına (-10°C), saatte 2°C azaltılarak inilmiştir. Kontrol bitkileri deneme süresince (22 gün) 20°C büyütülmüştür.

Bu araştırmadaki sıcaklık uygulamaları ve her bir uygulama için kullanılan sıcaklık programı aşağıda kısaca tanımlanmıştır:



Düşük sıcaklık uygulamalarının ardından, bitkilerin stres zararlarını telafi edebilme yeteneğini gözlemek için denemeye kontrol sıcaklığında 7 gün daha devam edilmiştir. Enzim aktivitesi, iyon sızıntısı ve membran dayanıklılık indeksi için sıcaklık uygulamalarının hemen ardından 15. günde, gövde taze ve kuru ağırlığı ve yüzde su miktarı ise denemenin sonlandırıldığı 22. günde alınan örneklerde belirlenmiştir. Bitki gövde uzunluğu ise düşük sıcaklık uygulamasından önce 7. günde, düşük sıcaklık uygulamalarından sonra 15. günde ve denemenin sonlandırıldığı 22. günde ölçülmüştür.

3.6. Belirlenen bazı parametreler

3.6.1. Gövde uzunluğu

Düşük sıcaklık uygulamalarından önce 7. günde, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamasından sonra 15. günde ve denemenin sonlandırıldığı 22. günde, kontrol ve düşük sıcaklık uygulamalarında fidelerin gövde uzunlukları, kök ve gövdenin birleştiği yerden yaprak ucuna kadar ölçülmüştür. Gövde uzunlukları, cm/bitki olarak verilmiştir. Deneme 4 tekrarlı olup her bir saksıdan 8 bitki olmak üzere 32 bitkiden (n=32) alınan veriler kullanılmıştır.

3.6.2. Gövde taze ve kuru ağırlığı

Denemenin sonlandırıldığı 22. günde, kontrol ve düşük sıcaklık uygulamalarında, bitkilerinin toprak üstü organlarının taze ağırlıkları tartıldıktan sonra 80°C'lik etüvde 2 gün süresince kurutulmuş ve ardından tekrar tartılarak bitkilerin kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Bitkilerin taze ve kuru ağırlıkları mg / bitki olarak verilmiştir. Deneme

4 tekrarlı olup her bir saksıdan 4 bitki olmak üzere 16 bitkiden (n=16) alınan veriler kullanılmıştır.

3.6.3. Gövde su miktarı

Denemenin sonlandırıldığı 22. günde bütün sıcaklık uygulama gruplarında, gövdelerin taze ve kuru ağırlıkları kullanılarak bitkilerinin su miktarı, Gibon vd., 1997'ye göre belirlenip, aşağıda belirtilen formülle yüzde olarak hesaplanmış ve bitkilerin su içeriği % bitki olarak verilmiştir. Deneme 4 tekrarlı olup her bir saksıdan 4 bitki olmak üzere 16 bitkiden (n=16) alınan veriler kullanılmıştır.

$$\text{Su miktarı(\%)} = \frac{[(\text{Taze Ağırlık} - \text{Kuru Ağırlık}) / \text{Taze Ağırlık}] \times 100}{}$$

3.6.4. Yaprak dokularında iyon sızıntısı

Yaprak dokularında iyon sızıntısı, yaprak segmentlerinde Sairam vd., (1997) ve Prasil ve Zamecnik (1998)'den modifiye edilerek belirlenmiştir. Sıcaklık uygulamalarının ardından birinci yaprak ayasının en geniş yerinden 1'er cm'lik 4 segment farklı fidelerden alınmıştır. İyon sızmasının ölçülmesi için hazırlanan ve içerisinde 5 ml dH₂O bulunan cam tüplere yaprak parçaları her tüpe bir tane olacak şekilde konulmuş ve 24 sa, 100 rpm'de sallayıcıda tutulmuştur. Bu sürenin sonunda elektrik iletkenlikleri (C1) ölçülmüştür. Daha sonra aynı materyal 25 dak. 100°C sıcak su banyosunda bekletilmiş ve materyal oda sıcaklığına geldikten sonra tekrar elektrik iletkenlikleri ölçülmüştür (C2). Elde edilen değerler aşağıdaki formülle hesaplanarak yaprak dokularından sızan iyon miktarı yüzde olarak hesaplanmıştır. Deneme 4 tekrarlı olup her bir saksıdan 4 bitki olmak üzere 16 bitkiden (n=16) alınan veriler kullanılmıştır.

$$\text{İyon Sızıntısı (\%)} = \frac{(C1 / C2) \times 100}{}$$

3.6.5. Yaprak dokularında membran dayanıklılık indeksi

Membran dayanıklılık indeksi (MDİ), yaprak dokularında iyon sızmasının yüzde olarak hesaplanması esnasında belirlenen C1 ve C2 değerleri kullanılarak aşağıdaki formül (Sairam et al., 1997) ile yüzde olarak hesaplanmıştır. Deneme 4 tekrarlı olup her bir saksıdan 4 bitki olmak üzere 16 bitkiden (n=16) alınan veriler kullanılmıştır.

$$\%MDI = (1 - C1 / C2) \times 100$$

3.6.6. Bazı antioksidan enzim aktiviteleri

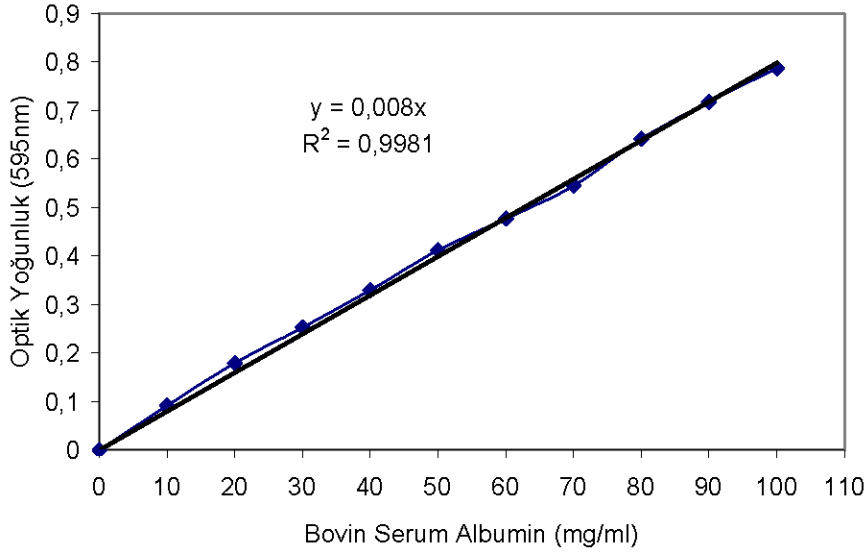
Antioksidan enzim aktivitesi süpernatanın protein miktarına bağlı olarak belirlendiğinden (örneğin, Ünit.mg/protein ve nmol NADPH/dak.mg protein), her bir uygulamada örneklerden elde edilen süpernatanda ki protein miktarı belirlenmiştir.

3.6.6.1. Protein miktarı

15. günde buğday tür ve çeşitlerine ait kontrol ve stres gruplarından alınan yaprak örneklerinin protein konsantrasyonu, Bradford metoduna (Bradford, 1976) göre belirlenmiştir. Konsantre Bradford çözeltisi (5X) hazırlanır ve +4°C'de karanlıkta muhafaza edilir. Protein miktarının belirlenmesinde 5X olarak hazırlanan çözeltinin minimum 7 gün öncesinden 1X'e seyreltilmiş çözeltisi kullanılır.

Örneklerin protein miktarının belirlenmesinde, Bovin Serum Albumin (BSA) standart grafiği kullanılmıştır. Standart BSA çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan standart BSA çözeltisinden farklı konsantrasyonlarda (0-100µl) toplamda 5.5 ml olacak şekilde, Bradford çözeltisi (1X), BSA ve dH₂O'dan oluşan karışım kullanılmıştır. Hazırlanan karışımın optik yoğunlukları 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 3 tekrarlı olarak okunmuş ve alınan verilere göre grafik hazırlanmıştır. Kör olarak ise BSA hariç dH₂O ve Bradford içeren karışım toplamda 5.5 ml olacak şekilde kullanılmıştır.

Standart için hazırlanan kör, örnek için hazırlanan kör ile içerik olarak aynıdır. Üç tekrarlı olacak şekilde hazırlanan her bir tüpün içerisine sırası ile örnek, dH₂O Bradford çözeltisi (1X) ilave edilmiştir. Her bir tüp yaklaşık 10 sn vortekslelendikten sonra oda sıcaklığında minimum 10 dakika (dak.) bekletilmiş, bu sürenin sonunda çözeltinin absorban değerleri, 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) okunmuştur. Örneklerin protein konsantrasyonu, standart için elde edilen grafikten yararlanılarak hesaplanmıştır. Şekil 3.2. 'de örnek bir protein standart grafiği verilmiştir.



Şekil 3.2. Protein standart grafiği.

3.6.6.2. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim aktivitesi Nitroblue tetrazolyum (NBT)'un fotokimyasal indirgenmesini esas alan yöntem (Beyer and Fridovich, 1987) göre 560 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bitki homojenizasyonu için, 0.5 gr taze yaprak örneği, sıvı azotta öğütülmüş ve 2 ml, 100 mM K-PO₄ (pH 7.0), %2'lik polivinilpirolidon (PVP) ve 1mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ilave edilmiştir. Homojenat 14.000 rpm, +4C'de 20 dak. santrifüj edilmiştir ve enzim içeren süpernatant kısmı kullanılmak için diğer bir steril tüpe aktarılmıştır. 0.05 M K-PO₄ (pH 7.8), 9.9x10⁻³ M L-Metiyonin, 5.7x 10⁻⁵ M NBT, %1'lik triton X-100 karıştırılmış ve bu karışımdan alınan 1ml küvete konulmuş, üzerine enzim içeren süpernatant ve son olarak reaksiyonu başlatan 0,9 µM riboflavin ilave edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra küvetler 375µmol.m⁻².s⁻¹ ışık yoğunluğunda floresan ışığına maruz bırakılmış ve absorbans değerleri köre karşı spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 560nm dalga boyunda okunmuştur. Toplam SOD aktivitesi ünite.mg/protein olarak daha önce hazırlanan SOD standart grafiğinden faydalanılarak hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesinin aktivitesi, NBT redüksiyonunda %50'lik bir inhibisyon yaratmak için gereken SOD miktarı olarak tanımlanmıştır.

3.6.6.3. Glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi

Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) enzim aktivitesi Rao vd. (1995)'e göre belirlenmiştir. Bitki homojenizasyonu için, 0.5 gr taze yaprak örneği, sıvı azot ile öğütülmüş ve 2 ml, 100 mM K-PO₄ (pH 7.0), %2'lik PVP ve 1mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ilave edilip, homojenat 14.000 rpm, +4C'de 20 dak. santrifüj edilmiştir ve karışımın süpernatant kısmı kullanılmak için diğer bir steril tüpe aktarılmıştır. 2mM Na₂EDTA içeren 100 mM K-PO₄ tampon (pH 7.8) , 0.5 mM okside glutasyon (GSSG) ve 0.2 mM NADPH'den alınarak son hacim 1000µl'ye tamamlanmış ve 100 µg protein içeren süpernatant ilave edilerek reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon NADPH eklenmesi ile başlayacağı için karışıma en son eklenmiştir. Enzim aktivitesi spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 320nm dalga boyunda en az üç tekrarlı olarak belirlenmiştir. NADPH enzimatik olmayan oksidasyonu için 340 nm dalga boyunda GSSG yokluğunda kaydedilen azalışla düzeltme yapılmıştır. Enzim aktivitesi, NADPH'ın ekstinksiyon katsayısı (6.2 mM.cm⁻¹) kullanılarak enzimatik olmayan oksidasyon çıkarıldıktan sonra reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol NADPH/dak.mg protein).

3.6.6.4. Peroksidaz (POD) enzim aktivitesi

Peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi Bergmeyer (1974)'e göre belirlenmiştir. Bitki homojenizasyonu için, 0.5 gr taze yaprak örneği, sıvı azot ile öğütülmüş ve 2 ml, 100 mM K-PO₄ (pH 7.0), %2'lik PVP ve 1mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ilave edilmiştir. Homojenat 14.000 rpm, +4C'de 20 dak. santrifüj edilmiştir ve karışımın süpernatant kısmı kullanılmak için diğer bir steril tüpe aktarılmıştır. 100 mM K-PO₄ (pH 7.0), 20.1 mM guaikol ve 12.3 mM H₂O₂'den son hacim 3000 µl olacak şekilde alınmış ve enzim içeren süpernatant ilavesi ile tamamlanmıştır. Reaksiyon H₂O₂ ilavesi ile başlayacağı için karışıma en son ilave edilmiştir. Enzim aktivitesi spektrofotometrede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 470 nm dalga boyunda en az üç tekrarlı olarak toplam POD aktivitesi belirlenmiştir. Enzim aktivitesi, guaikol'ün ekstinksiyon katsayısı (26.6 mM.cm⁻¹) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol H₂O₂/dak. mg.protein).

3.5.6.5. Askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi

Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) enzim aktivitesi Wang vd. (1991)'e göre belirlenmiştir. Bitki homojenizasyonu için, 0.25 gr taze yaprak örneği, sıvı azot ile öğütülmüş ve 1 ml, 50 mM Tris-HCl (pH 7.2), %2'lik PVP, 1mM Na₂EDTA ve 2mM askorbat içeren ekstraksiyon çözeltisi ilave edilmiştir. Homojenat 12.000 rpm, +4C'de 20 dak. santrifüj edilmiştir ve karışımın süpernatan kısmı kullanılmak için diğer bir steril tüpe aktarılmıştır. 50 mM K-PO₄ (pH 6.6), 2.5 mM askorbat, 10 mM H₂O₂'den son hacim 1000 µl olacak şekilde alınmış ve 100 µg protein içeren süpernatan ilavesi ile oluşan karışım reaksiyonu en son konulan H₂O₂ ilavesi ile başlatılmıştır. Askorbat konsantrasyonundaki azalma, spektrofotometede (Shimadzu Mini-1240 UV-Vis) 290 nm dalga boyunda en az üç tekrarlı olarak belirlenmiş ve enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmiştir. Toplam APX enzim aktivitesi, askorbat'ın ekstinksiyon katsayısı (2.8 mM.cm.290 nm) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol askorbat/dak. mg.protein).

3.6. İstatistiksel analizler

Deneme rasgele düzende olup büyüme deneyleri 4 tekrarlı, enzim aktivite tayini ise 3 tekrarlı olarak düzenlenmiştir. Elde edilen verilerin istatistiki varyans analizleri IBM uyumlu bilgisayarda SPSS (Version 11.5) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Veri ortalamalarının karşılaştırılmasında varyans analizi sonuçlarından yararlanılarak P≤0.05 önem düzeyinde hesaplanan En Küçük Önemli Fark (EKÖF) değeri kullanılmıştır (Yurtsever, 1984).

4. BULGULAR

4.1. *Aegilops* L. türü ve *Triticum* L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının bazı parametreler üzerine etkisi

Bu araştırmada, ekmeçlik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi, Hawk, makarnalık buğday (*Triticum turgidum* L.) çeşidi, Kızıltan ve yabancı buğday (*Aegilops* L.) türü *Ae.cylindrica* kullanılmıştır.

Kontrol sıcaklığında (20°C) büyütülen bitkilerde düşük sıcaklık (1°C, 8 gün) ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık (-10°C, 3 ve 6 sa) uygulamalarından önce (7.günde) genotiplerin gövde uzunluğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamasından sonra (15.günde) alınan örneklerde ise genotiplerin gövde uzunluğu (cm / bitki) yaprak dokusundaki % iyon sızıntısı ve membran dayanıklılık indeksi belirlenmiştir.

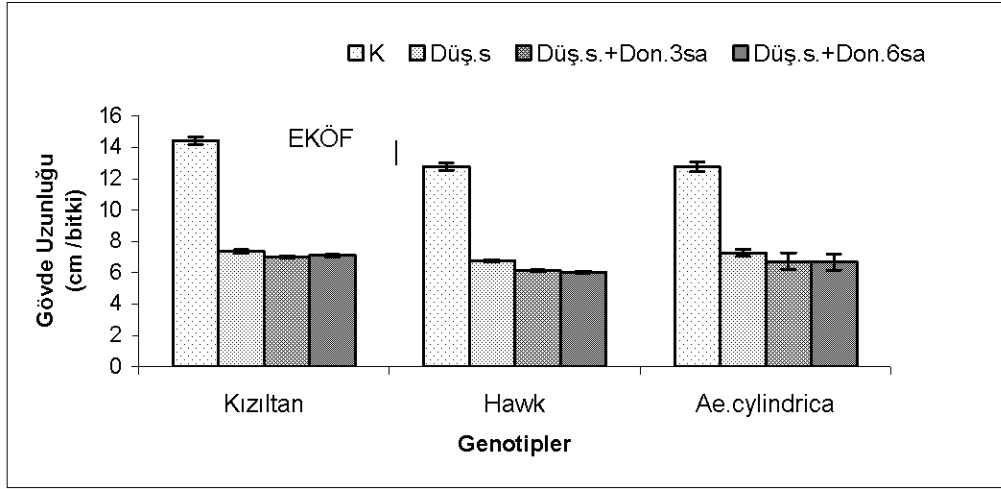
Düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarını takiben, kontrol sıcaklığında 7 gün büyütülen bitkilerden (22.günde) alınan örneklerde genotiplerin gövde uzunluğu, gövde taze ve kuru ağırlığı (mg /bitki) ve gövde su miktarı (% bitki) belirlenmiştir.

Kontrol sıcaklığından doğrudan don sıcaklığına maruz bırakılan bitkiler, don sıcaklığı uygulama süresinin sonunda canlılıklarını kaybettiklerinden dolayı bu uygulama denemeden çıkarılmıştır. Buna karşın kontrol sıcaklığının ardından 7 gün düşük sıcaklıkta bekletilen bitkiler canlılıklarını sürdürmüşlerdir. Don sıcaklık uygulamasının ardından bitkiler bir gün düşük sıcaklıkta bekletildikten sonra kontrol sıcaklığında 7 gün büyütülmüştür.

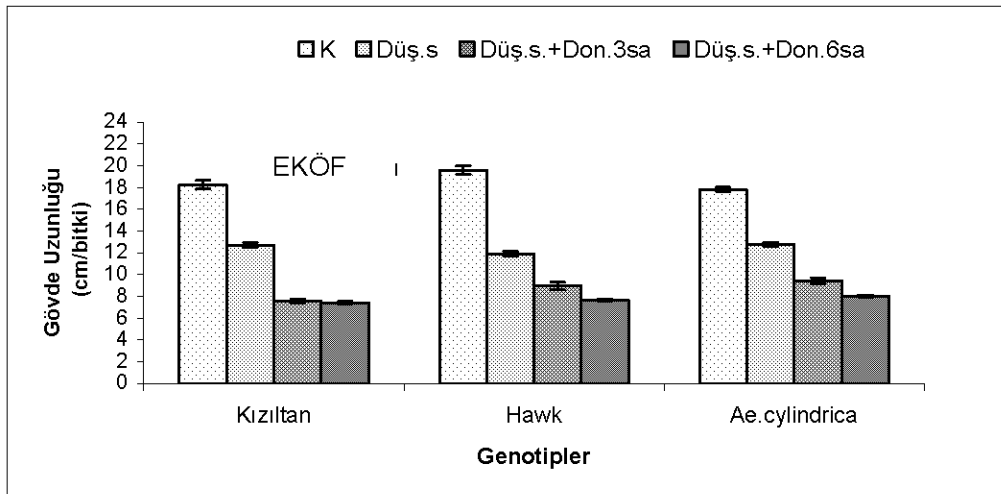
4.1.1. Gövde uzunluğu

15. günde bitkilerin gövde uzunlukları kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında, Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'da önemli derece azalmıştır. Düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamaları ile düşük sıcaklık uygulaması karşılaştırıldığında, tür ve çeşitlerin fide uzunluklarında önemli derecede bir fark belirlenmemiştir. Don sıcaklık uygulamalarında ise

sürenin 3 saat' den 6 saate çıkarılması tür ve çeşitlerin fide uzunluklarını önemli derecede etkilememiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Sıcaklık uygulamalarının 15. günde Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın gövde uzunluğu (cm / bitki) üzerine etkisi. K= Kontrol (20°C); Düş.s= Düşük sıcaklık (1°C, 8.gün); Düş.s + Don, 3 sa= Düşük sıcaklık (1°C,7.gün) + Don(-10°C, 3 sa) ve Düş.s + Don, 6 sa= Düşük sıcaklık (1°C, 7. gün)+Don (-10°C, 6 sa).



Şekil 4.2. Sıcaklık uygulamalarının 22. günde Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın gövde uzunluğu (cm / bitki) üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

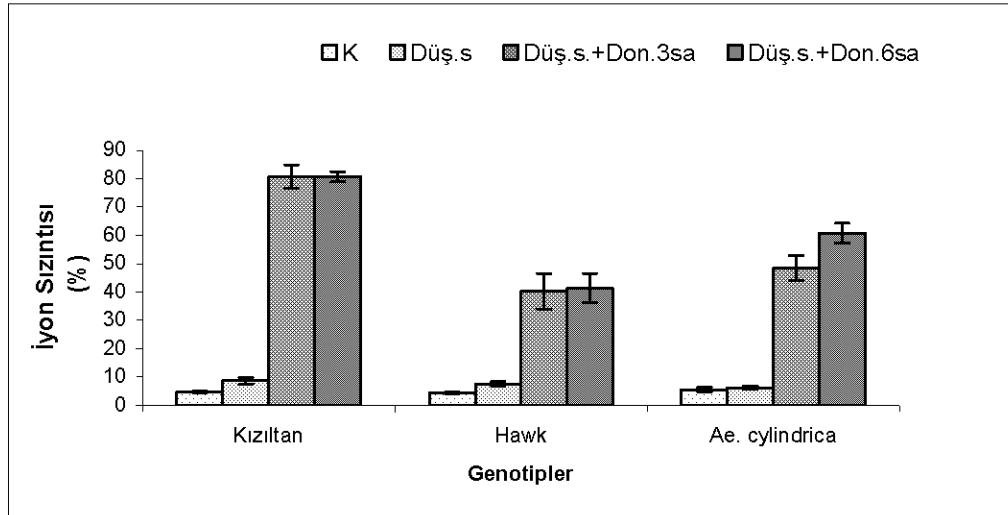
22. günde bitkilerin gövde uzunlukları kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklıkları uygulamalarında, Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'da önemli derecede azalmıştır. Don sıcaklık uygulamalarının düşük sıcaklık uygulamasına göre tür ve çeşitlerde gövde uzunluğunu önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. Don sıcaklık uygulama süresinin ise 3 saatten 6 saate

çıkarılması, gövde uzunluğunu Kızıltan'da etkilemezken Hawk ve *Ae.cylindrica*'daki azalma önemli bulunmamıştır (Şekil 4.2).

4.1.2. Yaprak dokusundaki iyon sızıntısı

15. günde Kızıltan'ın yaprak iyon sızıntı miktarı, kontrol bitkisine göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında, sırası ile %4, %76 ve %76 değerlerinde artmıştır. Düşük sıcaklığa göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarının her ikisinde de %72 artma belirlenirken, don sıcaklık uygulamaları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise don sıcaklığının 3 saatten 6 saate çıkarılmasının iyon sızıntı miktarını etkilemediği belirlenmiştir.

Hawk'ın yaprak iyon sızıntı miktarı, kontrole göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında sırası ile %4, %36 ve %37 artmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında sırası ile %32 ve %33 artma belirlenirken, don süresinin, 3 saatten 6 saate çıkarılması iyon sızıntı miktarında %1 artmaya neden olmuştur.

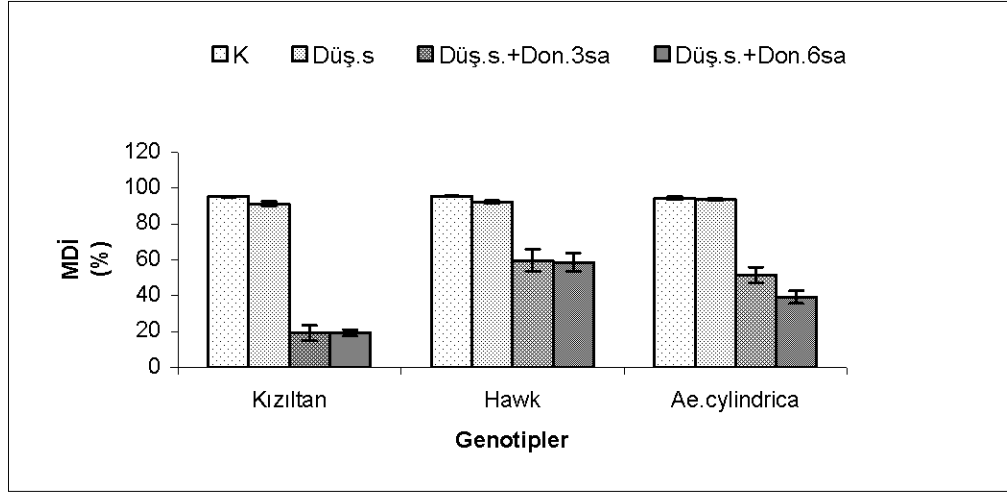


Şekil 4.3. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın yaprak dokusundaki iyon sızıntısı (%) üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

Ae.cylindrica'da yaprak iyon sızıntı miktarı, kontrole göre düşük sıcaklık uygulamasında bir fark belirlenmezken, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6sa don sıcaklığı uygulamalarında sırası ile %42 ve %55 artma belirlenmiştir. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulama sürelerinde sırası ile %42 ve %55 artma belirlenirken, don süresinin, 3 saatten 6 saate çıkarılmasıyla iyon sızıntı miktarında %13 artma belirlenmiştir (Şekil 4.3).

4.1.3. Yaprak dokusundaki membran dayanıklılık indeksi (MDİ)

15. günde Kızıltan'ın yaprak membran dayanıklılık indeksi, kontrol bitkisine göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında, sırası ile %4, %76 ve %76 değerlerinde azalmıştır. Düşük sıcaklığa göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarının her ikisinde de %72 azalma belirlenirken, don sıcaklık uygulamaları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise don sıcaklığının 3 saatten 6 saate çıkarılmasının membran dayanıklılık indeksini etkilemediği belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın yaprak dokusundaki membran dayanıklılık indeksi (%) üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

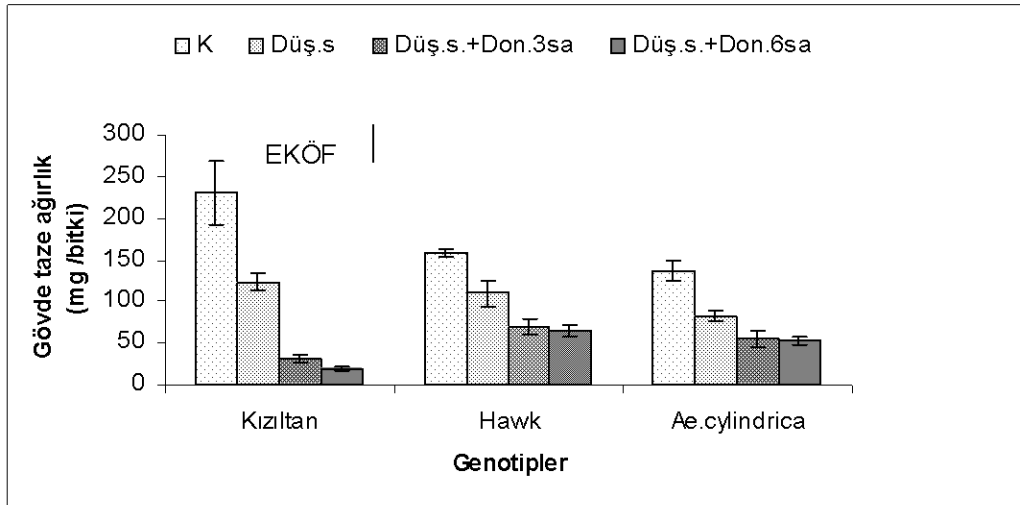
Hawk'ın yaprak membran dayanıklılık indeksi, kontrole göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında sırası ile %4, %36 ve %37 azalmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında sırası ile %32 ve %33 azalma

belirlenirken, don süresinin, 3 saatten 6 saate çıkarılması membran dayanıklılık indeksinde %1 azalmaya neden olmuştur.

Ae.cylindrica'da yaprak membran dayanıklılık indeksi, kontrole göre, düşük sıcaklık uygulamasında bir fark belirlenmezken, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında sırası ile %42 ve %55 azalma belirlenmiştir. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulama sürelerinde sırası ile %42 ve %55 azalma belirlenirken, don süresinin, 3 saatten 6 saate çıkarılmasıyla membran dayanıklılık indeksinde %13 azalma belirlenmiştir (Şekil 4.4).

4.1.4. Gövde taze ağırlığı

22. günde kontrol bitkilerine göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklıkları uygulamaları ile, Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın taze ağırlıklarında önemli derecede bir azalma belirlenmiştir.



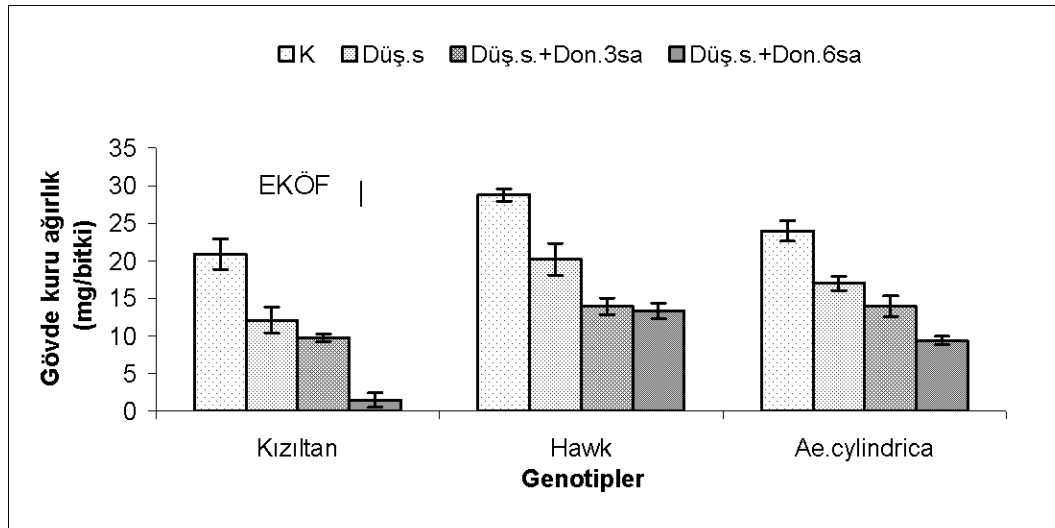
Şekil 4.5. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın gövde taze ağırlığı (mg / bitki) üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında, Kızıltan'da önemli derecede bir azalma belirlenirken, Hawk ve *Ae.cylindrica*' da belirlenen azalma istatistiki olarak önem ifade etmemektedir. Don

sürelerinin, tür ve çeşitlerin taze ağırlıkları üzerine olan etkisi birbirleri ile karşılaştırıldığında ise, meydana gelen değişiklikler istatistiki olarak önemli değildir (Şekil 4.5).

4.1.5. Gövde kuru ağırlığı

22. günde kontrol bitkilerine kıyasla, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklıkları uygulamasında, Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın kuru ağırlıkları önemli derecede azalmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında, genotiplerin kuru ağırlığında belirlenen azalma yalnızca Hawk'da önemli bulunmuştur. Don süresinin, 3 saatten 6 saate çıkması ise Kızıltan ve *Ae.cylindrica*'da kuru ağırlığını önemli derecede azaltırken, Hawk'da belirlenen azalma önemsizdir (Şekil 4.6).



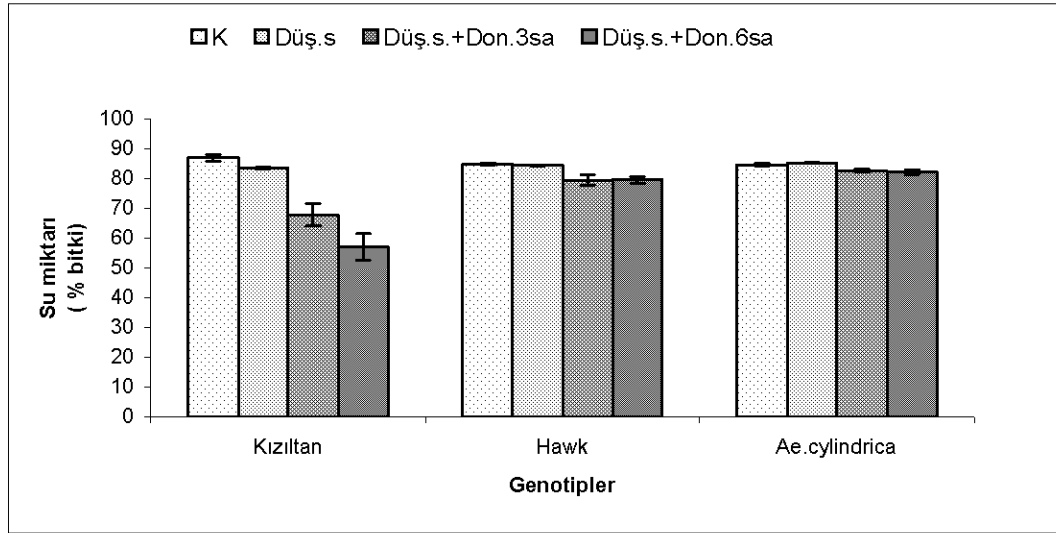
Şekil 4.6. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın gövde kuru ağırlık (mg /bitki) üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

4.1.6. Gövde su miktarı

22. günde Kızıltan'ın su içeriğinin, kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında, sırası ile %3, %19 ve %30 değerlerinde azalmıştır. Düşük sıcaklığa göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında Kızıltan'ın su içeriği, %16 ve %27 azalırken, don sıcaklık uygulamaları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise don sıcaklığının 3 saatten 6 saate çıkarılmasının su içeriğini %11 azalttığı belirlenmiştir.

Hawk'ın su içeriği, kontrole göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklık uygulamalarında sırası ile %1, %5 ve %5 azalmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulama sürelerinin her ikisinin su içeriğinde de %5 azalma belirlenmiştir. Don süresinin, 3 saatten 6 saate çıkarılması ise Hawk'ın su içeriğini önemli derecede değiştirmemiştir.

Ae.cylindrica'nın su içeriği, kontrole göre, düşük sıcaklık uygulamasında bir fark belirlenmezken, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulamalarında sırası ile %2 ve %3 azalma belirlenmiştir. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa don sıcaklığı uygulama sürelerinde sırası ile %2 ve %3 azalmıştır. Don süresinin, 3 saatten 6 saate çıkarılması ise su miktarında %1 azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica*'nın gövde su içeriği (% bitki) üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

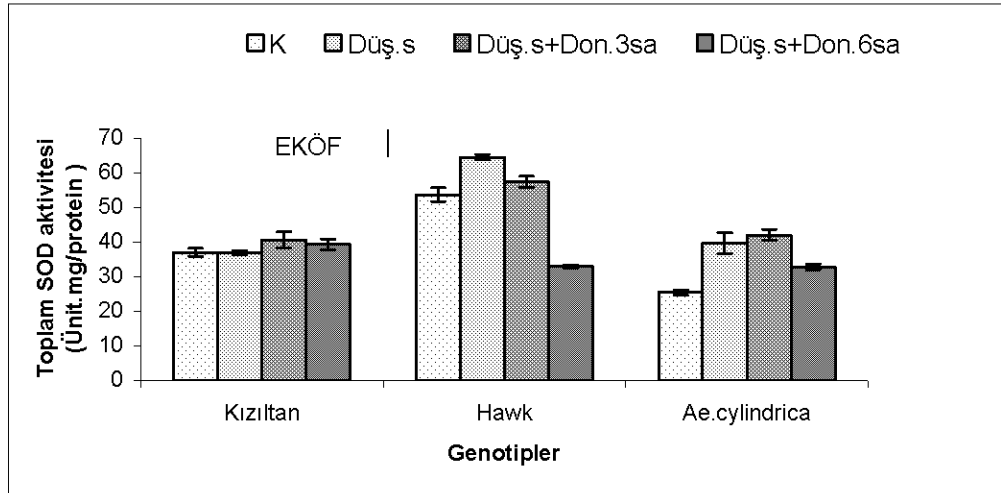
4.2. *Aegilops* L. türü ve *Triticum* L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi

Kontrol sıcaklığı (20°C), düşük sıcaklık (1°C, 7 gün) ve düşük sıcaklık ardından 3 veya 6 sa don sıcaklık (-10°C) uygulanmasını takiben 1°C, 1 gün bekletilmiş ve bu sürenin sonunda (15.gün) alınan örneklerde bazı antioksidan enzimlerin aktiviteleri belirlenmiştir.

4.2.1. Toplam süperoksit (SOD) aktivitesi

15.günde Kızıltan'da, kontrole göre sıcaklık uygulamalarında belirlenen SOD (EC 1.15.1.1) aktivitesindeki değişim istatistiki açıdan önemli değildir.

Düşük sıcaklık uygulanan Hawk bitkisinin yapraklarındaki SOD aktivitesi, kontrole göre önemli derecede artarken, düşük sıcaklık ardından 3sa don sıcaklığı uygulanan bitkilerdeki artma istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Düşük sıcaklık ardından 6sa don sıcaklığı uygulanan bitkilerin SOD aktivitesinde ise kontrole göre önemli bir azalma belirlenmiştir. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3sa don sıcaklık uygulamasında belirlenen azalma istatistiki olarak önemli değilken düşük sıcaklık ardından 6sa don sıcaklık uygulamasında önemli bir azalma belirlenmiştir. Don sıcaklığı uygulamaları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise don sıcaklık süresinin 3 saatten 6 saate çıkartılması SOD aktivitesini, önemli derecede azalttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica* yapraklarındaki toplam SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

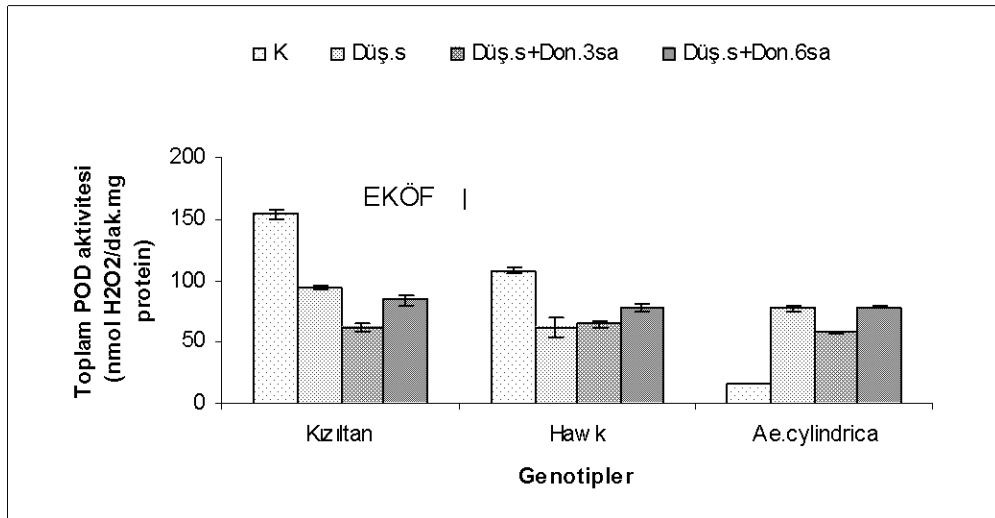
Düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 sa don sıcaklığı uygulanan *Ae.cylindrica* bitkisinin yapraklarındaki SOD aktivitesinde kontrole göre, önemli bir artma belirlenmiştir. Düşük sıcaklık ardından 6 sa don sıcaklığı uygulamasında belirlenen artma, kontrole göre istatistiki olarak önemli değildir. Düşük sıcaklığa göre, düşük sıcaklık ardından 3 ve 6sa don sıcaklığı uygulamasında belirlenen değişiklikler istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Don sıcaklığı uygulamaları

birbirleri ile karşılaştırıldığında ise don sıcaklık süresinin 3 saatten 6 saate çıkartılması aktiviteyi önemli derecede azalttığı saptanmıştır (Şekil 4.8).

4.2.2. Toplam peroksidaz (POD) aktivitesi

15.günde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklığı uygulamalarında kontrole göre, Kızıltan bitkisinin yapraklarındaki POD (EC 1.11.1.7) aktivitesinde önemli bir azalma belirlenmiştir. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3sa don sıcaklığı süresinde önemli azalma belirlenirken, düşük sıcaklık ardından 6 sa don sıcaklığı uygulamasında belirlenen azalma istatistiki olarak önemli değildir. Don sıcaklığı uygulama sürelerinin etkisi, birbirleri ile karşılaştırıldığı zaman süre 3 saatten 6 saate çıkartıldığında aktivitede önemli bir artma belirlenmiştir.

Kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında Hawk bitkisinin yapraklarındaki POD aktivitesinde, önemli bir azalma belirlenmiştir. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında, belirlenen azalma istatistiki olarak önemli değildir. Don sıcaklığı süresinin etkisi birbirleri ile karşılaştırıldığında ise süre 3 saatten 6 saate çıkartıldığında aktivitede belirlenen değişiklik istatistiki olarak önemli değildir.

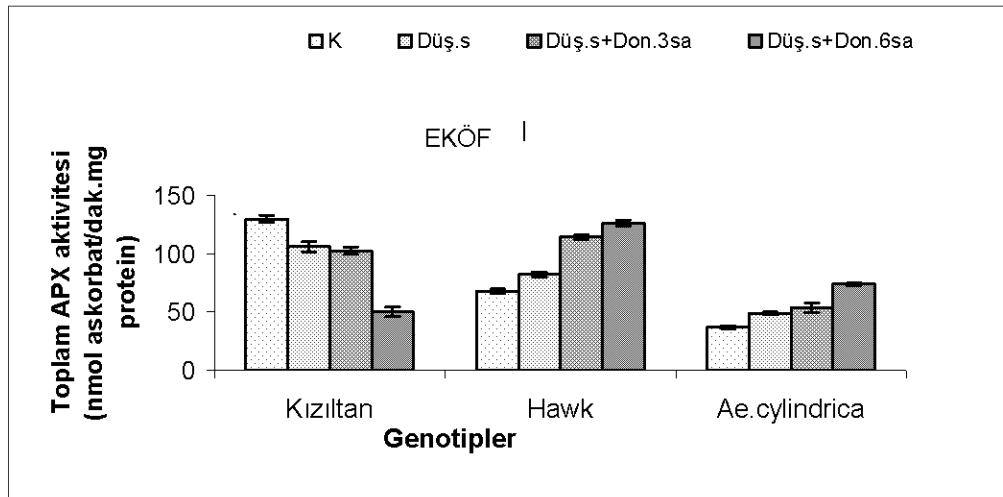


Şekil 4.9. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica* yapraklarındaki toplam POD enzim aktivitesi üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

Kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında *Ae.cylindrica* bitkisinin yapraklarında toplam POD aktivitesi önemli derecede artmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından uygulanan 3 sa don süresinde önemli bir azalma belirlenirken 6 sa don süresinde belirlenen değişiklik istatistiki olarak önemli değildir. Don sıcaklığı uygulamaları, birbirleri ile karşılaştırıldığında ise don sıcaklık süresinin 3 saatten 6 saate çıkartıldığında toplam POD aktivitesinin önemli derecede arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.9).

4.2.3. Toplam askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi

15. günde kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklığı uygulamalarında Kızıltan bitkisinin yapraklarındaki APX enzim aktivitesi önemli derecede azalmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından uygulanan 3sa don sıcaklık süresinde APX aktivitesinde önemli azalma belirlenmezken, düşük sıcaklık ardından 6 sa don sıcaklık uygulamasında önemli bir azalma belirlenmiştir. Don sıcaklık uygulama süresi 3 saatten 6 saate çıkartıldığında aktivite önemli derecede azaltmıştır.



Şekil 4.10. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica* yapraklarındaki toplam APX enzim aktivitesi üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

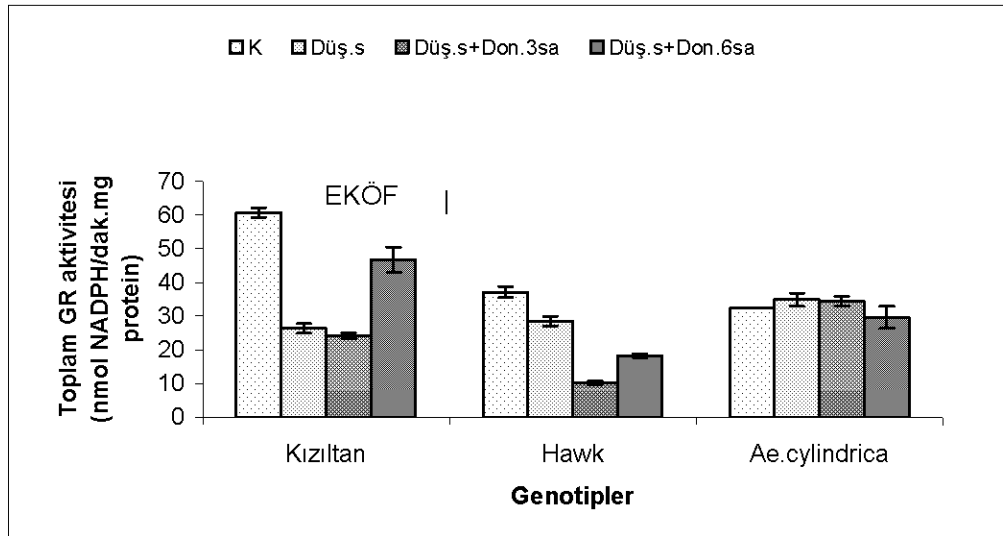
Kontrole göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında Hawk bitkisinin yapraklarındaki toplam APX enzim aktivitesi, önemli derecede artmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık

ardından don sıcaklık uygulamalarında ve don süresine bağlı olarak önemli derecede artma belirlenmiştir.

Kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında *Ae.cylindrica* bitkisinin yapraklarındaki toplam APX enzim aktivitesi önemli derecede artmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3 sa don uygulamasında süresinde belirlenen aktivitedeki artma istatistiki olarak önemsizken düşük sıcaklık ardından 6 sa don uygulamasında aktivite önemli derece artmıştır. Don sıcaklık uygulamaları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise don sıcaklık süresinin 3 saatten 6 saate çıkartılmasının aktiviteyi önemli derecede arttırdığı belirlenmiştir (Şekil 4.10).

4.2.4. Toplam glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi

15.günde kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında Kızıltan bitkisinin yapraklarındaki toplam GR (EC 1.6.4.2) aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3sa don sıcaklık uygulamasında GR enzim aktivitesi önemli derecede değişmezken düşük sıcaklık ardından 6 sa don sıcaklık uygulamasında aktivite önemli derecede artmıştır. Don sıcaklık uygulama sürenin 3 saatten 6 saate çıkartılması ile aktivitenin önemli derecede arttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.11. Sıcaklık uygulamalarının Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica* yapraklarındaki toplam GR aktivitesi üzerine etkisi. Sıcaklık uygulamalarına ait sembollerin açıklaması Şekil 4.1'de verilmiştir.

Kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında Hawk bitkisinin yapraklarındaki toplam GR aktivitesi önemli derecede azalmıştır. Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında önemli bir azalma belirlenmiştir. Don sıcaklık uygulama süresinin 3 saatten 6 saate çıkartılması, aktiviteyi önemli derecede artırmıştır.

Kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında *Ae.cylindrica* bitkisinin yapraklarındaki toplam GR aktivitesinde belirlenen değişiklikler istatistiki olarak önemli değildir (Şekil 4.11).

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada Türkiye'de doğal olarak yetişen *Aegilops* L. türü *Ae.cylindrica*, tarımı yapılan *Triticum aestivum* L. var. *aestivum* çeşidi Hawk ve *Triticum turgidum* L. var. *durum* çeşidi Kızıltan-91, erken fide evresinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklığına farklı sürelerde maruz bırakılmışlardır. Doğrudan don sıcaklığına maruz bırakılan bitkiler, uygulama süresinin sonunda canlılıklarını kaybettiklerinden dolayı bu uygulama denemeden çıkarılmıştır. Düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde don sıcaklığına maruz bırakılan genotiplere ait fidelerin, gövde uzunlukları, gövde taze ve kuru ağırlıkları, yüzde su miktarı, yaprak dokularında yüzde iyon sızıntısı, yüzde membran dayanıklılık indeksi ve SOD, APX, GR ve POD gibi antioksidan enzimlerinin aktiviteleri belirlenmiştir.

Düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan 3 ve 6 sa don sıcaklığına, yabani buğday tür ve kültür buğday çeşitlerinin toleransları, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal bazı parametreler esas alınarak aşağıda tartışılmıştır.

5.1. *Aegilops* L. türü ve *Triticum* L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının gövde uzunluğu üzerine etkisi

Buğday bitkisinde optimum fide gelişiminin gerçekleştiği sıcaklığın, 20°C olduğu Porter ve Gawith, (1999) tarafından bildirilmiştir. Bu nedenle kontrol sıcaklığı 20°C olarak uygulanmıştır. Kontrol sıcaklığında büyüyen bitkilerin kontrol uygulaması dışındaki, bir grubuna düşük sıcaklık (1°C, 8 gün), diğer bir grubuna düşük sıcaklık ardından don sıcaklık (1°C, 7. gün → -10°C, 3 ve 6sa) uygulaması gerçekleştirilmiştir. Stres uygulamalarından önce (7. günde) bitkilerin gövde uzunlukları belirlenmiştir (Çizelge 1). Fide uzunluğu bakımından genotipler uzundan kısaya doğru Kızıltan, *Ae. cylindrica* ve Hawk olarak sıralanmıştır. Kızıltan en uzun Hawk ise en kısa olup, Kızıltan ve *Ae. cylindrica*, Hawk'dan önemli derecede uzundur.

Çizelge 1. Kontrol uygulamasında genotiplerin 7., 15. ve 22. günde belirlenen gövde uzunlukları (cm / bitki).

Genotipler	Ekimden örnekleme zamanına kadar geçen süre (gün)		
	7.	15.	22.
	cm/bitki	cm/bitki	cm/bitki
Kızıltan	6,39±0,05	14,43±0,2	18,26±0,4
Hawk	5,51±0,09	12,77±0,2	19,59±0,4
Ae.cylindrica	6,13±0,04	12,75±0,3	17,80±0,2
	(P≤0,05): 0,185	(P≤0,05): 1,68	(P≤0,05): 0,7

EKÖF (P≤0,05): 0.71

15. günde gövde uzunluğu bakımından genotipler uzundan kısaya doğru Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica* olarak sıralanmıştır, fakat genotipler arasındaki fark önemsiz bulunmuştur.

22. günde gövde uzunluğu bakımından genotipler uzundan kısaya doğru Hawk, Kızıltan ve *Ae. cylindrica* olarak sıralanmıştır. Kızıltan ve *Ae. cylindrica* arasındaki fark önemsiz olmasına rağmen Hawk, Kızıltan ve *Ae. cylindrica*'dan önemli derecede uzundur.

Genotipler kontrol sıcaklığında 7., 15. ve 22. günlerde belirlenen gövde uzunlukları esas alındığında, 7. ve 15. günde Kızıltan ve 22. günde ise Hawk çeşidi diğer genotiplerden daha uzundur. Genotiplerin gövde uzaması gelişim süresine bağlı olarak değişmiştir. Örneğin, çimlenmeden 3. yaprak evresine kadarki süre içinde Hawk çeşidinde artarken, Kızıltan ve *Ae. cylindirca*'da azalmıştır (Çizelge 1).

Kontrol sıcaklığında, gelişime bağlı olarak, büyümede belirlenen bu fark tür ve çeşitlerin genotipik özelliklerinin farklı olmasının sonucu olabilir.

Düşük sıcaklık uygulaması; genotipler 7 gün kontrol sıcaklığında büyütüldükten sonra 8 gün süre ile düşük sıcaklıkta (+1°C) bırakılmıştır. Düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulaması; 7 gün düşük sıcaklık ardından genotipler 8. günde -10°C

de 3 ve 6 sa bırakıldıktan sonra +1°C'de süre 24 sa tamamlanmıştır. 15. günde genotiplerin gövde uzunlukları tüm uygulamalarda belirlenmiştir:

Genotiplerin gövde uzunluğu kontrole göre, sıcaklık uygulamalarında önemli derecede azalmış ve uzundan kısaya doğru Kızıltan, *Ae. cylindrica* ve Hawk olarak sıralanmıştır. Kızıltan en uzun Hawk ise en kısa olmasına rağmen genotiplerin gövde uzunlukları önemli derecede farklı bulunmamıştır.

Genotipler düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının bitiminden sonra kontrol sıcaklığında 7 gün büyütülmüş ve hemen ardından (ekimden 22 gün sonra) gövde uzunlukları belirlenmiştir. Genotiplere ait bitkiler kontrol uygulamasında 3. yaprak, diğer uygulamalarda ise 2. veya 3. yaprak evresinde bulunmaktadır. Genotiplerin gövde uzunluğu kontrole göre düşük ve don sıcaklık uygulamalarında önemli derecede azalmıştır.

15. günden 22. güne kadar olan 7 gün büyüme sürecinde kontrol bitkilerindeki büyüme 100 alınarak genotiplerin düşük sıcaklık uygulamalarındaki gövde uzunluğu % olarak hesaplanmıştır (Çizelge 2).

Çizelge 2. Genotiplerin düşük sıcaklık uygulamalarından sonra 15-22 gün iyileşme sürecindeki fidelerde belirlenen büyüme (%).

Genotipler	Sıcaklık uygulamaları			
	K	Düş.s	Düş.s+Don,3sa	Düş.s+Don,6sa
Kızıltan	100	136	12,5	7
Hawk	100	75	41	23
<i>Ae. cylindrica</i>	100	108	55	26

Kontrole göre, düşük sıcaklık uygulamaları Hawk çeşidinin gövde büyümesini olumsuz yönde etkilerken, Kızıltan ve *Ae. cylindrica*'nın gövde büyümesini arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge 2).

Kontrol ve düşük sıcaklığa göre, 3 ve 6 sa don uygulamaları genotiplerin gövde büyümesini azaltmıştır. Don sürenin 3 saatten 6 saate çıkması ile gövde

büyümesindeki azalma artmıştır. Kontrole göre, don sıcaklık uygulamalarından sonra genotiplerin gövde büyümesindeki azalma büyükten küçüğe doğru Kızıltan, Hawk ve *Ae.cylindrica* olarak sıralanmıştır. Buna göre her iki don sıcaklık uygulamalarından en fazla Kızıltan çeşidi en az *Ae.cylindrica* türü etkilenmiştir. 15-22 gün büyüme süresinde, genotiplerin büyümesinde kontrolde belirlenen farklılık düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamalarında devam etmiştir. Düşük ve don sıcaklıklarının uygulandığı 7-15 gün süresince gövde büyümesi en büyük olan genotip, 15-22 gün sürecinde en fazla, buna karşın; 7-15 gün sürecinde gövde büyümesi en az olan genotipin 15-22 gün sürecinde en az zarar gördüğü belirlenmiştir. Kızıltan çeşidi, Hawk ve *Ae.cylindrica*'dan daha fazla zarar görmüş ve bunun sonucunda büyüme hemen hemen durmuştur (Çizelge 1 ve 2).

Badiani vd. (1993), buğday bitkisi ile yaptığı çalışmada düşük sıcaklık olan 10°C büyütülen buğday bitkisinin gövde uzunluğunun kontrole göre azaldığını bildirmiştir.

Ekmekçi ve Terzioğlu, (2002) kültür buğday çeşitleri ve yabani buğday türlerini 7±1°C'de 2 gün ve 0±1°C'de 7 gün büyümenin ardından -5 ve -7±1°C'de 3,6,12 ve 24 saat süre ile don sıcaklığına maruz bırakmış ve bunu takiben bitkiler iyileştirme için önce 0±1°C'de 3 gün ardından, 7±1°C'de 2 gün ve en son 23±1°C'de 24, 48, 72 saat süre ile büyütülmüştür. Don uygulaması sıcaklığın saatte 1°C düşürülmesi ile uygulanmış olup kontrol bitkilerine don sıcaklığı uygulanmamıştır. Araştırma sonucunda, -7±1°C, 3 saat don sıcaklık uygulamasında bitkilerin canlılıklarını sürdürdüğü fakat 6,12 ve 24 sa canlılıklarını kaybettikleri ve kontrol bitkilerine göre iyileştirmenin ardından ölçülen gövde uzunluğunun, don süresi artışına paralel olarak azaldığı belirlenmiştir. İyileştirmede genotiplerin gövde uzunluğundaki azalma, iyileştirmenin 48 ve 72 sa sonrasında önemli bulunmuştur.

Abiyotik stres olan düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık streslerine bağlı olarak büyümenin ve gelişmenin sınırlandığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Lewitt, 1980; Fowler et al., 1996; Xin and Browse, 2000).

Fotosentez, düşük sıcaklıkta zarar gören fizyolojik işlevlerdendir. Düşük sıcaklık ile birlikte bitkilerde CO₂ fiksasyonu sınırlandırılır ve fotoinhibisyona duyarlılık artar. Fotosentetik birimlerin (PSI, PSII) zarar görmesi fotoinhibisyon olarak ifade edilir ve fotoinhibisyon PSII'nin fotokimyasal etkinliğini azaltır (Sharkey, 1988; Ort and Baker, 1988). Greer vd. (1991) arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkisinde düşük sıcaklıkla indüklenen fotoinhibisyonun, kloroplastlardaki protein sentezi yoluyla, PSII reaksiyon merkez polipeptitlerinin tamir ile zarar oranı arasındaki dengesizlikten kaynaklandığını ileri sürmektedir. Diğer taraftan solunum hızı azalan fotosentez ürünlerine bağlı olarak fotosentez hızından daha fazla azalma göstermektedir (Kocaçalışkan, 2004). Bu fizyolojik değişikliklere bağlı olarak enerji girdisi azalmaktadır. Diğer taraftan bitki enzim sistemlerindeki enzimatik aktivite, enzimlerin optimum işlev gösterdiği sıcaklık değerlerinin değişmesi ve bu değişim sonucu aynı şekilde enzimlerin optimum işlev yaptığı sitoplazmik pH değerlerinin değişmesine bağlı olarak azalmaktadır (Yoshida et al., 1999). Düşük sıcaklıkta, fotosentezde görev alan *rubisco* enziminin olumsuz yönde etkilendiği Guy vd., (1992) tarafından bildirilmiştir. Düşük sıcaklık esnasında biyomembranlar sertleşmekte ve biyokimyasal işlevlerin aktive edilebilmesi için daha fazla enerjiye gereksinim duyulmaktadır (Kacar, vd., 2002). Bütün bu olumsuz biyokimyasal ve fizyolojik yöndeki değişiklikler bitki gelişimini olumsuz yönde etkilemekte, bitki büyümesini yavaşlatmakta yada durdurmaktadır.

5.2. *Aegilops* L. türü ve *Triticum* L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının yaprak dokusundaki iyon sızıntısı ve membran dayanıklılık indeksi üzerine etkisi

Laboratuvar ortamında genotiplerin don sıcaklığına olan dayanıklılık veya hassasiyetlerin belirlenmesinin temellerinden biride, zarlarda geçirgenliğin ve elektriksel direncin ölçülmesine dayanır (Mancuso, 2000). Bu nedenle Kızıltan, Hawk kültür buğday çeşitleri ve *Ae.cylindrica* yabancı buğday türünde, erken fide evresinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde uygulanan don sıcaklık uygulamalarının, yaprak dokusunda % iyon sızıntı miktarı ve membran dayanıklılık indeksinde neden olduğu değişimlere bakılarak, tür ve çeşitlerin sıcaklık uygulamalarını tolere etme kabiliyetleri karşılaştırılmıştır.

Kontrol uygulamalarında, genotiplerin iyon sızıntı, Kızıltan'da %4,7, Hawk'da %4,4 ve *Ae. cylindrica*'da %5,5 olup büyükten küçüğe doğru *Ae. cylindrica*, Hawk ve Kızıltan olarak sıralanmıştır.

Düşük sıcaklık uygulamasından hemen sonra yaprak dokularından alınan örneklerde kültür buğday çeşitleri ve yabancı buğday türünde düşük sıcaklığın iyon sızıntı miktarları üzerine etkisi birbirlerine yakın olmasına rağmen; değerler kontrole göre yüksek olup Kızıltan'da %4, Hawk'da %3,17 ve *Ae. cylindrica*'da %0,69 artmıştır. Düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa süre uygulanan don sıcaklık uygulaması ile % iyon sızıntısının büyük oranda arttığı belirlenmiştir. Don uygulaması ile birlikte iyon sızıntı miktarı kontrole göre, Kızıltan'da %76, Hawk'da %35,8 ve *Ae. cylindrica*'da %42,8, düşük sıcaklığa göre ise Kızıltan'da %72, Hawk'da %32,7 ve *Ae. cylindrica*'da %42 artmıştır. Düşük sıcaklık ardından don uygulama, süresinin 3 saatten 6 saate çıkmasıyla birlikte iyon sızıntı miktarı Kızıltan çeşidinde değişmezken Hawk'da %1, *Ae. cylindrica*'da ise %12.5 artmıştır. Kızıltan çeşidinde don süresinin artışı ile % iyon sızıntısının değişmemesinin nedeni, Kızıltan çeşidinde 3 sa don uygulaması ile maksimum zarara ulaşılmasının sonucu olabilir.

Kontrol uygulamalarında genotiplerin MDİ'si Kızıltan'da % 95,2, Hawk'da %95,6 , *Ae. cylindrica*'da ise % 94,4 olup değerler birbirlerine yakın olup, büyükten küçüğe doğru Hawk, Kızıltan ve *Ae. cylindrica* olarak sıralanmıştır.

Düşük sıcaklık uygulamasından hemen sonra yaprak dokularından alınan örneklerde kültür buğday çeşitleri ve yabancı buğday türünde düşük sıcaklığın MDİ üzerine etkisi bütün genotiplerde birbirlerine çok yakın olmasına rağmen değerler kontrole göre yüksek olup Kızıltan'da %4, Hawk'da %3,17 ve *Ae. cylindrica*'da %0,69 azalmıştır. Düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa süre uygulanan don sıcaklık uygulaması ile MDİ'nin büyük oranda azaldığı belirlenmiştir. Don uygulaması ile birlikte MDİ kontrole göre, Kızıltan'da %76, Hawk'da %35,8 ve *Ae. cylindrica*'da %42,8, düşük sıcaklığa göre ise Kızıltan'da %72, Hawk'da %32,7 ve *Ae. cylindrica*'da %42 azalmıştır. Düşük sıcaklık ardından 3 sa don uygulamasına göre, don süresinin 6 saate çıkmasıyla birlikte MDİ Kızıltan çeşidinde değişmezken Hawk'da %1, *Ae. cylindrica*'da ise % 12.5 azalmaktadır. Kızıltan çeşidinde don süresinin uzaması ile MDİ'de azalma belirlenmemesinin nedeni,

Kızıltan çeşidinde 3 sa don uygulaması ile maksimum hasara ulaşılmış olmasının sonucu olabilir.

Bu araştırma sonuçlarına göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde uygulanan don sıcaklık uygulamaları ile iyon sızıntı miktarı ve MDİ'nde belirlenen değişiklik büyükten küçüğe doğru Kızıltan, *Ae.cylindrica* ve Hawk olarak sıralanmıştır. Buna göre sıcaklık uygulamalarından iyon sızıntı miktarı ve MDİ bakımından en fazla etkilenen çeşit Kızıltan en az etkilenen çeşit ise Hawk olarak belirlenmiştir.

Benzer sonuçlar, farklı sürelerde (1-24 sa) düşük sıcaklığa (2°C) maruz bırakılan 7 ile 11 günlük salatalık ve mısır bitkilerinin yapraklarında Lukatkin (2003), tarafından belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmanın sonucuna göre, düşük sıcaklık uygulanan bitki yapraklarındaki iyon sızıntı miktarı düşük sıcaklık süresinin artmasına paralel olarak azalma göstermesine rağmen, kontrol bitkisinden fazla olarak belirlenmiştir.

Literatürde zarların farklı tür ve farklı stres durumlarında yetersiz işlevi rapor edilmiştir (Camerjo et al., 2005). Plazma zarı, genellikle donma zararının ve iyon sızıntısının birincil bölgesi olarak düşünülmektedir (Fowler and Limin, 2003). Düşük sıcaklık, zar bileşiminde değişikliklere ve dolayısı ile zar geçirgenliğinin ve zar enzimlerinin aktivitesinin azalmasına neden olmakta, duyarlı türlerde, K⁺, amino asitler ve fotosentez ürünlerinin dışarı sızmasına izin vermektedir (Kacar vd., 2002). Zar geçirgenliğindeki değişikliklerden kaynaklanan iyon sızıntısı, düşük sıcaklığa duyarlı bitkilerde sıkça bildirilmiştir (Fowler and Limin, 2003). MDİ'nin toleranslı çeşitte hassas çeşide göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Sairam et al., 1997).

5.3. *Aegilops* L. türü ve *Triticum* L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının gövde taze ve kuru ağırlığı ve yüzde su miktarı üzerine etkisi

Düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde uygulanan don sıcaklık uygulamalarının bitki gelişimi üzerine olan etkisini belirlemek için denemenin sonlandırıldığı 22. günde alınan örneklerde, genotiplerin gövde taze ve kuru

ağırlığı ve yüzde su miktarı belirlenmiştir. Alınan veriler göz önüne alınarak genotiplerin sıcaklık uygulamalarına verdiği tepki tartışılmıştır.

Kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde don sıcaklık uygulamaları ile genotiplerin taze ağırlıklarında önemli derecede azalmalar belirlenmiştir.

Kontrol uygulamalarında genotiplerin taze ağırlığı büyükten küçüğe doğru Kızıltan, Hawk ve *Ae. cylindrica* olarak sıralanmıştır. Genotiplerin taze ağırlığında belirlenen farklılıklar Kızıltan çeşidinde diğer genotiplere göre önemli bulunurken; Hawk çeşidi ve *Ae. cylindrica* türünde önemli bulunmamıştır.

Kontrole göre, düşük sıcaklık uygulaması ile genotiplerin gövde taze ağırlığındaki azalma büyükten küçüğe doğru, Kızıltan, *Ae. cylindrica* ve Hawk olarak sıralanmıştır. Düşük sıcaklık uygulaması ile gövde taze ağırlığında belirlenen azalma, Kızıltan çeşidi ve *Ae. cylindrica* türünde önemli, Hawk çeşidinde ise önemsiz bulunmuştur.

Düşük sıcaklığa göre, farklı sürelerde don sıcaklık uygulamaları ile gövde taze ağırlığında ortaya çıkan azalma büyükten küçüğe doğru, Kızıltan, Hawk ve *Ae. cylindrica* olarak sıralanmıştır. Bu azalma, Kızıltan çeşidinde önemli iken Hawk çeşidi ve *Ae. cylindrica* türünde önemsizdir. Don süresinin 3 saatten 6 saate çıkması gövde taze ağırlığındaki azalmayı arttırmış olmasına rağmen don süresinin uzaması ile ortaya çıkan azalma genotiplerde önemsiz bulunmuştur.

Bu araştırma sonuçlarına göre, bütün sıcaklık uygulamalarından gövde taze ağırlığı bakımından en fazla etkilenen Kızıltan çeşit, *Ae. cylindrica* en az etkilenen tür olarak belirlenmiştir.

Kuk vd. (2003) tarafından 3 gün, 15°C'de düşük sıcaklığa uyumu sağlanan ve 25°C büyütülerek düşük sıcaklığa uyumu sağlanmayan pirinç bitkisinin yaprak taze ağırlığı üzerine düşük sıcaklığın (5°C) etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, düşük sıcaklığa uyumu sağlanmayan bitkilerin taze ağırlığının düşük sıcaklık ile birlikte azaldığı, buna karşın uyumu sağlanan bitkilerin, düşük sıcaklık uygulamasından 1 gün sonra taze ağırlığında azalma belirlenmiştir. Düşük sıcaklığa uyumu sağlanan bitkilerin iyileştirme periyodu için 5 gün, 25°C büyütülmüş ve bu periyot sonunda,

düşük sıcaklık uyumu (15°C) ardından düşük sıcaklık (5°C) uygulanan bitkilerin kontrole göre, düşük sıcaklık zararını tamamen iyileştiremedikleri bildirilmiştir.

Kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde uygulanan don sıcaklık uygulamaları ile tüm genotiplerin gövde kuru ağırlıklarında önemli derecede azalma belirlenmiştir.

Kontrol uygulamalarında genotiplerin gövde kuru ağırlığı büyükten küçüğe doğru Hawk, *Ae. cylindrica* ve Kızıltan olarak sıralanmıştır. Genotiplerin gövde kuru ağırlığında belirlenen farklılıklar önemli bulunmuştur. Hawk en büyük, Kızıltan ise en küçük gövde kuru ağırlığına sahip çeşit olarak belirlenmiştir.

Kontrole göre, düşük sıcaklık uygulamasında gövde kuru ağırlığında belirlenen azalma, büyükten küçüğe doğru, Kızıltan, Hawk ve *Ae. cylindrica* olarak sıralanmıştır. Buna göre, en fazla etkilenen çeşit Kızıltan iken, en az etkilenen *Ae.cylindrica* olarak belirlenmiştir.

Düşük sıcaklık uygulamasına göre, düşük sıcaklık ardından 3 sa don sıcaklık uygulamasıyla genotiplerin gövde kuru ağırlığında belirlenen azalma büyükten küçüğe doğru Hawk, *Ae. cylindrica* ve Kızıltan olarak sıralanmıştır. Kızıltan ve *Ae. cylindrica* türünde belirlenen azalma önemli bulunmazken, Hawk çeşidindeki azalma önemlidir. 6 sa don sıcaklık uygulamasında ise genotiplerin gövde kuru ağırlığında belirlenen azalma büyükten küçüğe doğru Kızıltan, *Ae. cylindrica* ve Hawk olarak sıralanmıştır. Gövde Kuru ağırlığında belirlenen bu azalma Kızıltan çeşidi ve *Ae. cylindrica* türünde önemli iken Hawk çeşidinde önemsiz bulunmuştur.

Sysoeva vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, salatalık bitkisi gecenin başlangıcı, ortası ve sonunda 0,1,2,4 ve 6 sa süre ile düşük sıcaklık olan 12°C maruz bırakılmıştır. Tüm uygulamalarda kontrol sıcaklığı 20°C olarak uygulanmıştır. Araştırmanın sonucunda, 2 sa düşük sıcaklık uygulamasının bitki kuru ağırlığında önemli bir azalmaya neden olduğu fakat düşük sıcaklığın 4 veya 6 sa uygulanması ile kuru ağırlığının kontrol bitkileri ile aynı olmamakla birlikte yakın sonuç verdiği belirlenmiştir.

Bu arařtırmada, dūřuk sıcaklık ve dūřuk sıcaklık ardından farklı sūrelerde uygulanan don sıcaklıęının etkisi ile arařtırmada kullanılan tūr ve çeřitlerin taze ve kuru aęırlıklarında belirlenen azalma, net fotosentezin azalmasının sonucu olabilir.

Kontrole gōre, dūřuk sıcaklık ve dūřuk sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklıklarında, genotiplerin gōvde uzunluęunda, taze ve kuru aęırlıęında meydana gelen būyūmedeki gerileme 7 gūn iyileřtirme periyodunda ortadan kalkmamıřtır.

Kontrol uygulamalarında genotiplerin yūzde su miktarı būyūkten kūūęe doęru Kızıltan, Hawk ve *Ae. cylindrica* olarak sıralanmıřtır. Genotiplerin su miktarlarında belirlenen deęerler %0.5-2.5 arasında deęiřmektedir.

Dūřuk sıcaklık uygulamasının gōvde su miktarı ūzerine etkisi belirlemek için ōlūlen deęerler genotiplerde birbirlerine yakın olmasına raęmen *Ae. cylindrica* hariç dięer genotiplerde kontrole gōre az bulunmuřtur: Belirlenen fark %0.5-3.5 arasında olup; *Ae. cylindrica*'nın gōvde su miktarında ise %0.7 oranında artma olmuřtur. Dūřuk sıcaklık ardından 3 ve 6sa sūre uygulanan don sıcaklık uygulamaları ile bu deęerlerde azalma belirlenmiřtir. Don uygulaması ile birlikte gōvde su miktarı kontrole gōre, %5.4-20.8 arasında, dūřuk sıcaklıęa gōre ise %3.4-5.7 arasında deęiřmiřtir. Gōvde su miktarı, don sūrenin 6 saate çıkmasıyla birlikte Hawk çeřitinde deęiřmezken Kızıltan'da % 11 ve *Ae. cylindrica*' da % 0.5 olarak azalmıřtır.

Dūřuk sıcaklık ve dūřuk sıcaklık ardından farklı sūrelerde uygulanan don sıcaklık uygulamaları ile gōvde su miktarında azalma būyūkten kūūęe doęru Kızıltan, Hawk ve *Ae. cylindrica* olarak sıralanmıřtır. Genotiplerin kontroldeki % su içerięi ile kontrole gōre dūřuk ve don sıcaklık uygulamalarındaki % su içerięindeki azalma arasında pozitif bir iliřki belirlenmiřtir. Buna gōre en fazla etkilenen çeřit Kızıltan olup bunu sırası ile Hawk ve *Ae. cylindrica* izlemektedir.

Bitki dokusundaki su dengesinin ayarlanması, tūm stres faktōrlerine uyumun saęlanması da çok ōnemli olduęu bilinmektedir (Bohnert et al., 1995). Dūřuk sıcaklıkların, bitki kōklerinde su alınımasını ve kōk hūcrelerinin hidrolitik iletkenlięini azaltmak sureti ile yaprak dokularındaki su dengesini deęiřtirmektedir (Kacperska-Palacz and Egierszdorff, 1972; McKenzie et al., 1974).

Doğru (2006), tarafından yapılan çalışmada 2 farklı kışlık kolza bitkisi düşük sıcaklığa 15 gün süre ile uyumu sağlandıktan sonra çeşitlerin tüm yapraklarındaki su içeriğinin kontrole göre azaldığı belirlenmiştir.

5.4. *Aegilops* L. türü ve *Triticum* L.'un bazı çeşitlerinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarının bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi

Abiyotik stres olan düşük sıcaklığın, zar lipidleri, nükleik asitler ve proteinlere zarar vererek hücre ölümlerine neden olan (Kendall and McKersie, 1989), singlet oksijen, hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi ROS konsantrasyonunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Okuda et al., 1991; Wise and Noylar, 1987). Aerobik organizmalar biyotik yada abiyotik orjinli ROS'un etkisini minimuma indirgemedi enzimatik (SOD, GR, APX, CAT, POD vd.) ve enzimatik olmayan (gluatyon, askorbat vd.) antioksidan savunma sistemine sahiptirler (Wingsle et al., 1999). Abiyotik stres altında bu enzim ve moleküllerin seviyesinin artması bitkiye dayanıklılık sağlamaktadır. Bu nedenle Kızıltan, Hawk kültür buğday eşitleri ve *Ae.cylindrica* yabancı buğday türünde, erken fide evresinde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde uygulanan don sıcaklık uygulamalarının, bazı antioksidan enzim aktivitelerinde neden olduğu değişimlere bakılarak, tür ve çeşitlerin sıcaklık uygulamalarını tolere etme kabiliyetleri araştırılmıştır.

SOD, aerobik organizmalarda bulunan ve ROS'a karşı hcreysel savunma sisteminde önemli rol oynayan anahtar antioksidan enzimlerden biridir (de Azevedo Neto et al., 2006). SOD aktivitesi, Haber-Weiss reaksiyonlarında substrat olan ve en aktif ROS olan hidroksil radikalini oluşturan süperoksit ve hidrojen peroksit konsantrasyonu tarafından belirlenen tek enzimdir ve SOD, proteinlere ve DNA'da şiddetli hasara neden olacak olan hidroksil radikalinin oluşum riskini azaltır (Bowler et al., 1994).

SOD aktivitesi, kontrole göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarında, Kızıltan eşidinde değişmemiştir. Buna karşın; SOD aktivitesi, Hawk ve *Ae. cylindrica*'da düşük sıcaklık uygulaması ile önemli derecede artmıştır. 3 sa don sıcaklık uygulamasında ise kontrol ve düşük sıcaklık

uygulamasına göre değişmemiştir. 6 sa don uygulaması SOD aktivitesini Hawk'da kontrole ve diğer sıcaklık uygulamalarına göre önemli derecede azaltmış fakat *Ae. cylindrica*'da kontrol ve düşük sıcaklık uygulamalarına göre önemli derecede değiştirmemiştir.

SOD aktivitesi kontrole göre, sıcaklık uygulamalarında Kızıltan çeşidinde değişmezken, Hawk çeşidi ve *Ae. cylindrica* türünde düşük sıcaklıkta artmış, ardından uygulanan don sıcaklığında ise Hawk'da önemli derecede azalırken *Ae. cylindrica*'da değişmemiştir (Çizelge 3).

Genotiplerde, antioksidan sistemde iş yapan enzimlerin aktivitelerinin, kontrole göre stres uygulamalarında değişmemesi, enzimin stresten etkilenmediğini, artması strese karşı savunma sisteminde koruma oluşturduğu ve azalması ise strese karşı savunma sistemindeki koruma işlevini kaybettiğinin göstergesi olabilir.

Tür ve çeşitlere ait SOD aktivite sonuçları, SOD bağlantılı antioksidan sisteminin strese bağlı olarak Kızıltan'da aktif olmadığını buna karşın, Hawk'da düşük sıcaklıkta ve *Ae. cylindrica*'da düşük sıcaklık ve 3 sa don sıcaklığında aktif olduğu ve koruma sağladığı düşünülebilir.

SOD aktivitesinin ürünü olarak da oluşan H_2O_2 ' de oldukça toksik özelliğe sahip olup zararlı etkisinin ortadan kaldırılması için sonraki basamaklarda H_2O 'ya dönüştürülmesi gerekmektedir. Hücre H_2O_2 seviyesini dengeleyen birkaç enzime sahip olup APX'in bu enzimlerin en önemlilerinden biri olduğu düşünölmektedir (de Azevedo Neto et al., 2006). APX, askorbat-glutatyon döngüsünün ilk enzimi olup H_2O_2 'yi suya indirgemekte ve elektron vericisi olarak da askorbatı kullanmaktadır (Asada, 1999).

APX aktivitesi, kontrole göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarında özellikle don süresinin artmasında bağlı olarak Kızıltan çeşidinde önemli derecede azalmıştır. Buna karşın, APX aktivitesi Hawk çeşidi ve *Ae. cylindrica* türünde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamaları ile azalan sıcaklık ($20^{\circ}C \rightarrow 1^{\circ}C \rightarrow (-)10^{\circ}C$) ve artan süreye (3 ve 6sa) bağlı kademeli olarak önemli derecede artmıştır.

APX aktivitesi, kontrole göre sıcaklık uygulamaları ile Kızıltan çeşidinde önemli derecede azalırken, Hawk ve *Ae. cylindrica*'da önemli derecede arttığı belirlenmiştir (Çizelge 3).

Tür ve çeşitlere ait APX aktivite sonuçları, APX bağlantılı antioksidan sisteminin Kızıltan'da aktivite azalmasına bağlı olarak bitki savunma sistemindeki koruma etkinliğinin azaldığı, buna karşın; Hawk ve *Ae. cylindrica*'da aktivitenin artmasına bağlı olarak savunma sistemindeki koruma etkinliğinin arttığı düşünülebilir.

POD; SOD tarafından katalizlenen $O_2^{\cdot-}$ 'in dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 'nin yok edilmesinden sorumlu olan önemli enzimlerden biridir. POD aktivitesi, strese maruz kalan bitki yapraklarında, hücre zar bütünlüğünün ve hücre çeperinin mekaniksel özelliklerindeki değişiklikleri yansıtmaktadır (Asada and Takahashi, 1987).

POD aktivitesi, kontrole göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarında Kızıltan ve Hawk çeşitlerinde önemli derecede azalmış fakat düşük sıcaklık uygulamasına göre, don sıcaklık uygulamalarında ise değişmediği belirlenmiştir. *Ae. cylindrica* türünde ise POD aktivitesi kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklığı ile önemli derecede artmıştır. Düşük sıcaklığa göre, 3 ve 6 sa don sıcaklık uygulamasında ise POD aktivitesinin değişmediği belirlenmiştir.

POD aktivitesi kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklığı ile Kızıltan ve Hawk çeşitlerinde önemli derecede azalırken *Ae. cylindrica* türünde önemli derecede artmıştır (Çizelge 3).

Tür ve çeşitlere ait POD aktivite sonuçları, POD bağlantılı antioksidan sistemin Kızıltan ve Hawk çeşitlerinde aktivite azalması nedeniyle bitki savunma sistemindeki koruma etkinliğini azalttığı, buna karşın *Ae. cylindrica*'da aktivitenin artması nedeniyle savunma sistemindeki koruma etkinliğini arttırdığı düşünülebilir.

GR, askorbat-glutasyon döngüsünün son enzimi olup, NADPH'a bağlı okside glutasyonun (GSSG) indirgenmesini katalizler. GR, askorbatın yeniden üretilmesi için yüksek GSH/GSSG oranının devamlılığını sağlar (GSSG'yi GSH'a

dönüştürmek suretiyle) ve H₂O₂'nin yok edilmesinde sınırlı hıza sahip olan bir enzimdir (Sudhakar, 2001).

GR aktivitesi, kontrole göre düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarında Kızıltan ve Hawk çeşitlerinde önemli derecede azalmıştır. Kızıltan çeşidinde, düşük sıcaklık uygulamasına göre 3 sa don sıcaklık uygulamasında GR aktivitesi değişmezken 6 sa don sıcaklık uygulamasında önemli derecede artmış, fakat GR aktivitesi kontrole göre, önemli derecede azalmıştır. GR aktivitesi, Hawk'da, düşük sıcaklığa göre don sıcaklık uygulamaları ile önemli derecede azalmıştır. *Ae. cylindrica*'da ise kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklığı ile değişmemiştir.

GR aktivitesinin kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından don sıcaklık uygulamaları ile Kızıltan ve Hawk çeşitlerinde önemli derecede azalırken, *Ae. cylindrica*'da değişmediği belirlenmiştir.

Tür ve çeşitlere ait GR aktivite sonuçları, Kızıltan ve Hawk çeşitlerinde aktivitenin azalması ile, bitki savunma sisteminde GR bağlantılı antioksidan koruma etkinliğinin azaldığı, buna karşın, *Ae. cylindrica*'da aktivitenin değişmemesi ile koruma etkinliğinin değişmediği düşünülebilir.

Çizelge 3. Genotiplerde düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından farklı sürelerde uygulanan don sıcaklık uygulamalarında belirlenen antioksidan enzim aktivitelerinin kontrole göre değişimi. ↓ azaldı; ↑ arttı; — değişmedi. Kontrol (K); Düşük sıcaklık (Düş.s); Don sıcaklık, 3 ve 6 sa (Don, 3sa/6sa).

Genotipler	Kontrolle göre sıcaklık uygulamalarında, antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişim											
	K→ Düş.s				K→Düş.s+Don,3sa				K→Düş.s+Don,6sa			
	SOD	POD	APX	GR	SOD	POD	APX	GR	SOD	POD	APX	GR
Kızıltan	—	↓	↓	↓	—	↓	↓	↓	—	↓	↓	↓
Hawk	↑	↓	↑	↓	—	↓	↑	↓	↓	↓	↑	↓
<i>Ae. cylindrica</i>	↑	↑	↑	—	↑	↑	↑	—	—	↑	↑	—

Düşük sıcaklıkta büyüyen düşük sıcaklığa adapte bitkilerin artan seviyede antioksidan enzimler içerdiği bildirilmiştir (Koster and Lynch 1992; Kishitani et al., 1994; Murelli et al., 1995; Nomura et al., 1995; Dörffling et al., 1997; Tao, et al., 1998).

Janda vd. (2003) tarafından, 14/7°C'den 3/-3°C gündüz/gece sıcaklığına kademeli azaltılarak 7 hafta boyunca düşük sıcaklığa uyumu sağlanan kışlık ve yazlık buğday, çavdar, arpa ve yulaf bitkilerine düşük sıcaklık uyumu ardından saatte 1°C azaltılarak -11, -13 ve -15°C don sıcaklığı 24 sa uygulanmış ve don sıcaklığını takiben 0,5°C'de 2 gün bırakılan bitki yapraklarında GR, APX ve GPX antioksidan enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Kontrol bitkileri 17/16°C'de 3 hafta büyütülmüşlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, bütün genotiplerde GPX ve APX aktivitesinin kontrole göre önemli derecede arttığı, fakat GR'ın önemli derecede değişmediği belirlenmiştir.

Gechev vd. (2003) tarafından, tütün (*Nicotiana tabaccum* cv. Petit Havana SR1) bitkisi, 14 sa ışık/10 sa karanlık periyodunda ve 25°C sıcaklığında çiçeklenme öncesi evreye kadar büyütülmüş ve ardından 4 gün, 5°C'de düşük sıcaklık uygulanmıştır. 4 gün boyunca SOD, APX ve GR enzim aktivite tayinleri yapılmıştır. Elde edilen verilerde, SOD aktivitesinin kontrole göre düşük sıcaklık ile değişmediği, APX ve GR aktivitesinin ise azaldığı belirlenmiştir.

Keleş ve Öncel (2002) tarafından, ekmeklik (*Triticum aestivum* L.) ve makarnalık (*Triticum durum* Desf.) buğday çeşitleri ile yapılan çalışmada sıcaklık stresleri ile su stresleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. 24/16°C (gece/gündüz) sıcaklıkta 6 gün büyütülen buğday bitkileri, kontrol için 24/16°C, düşük sıcaklık uygulaması için 5/-5°C, yüksek sıcaklık uygulaması için 40/30°C'ye transfer edilmiş, burada 6 gün büyütülmüş ve bu koşullar altında ayrıca aşırı su, kuraklık ve tuz (0.7%NaCl) streslerine maruz bırakılmıştır. GR aktivitesinin; düşük ve yüksek sıcaklıkta bütün genotiplerde az oranda, buna karşın su streslerinde ve düşük sıcaklık ile birlikte uygulanan su streslerinde önemli derecede arttığı belirlenmiştir.

Kızıltan çeşidinde, GR, APX ve POD aktivitesi düşük sıcaklık uygulanmasında ve düşük sıcaklığı takiben uygulanan don sıcaklığında kontrole göre önemli derecede azalma göstermiş olmasına rağmen, SOD aktivitesi önemli derecede

değişmemiştir (Çizelge 3). Kontrole göre düşük sıcaklık uygulaması ardından bitki büyüme hızının artması, düşük sıcaklıkta enzimatik antioksidan sistemi yerine enzimatik olmayan antioksidan sisteminin koruma etkinliğinin sonucu olabilir. Don sıcaklık uygulamalarında ise yüzde iyon sızıntısının artması ve yüzde MDİ'nin azalması ROS kaynaklarından biri olan hücre zar sisteminde yüksek seviyede zarar meydana geldiğini göstermektedir. Bu zarar don sıcaklık uygulama süresinin 3 saatten 6 saate yükselmesi ile değişmemiştir. Don sıcaklık uygulamasında 3 saatte belirlenen zarar muhtemelen maksimum düzeyde gerçekleştiğinden 6 sa don uygulamasında da zararın yüzdesi önemli derecede değişmemiştir. MDİ sonuçlarına benzer şekilde don sıcaklığının 3 ve 6 sa uygulaması ardından 7 gün büyümeye bırakılan fidelerin gövde uzunluğunda önemli bir artma olmaması da bu zararın 3 saatte maksimum değere ulaştığının göstergesi olabilir. Kızıltan çeşidinde, dona toleransın sağlanmasının beklendiği düşük sıcaklık uygulanmasında gerekli bitki savunma sistemlerinden biri olan antioksidan enzimlerinin aktive edilememesi sonucunda dönüşümsüz zarar belirlenmiştir.

Hawk çeşidinde SOD ve APX aktivitesi, düşük sıcaklık uygulaması ile kontrole göre önemli derecede artmış buna karşın GR ve POD aktiviteleri önemli derecede azalmıştır (Çizelge 3). Düşük sıcaklık uygulaması ardından bitkiler büyümelerini sürdürdükleri için Hawk, düşük sıcaklık da SOD ve APX aktivitesini arttırarak kloroplast, mitokondri ve sitoplazmada SOD ile APX bağlantılı antioksidan savunma sistemini devreye sokmuş olabilir. Don sıcaklık uygulamasında ise kontrole göre SOD aktivitesi 3 saatte değişmemiş ve 6 saatte azalmış olmasına rağmen, APX aktivitesi don sürenin 3 saatten 6 saate yükselmesi ile artmıştır. Don uygulamasında APX, SOD ürünü olan H_2O_2 değil, muhtemelen hücrede peroksizomlarda açığa çıkan fotosolunum ve yağların β -oksidasyon ürünü olan H_2O_2 'yi kullanmış ve bitkiyi korumuş olabilir. Kontrol ve düşük sıcaklık uygulamalarına göre, don sıcaklık uygulamalarında yüzde iyon sızıntısının artması ve yüzde MDİ'nin azalması önemli ROS kaynaklarından olan hücre zar sisteminin de zarar gördüğünü göstermektedir. Bu zarar don süresinin 3 saatten 6 saate yükselmesi ile artmıştır. Don sıcaklık uygulaması (3 veya 6 sa) ardından büyümeye bırakılan fidelerin boy uzunluklarında belirlenen azalmanın 3 sa göre 6 sa don uygulaması ile artması da zararın morfolojik göstergesidir.

Ae. cylindrica türünde, kontrole göre, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 ve 6sa süre ile uygulanan don sıcaklığında SOD, APX ve POD enzim aktiviteleri önemli derece artmış, fakat GR aktivitesi değişmemiştir. SOD aktivitesinde artma, yalnızca 6 sa don sıcaklık uygulamasında önemli değildir (Çizelge 3). Buna göre; *Ae. cylindrica*, düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan 3 sa don sıcaklıklarında SOD, APX ve POD antioksidan enzimlerinin aktivitesini arttırarak kloroplast, mitokondri, peroksizom ve sitozolde SOD ile APX ve/veya SOD ile POD bağlantılı antioksidan savunma sistemini devreye sokmuş olabilir. Düşük sıcaklık ardından 6sa don uygulamasında SOD aktivitesi kontrole göre değişmemiş olmasına rağmen, APX ve POD aktivitelerini arttırmıştır: Don uygulama süresinin artmasına bağlı olarak APX ve POD. SOD ürünü olan H₂O₂ yanı sıra, muhtemelen hücre peroksizomlarında artan fotosolunum ve yağların β-oksidasyon ürünü olan H₂O₂'yi detoksifiye ederek bitkiyi korumuş olabilir. Kontrol ve düşük sıcaklık uygulamalarına göre, don sıcaklık uygulamalarında iyon sızıntısının % 43-55 artması ve MDI'nin % 43-55 azalması önemli ROS kaynaklarından olan hücre zar sisteminin de zarar gördüğünün göstergesidir. Düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından uygulanan don sıcaklık uygulamalarını takiben 7 gün kontrol sıcaklığında büyütülen bitkilerin büyümeye devam etmesi, bu sıcaklık uygulamalarında strese bağlı ortaya çıkan zararın kısmen de olsa azaltılmasının bir sonucudur. Türün, don toleransı kazanması muhtemelen don öncesi uygulanan düşük sıcaklık uygulanmasında, bitki savunma sistemlerinden biri olan antioksidan enzim aktivelerinin arttırılmasının sonucudur.

6. ÖNERİLER

Genomik olarak farklı özelliklere sahip tetraploid makarnalık kültür buğdayı Kızıltan, hekzaploid ekmeklik kültür buğdayı Hawk ve tetraploid yabani buğday türü olan *Ae. cylindrica*, her birine eşit olarak uygulanan düşük sıcaklık ve düşük sıcaklık ardından 3 ve 6 sa uygulanan don sıcaklığına farklı tepkiler vermiş ve buna bağlı olarak farklı seviyelerde don toleransı sergilemişlerdir.

Bu araştırmada, sıcaklık uygulamaları sonrası belirlenen gövde uzunluğu, yaprak dokusundaki % iyon sızıntısı ve MDİ ve antioksidan enzim aktivite sonuçlarına göre Kızıltan, sıcaklık uygulamalarından en fazla zarar gören genotip, Hawk ve *Ae. cylindrica* ise toleranslı genotipler olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, makarnalık kültür buğday çeşidinin, ekmeklik buğday çeşidi ve yabani buğday türüne göre daha duyarlı olduğu söylenebilir. Bu araştırmadaki genotip sayısı, çeşit ve tür bazında artırılarak sonuçların doğruluk yüzdesi arttırılabilir.

Gövde uzunluğu, bitkide stresle meydana gelen zarardan doğrudan etkilendiği için genotiplerin don toleransına sahip olup olmadığının belirlenmesinde morfolojik bir parametre olarak kullanılabilir. Ayrıca, fizyolojik ve biyokimyasal değişimler sonucu zar permeabilitesinde ki değişikliklerden kaynaklanan iyon sızıntı göstergesi olan MDİ ölçümü, zararın miktarını belirleyen bir diğer önemli parametre olarak kullanılabilir.

Düşük ve don sıcaklık stresinin moleküler düzeyde araştırılmasında ise, strese bağlı olarak hücrede konsantrasyonu artan reaktif oksijen türlerinin, zararsız hale getirilmesinde etkin rol oynayan antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi ile genotiplerin don toleransının kazandırılmasında, hangi enzimlerin savunma sistemlerinde etkin olduğu ortaya konabilir.

Bu araştırmada belirlenen parametrelerin yanı sıra gelecekte aşağıda önerilen araştırmalarında yapılması ile düşük ve don sıcaklık stresinden oluşacak zararlar büyük ölçüde azaltılabilir.

Genotiplerde, düşük ve don sıcaklıkları ardından yapılacak olan MDİ ölçümü ile toleranslı ve duyarlı genotiplerin laboratuvar şartlarında belirlenmesi.

Toleranslı genotiplerde, düşük sıcaklık ve don sıcaklık stres faktörlerine karşı bitki tarafından aktive edilen spesifik savunma sistemlerinin ve savunma sisteminin aktivasyonundan sorumlu genlerin belirlenmesi. Örneğin, don toleransına sahip genotiplerde, sentezi yeni sentezlenen ve sentezi artan antifiriz proteinlerinden yola çıkarak, proteinlerin amino asit dizilimi ve bunu takiben bu proteinlerin sentezinden sorumlu olan genler bulunabilir.

Toleransı sağladığı düşünülen genlerin tespit ve izolasyonundan sonra, genler duyarlı genotiplere aktarılarak, genin toleranstaki rolü kesinleştirilebilir.

Gen transferi yapılan çeşit ve türün yetiştirilmesi ile stres geninin stabilitesi belirlenebilir.

7. KAYNAKLAR

- 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.
- Alscher, R.G. and Hess, J.L., 1993, In antioxidant in higher plants, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Alscher, R.G., 1989, Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants, *Physiologia Plantarum*, 77, 457-464.
- Alvarez, M.E., Pennell, R.I., Meijer, P.J., Ishikawa, A., Dixon, R.A. and Lamb, C., 1998, Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity, *Cell*, 92, 773-784.
- Asada, K. and Takahashi, M., 1987, Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. *Photoinhibition*, Kyle, J., Osmon, C.B., Arntzen, C.F., (eds.), Elsevier, Amsterdam, pp. 227-287.
- Asada, K., 1994, Production and action of active oxygen in photosynthetic tissue. Causes of Photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants. Foyer, C.H. and Mullineaux, P.M., (eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 77-104.
- Asada, K., 1999, The water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 601-639.
- Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., 2002, Oxidative stress and antioxidative system in plants, *Curr. Sci.*, 82, 1221-1235.
- Arora, R. and Patla, J.P., 1991, A loss in plasma membrane ATPase activity and its recovery coincides with incipient freeze-thaw injury and postthaw recovery in onion bulb scale tissue, *Plant Physiol.*, 95, 846-852.
- Arora, R. and Patla, J.P., 1989, Perturbation of membrane calcium as molecular mechanisms of freezing injury. *Environmental Stress in Plants*. Chery J.H.

(ed.), NATO ASI Series, Vol. G19, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 281-290.

Arrigoni, O. and De Tullio, M.C., 2000, The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions, *Journal of Plant Physiol.*, 157, 481-488.

Badiani, M., Paolacci, A.R., D'annibale, A. and Sermanni, G.G., 1993, Antioxidant and photosynthesis in the leaves of *Triticum durum* L. seedling acclimated to low, non-chilling temperature, *Journal Plant Physiol.*, 142, 18-24.

Baluska, F., Samaj, J., Wojtaszek, P., Volkman, D. and Menze, D., 2003, Cytoskeleton-plasma membrane-cell wall continuum in plants, Emerging links revisited, *Plant Physiol.*, 133, 482-491.

Balkan, K., 1964, Patnos'ta Keşfedilen Urartu Tapınağı ve Urartu Sarayı, Türk Tarih Kurumu Yıllık Konferansları I, Türk Tarih Kurumu Yayınları XVII Seri No:1, Ankara, 235-243s.

Bedetti, C., Bozzini, A., Silano, V. and Vittozzi, L., 1974, Amylase protein inhibitors and role of Aegilops species in polyploid wheat speciation, *Biochimica et Biophysica Acta*, 362, 299-307.

Bergmeyer, H.U., 1974, *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. II, Section C: Methods for Determination of Enzyme activity, 2nd Edition, pp. 685-690.

Beyer W.F. and Fridovich I., 1987, Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Anal Biochem*, 161, 559-566.

Bhattacharjee, S., 2005, Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants, *Current Sci.*, 89, 1113-1121.

Bilgi, H., 2002, Türkiye'den yabancı ve ilksel buğday türlerinin mikrosatelit belirteçleri ve arkeolojik DNA analizine dayalı genetik ilişkileri, Doktora tezi, Orta Doğu teknik Üniversitesi, Ankara.

- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V., 2003, Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review, *Ann. Bot.* 91, 179-194.
- Bohnert, H.J., Nelson, D.E. and Jensen, R.G., 1995, Adaptation to environmental stresses, *Plant Cell*, 7, 1099-1111.
- Bolwell, G.P. and Wofastek, P., 1997, Mechanism for the generation of reactive oxygen species in plant defence-Broad perspective, *Physiol. Mol. Plant. Pathol.*, 51, 347-349.
- Boşgelmez, A., Boşgelmez, İ. İ., Savaşçı, S., Paslı, N. Ve Kaynaş, S., 2000, *Ekoloji I.*, ISVAK Yayın: No: 6, Başkent Klîşe ve Matbaacılık, Ankara, 2. Baskı, 884s, 87 – 88.
- Bowler, C., Camp, W.V., Montagu, M.V. and İnze, D., 1992, Superoxide dismutase and stress tolerance, *Annual review of Plant physiol. and plant Molecular Biology*, 43, 83-116.
- Bowler, C., Camp, W.V., Montagu, M.V. and İnze, D., 1994, Superoxide dismutase in plants, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 13(3), 199-218.
- Braam, J., Sistrunk, M.L., Polisensky, D.H., Xu, W., Purugganan, M.M., Antosiewicz, D.M., Campbell, P. and Johnson, K.A., 1997, Plant responses to environmental stress: regulation and function of arabidopsis TCH genes, *Planta*, 203, 35-41.
- Braam, J., 2000, The Arabidopsis TCH genes: regulated in expression by mechanotransduction? *Plant tolerance to abiotic stresses in agriculture: Role of genetic engineering.* Cherry JH, Locy DR, Rychter A., (eds.), NATO Science Series 3, High Technology, Vol. 83. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht / Boston / London, pp 29-37.
- Bradford, M.M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.

- Briggle, L.W. and Curtis, B.C., 1987, Wheat worldwide , In *Wheat and Wheat Improvement*, E.G. Heyne (ed.) 2nd edition, ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA. 1-32p.
- Buettner, G.R., 1993, The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alfa-tocopherol and ascorbate, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 300, 535-543.
- Camerjo, D., Rodriguez, P., Morales, M.A., Dell'Amico, J.M., Torrecillas, A. and Alarcon, J.J., 2005, High temperature effect on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility, *J. of Plant Physiol.*, 162, 281-289.
- Chen, H.H., Brenner, M.L. and Li, P.H., 1983, Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation, *Plant Physiol.*, 71, 362-365.
- Christiansen, M.N. and St. John, J.B. 1981, The nature of chilling injury and its resistance in plants. Analysis and improvement of plant cold hardiness. Olein, C.R. and Smith, M.N., (eds.), CRC Pres Inc., Boca Raton, U.S.A., 1-16p.
- Cossins, A.R., 1994, Homeoviscous adaptation of biological membranes and its functional significance. *Temperature Adaptation of Biological membranes*. Cossins A.R. (ed.), Portland Pres, London, 63-76p.
- Corpas, F.J., Barroso, J.B. and del Rio, L.A., 2001, Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plants cells, *Trend Plant Sci.*, 6, 145-150.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breusegem, F., 2000, Dual action of active oxygen species during plant stress responses, *Cell Mol. Life Sci.*, 57, 779-795p.
- Davletova, S., Rizhsky, L., Liang, H., Shenggiang, Z., Oliver, D.J., Coutu, J., Shulaev, V., Schlauch, K. and Mittler, R., 2005, Cytosolic ascorbate peroxidase 1 is a central component of the reactive oxygen gene network of Arabidopsis, *Plant Cell*, 17, 268-281.

- Davis, P.H., 1985, Flora of Turkey and the east aegean islands, Vol.9, Edinburg, pp. 194-254.
- de Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Eneas-Filho, J., de Abreu, C.E.B. and Gomes-Filho, E., 2006, Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes, *Environ.Exp.Bot.*, 56, 87-94.
- De Tullio, M.C., Paciolla, C., Dalla Vecchia, F., Rascio, N., D'Emérico, S., De Gara, L., Liso, R. and Arrigoni, O., 1999, Change in onion root development induced by the inhibition of peptidyl-prolyl hydroxylase and influence of the ascorbate system on cell division and elongation, *Planta*, 209, 424-434.
- Del Rio, L.A., Sandolia, L.M., Palma, J.M., Bueno, P. and Cospus, F.J., 1992, Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implication, *J. Free Radicals Biol. Med.*, 13, 557-580.
- Del Rio, L.A., Corpas, F.J., Sandolia, L.M., Palma, J.M., Gomez, M. and Barroso, J.B., 2002, Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes, *J. Exp.Bot.*, 53, 1255-1272.
- Denekamp, M. and Smeeken S.C., 2003, Integration of wounding and osmotic stress signals determines the expression of the *AtMYB102* transcription factor, *Plant Physiol.*, 132, 1415-1423.
- De Vries, A.L., 1986, Antifreeze glycopeptides and peptides: Interactions with ice and water, *Methods Enzymol.*, 127, 293-303.
- Doğru, A., 2006, Kolza (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera*)'nın bazı kışlık çeşitlerine düşük sıcaklık toleransı ile ilgili fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırılması, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri, Enstitüsü, Ankara, 150 s.
- Doke, N., 1997, The oxidative burst: roles in signal transduction and plant stress. Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses

- Scandalios, J.G., (eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, pp. 785-813.
- Doucet, C.J., Byass, L., Elias, L., Worrall, D., Smallwood, M. and Bowles, D.J., 2000, Distribution and characterization of recrystallization inhibitor activity in plant and lichen species from the UK and maritime Antarctic, *Cryobiology*, 40, 218-227.
- Dörffling, K., Dörffling, H., Lesselich, G., Luck, E., Zimmermann, C., Melz, G. and Jürgens, H.U., 1997, Heritable improvement of frost tolerance in winter wheat by in-vitro-selection of hydroxyproline-resistant proline overproducing mutants, *Plant Mol. Bio.*, 23, 221-225.
- Duman, J.G. and Olsen, T.M., 1993, Thermal hysteresis protein activity in bacteria, fungi and phylogenetically diverse plants, *Cryobiology*, 30, 322-328.
- Dutilleul, C., Garmier, M., Noctor, G., Mathieu, C., Chetrit, P., Foyer, C.H. and de Paepe, R., 2003, Leaf mitochondria modulate whole cell redox homeostasis, set antioxidant capacity, and determine stress resistance through altered signaling and diurnal regulation, *Plant Cell*, 15, 1221-1226.
- Dybing, E., Nelson, J.R., Mitchell, J.R., Sesame, H.A. and Gillette, J.R., 1976, Oxidation of methyldopa and other catechols by cytochromes P-450-generated superoxide anion: Possible mechanism of methyldopa hepatitis. *Mol.Pharmacol.*, 12, 911-920p.
- Edreva, A., 1998, Molecular bases of stress in plants, *Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri*, 22-26 Haziran, İzmir.
- Ekmekçi, Y. and Terzioğlu, S., 2002, Changes in the electrophoretic pattern of soluble shoot proteins of wild and cultivated tetraploid wheats following cold acclimation and freezing, *Israel J. of Plant Sci.*, 50, 95-102.
- Eltisner, E.F., 1987, Metabolism of activated oxygen species, In *The Biochemistry of Plants* (eds Davis, D.D.), Academic Press, San Diego, 253-315.

- FAO, 2000, FAOSTAT Agriculture Database. <http://apps.fao.org/cgi-bin/nph-db.pl?subset=agriculture>).
- Felix, G., Regenass, M. and Boller, T., 2000, Sensing of osmotic pressure changes in tomato cells, *Plant Physiol.*, 124, 1169-1179.
- Forman, H.J. and Boveris, A., 1982, Superokside radical and hydrogen peroxide in mitochondria. *Free radicals in biology and medicine*. Pryor, W.A., (ed.), Academic Press, New York, 5, 65-90.
- Foyer, C.H. and Noctor, G., 2005, Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses, *Plant Cell*, 17, 1866-1875.
- Foyer, C.F., Lopez-Delgado H., Dat, J.E. and Scott, I.M., 1997, Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling, *Physiol Plant*, 100, 241-254.
- Foyer, C.H., 1993, 'Ascorbate'. *Antioxidant in Higher Plants*. Alscher, R.G. and Hess, J.L. (eds.), CRC Press, Boca Raton, pp. 31-52
- Foyer, C.H. and Halliwell, B., 1976, The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts : a proposed role in ascorbic acid metabolism, *Planta*, 133, 21-25.
- Fowler, D.B., Limin, A.E., Wang S.Y. and Ward, R.W., 1996, Relationship between low temperature tolerance and vernalization in wheat and rye, *Canadian Journal of Plant Sci.*, 76: 37-42.
- Fowler, D.B. and Limin, A.E., 2003, Impact of cold stress, *Crop Development Centre University Of Saskatchewan*, 4p.
- França, M.B., Panek, A.D. and Eleutherio, E.C.A., 2006, Oxidative stress and its effects during dehydration, *Comp. Biochem. Phys.*, In Press.
- Frenkel, C., 1991, Disruption of macromolecular hydration- a possible origin of chilling destabilisation of biopolymers, *Trend in Food Science and Technology*, 2, 39-41.

- Fryer, M.J., 1992, The antioxidant effects of thylakoid vitamin E (alpha-tocopherol), *Plant Cell and Environment*, 15, 381-392.
- Gechev, T., Willekens, H., Montagu, M.V., Inze, D., Camp, W.V., Toneva, V. and Minkov, I., 2003, Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress, *J. Plant Physiol.*, 160, 509-515.
- Gelli, A. and Blumwald, E., 1997, Hyperpolarization-activated Ca^{+2} permeable channels in the plasma membrane of tomato cells, *J. Membr. Biol.*, 155, 269-279.
- Gibon, Y., Bessieres, M.A. and Larher, F., 1997, Is glycine betaine a non-compatible solute in higher plants that do not accumulate it? *Plant, Cell and Environ.*, 20, 329-340.
- Grace, S. and Logan, B.A., 2000, Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway, *Philosophical Transactions of The Royal Society of London B*, 355, 1499-1510.
- Greer, D.H., Ottander, C. and Öquist, G., 1991, Photoinhibition and recovery of photosynthesis in intact barley leaves at 5°C and 20°C, *Physiol. Plant*, 81, 203-210.
- Griffith, M., Ala, P., Yang, D., Hon, W. and Moffatt, B., 1992, Antifreeze protein produced endogenously in winter rye leaves, *Plant Physiol.*, 100, 593-596.
- Griffith, M. and Yaish, M.W.F., 2004, Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities, *Trends in Plant Science*, 9, 399-405.
- Guy, C.L., Huber, J.L.A. and Huber S.C., 1992, *Plant Physiol.*, 100: 502-506.
- Gürel A. ve Avcioğlu R., 2001, Bitkilerde strese dayanıklılık fiziyojisi, Bölüm 21. Bitki Biyoteknolojisi II-Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. (eds.), S. Ü. Basımevi, 288s.
- Haley, A., Russel, A.J., Wood, N., Allan, A.C., Knight, M., Campbell, A.K. and Trewavas, A.J., 1995, Effects of mechanical signaling on plant cell cytosolic calcium, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 4124-4128.

- Hammond-Kosack, K.E. and Jones, J.D.G., 1996, Resistance gene dependant plant defense responses, *Plant Cell*, 8, 1774-1791.
- Hausledan, A. and Alscher, R.G., 1993, Glutathion, , Antioxidant in Higher Plants, Alscher R.G. and Hess, J.L.(eds.), CRC Press, Baco Raton, pp.1-23
- He, Z-H., He, D. and Kohorn, B.D., 1998, Requirement for the induced expression of a cell wall associated receptor kinase for survival during the pathogen response, *Plant J.*, 14, 55-63.
- Hegedüs, A., Erdei, S. and Horvath, G., 2001, Comperative studies of 11202 detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress, *Plant Sci.*, Vol.160, 1085-1093.
- Heun, M., Schafer-Pregl, R., Klawan, D., Castanga, R., Accerbi, M., Borghi B. and Salamini F., 1997, Site of einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting, *Science*, 278, 1312-1314.
- Hewitt, E.J., 1966, Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition, Tech. Comm. No. 22, Revised 2nd edition, Commw. Bur. Hort. and Plantation Crops, 547p.
- Hon, W-C., Griffith, M., Mlynarz, A., Kwok, Y.C. and Yang, D.S.C., 1995, Antifreeze proteins in winter rye are similar to pathogenesis-related proteins, *Plant Physiol.*, 109, 879-889.
- Hong, S.W., Jon, J., Kwak, J.M. and Nam, H.G., 1997, identification of receptor like protein kinase gene rapidly induced by abscisic acid, dehydration, high salt and cold treatments in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Physiol.*, 113, 1203-1212.
- Horemans, N., Foyer, C.H., Potters, G. and Asard, H., 2000, Ascorbate function and associated transport systems in plants, *Plant Physiol. and Biochem.*, 38, 531-540.
- Imlay, J.A. and Linn, S., 1986, DNA damage and oxygen radical toxicity, *Science*, 240, 1302-1309.

- Janda, T., Szalai, G., Rios-Gonzales, K., Veisz, O. and Paldi, E., 2003. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals, *Plant Sci.*, 164, 301-306.
- Jbir, N., Chaibi, W., Ammar, S., Jemmali, A. and Ayadi, A., 2001, Root growth and lignification of two wheat species differing in their sensitivity to NaCl, in response to salt stress, *Life Sci.*, 324, 863-868.
- Jones, P.G and Inouye, M., 1994, The cold shock response – a hot topic, *Mol. Microbial.*, 11, 811-818.
- Jimenez, A., Hernandez, J.A., del Rio, L.A. and Sevilla, F., 1997, Evidence for the presence of ascorbate-glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves, *Plant Physiol.*, 114, 275-284
- Jimenez, A., Hernandez, J.A., Pastori, G., de Rio, L.A. and Sevilla, F., 1998, Role of the ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves, *Plant Physiol.*, 118, 1327-1335.
- Kacperska-Palacz, A. and Egierszsdorff, S., 1972, Effects of cold hardening and CCC treatment on hydration and frost and desiccation hardiness of plant tissues, *Botanical Gazete*, 133, 355-360.
- Kacperska, A., 2004, Sensor type in signal transduction pathways in plant cells responding to abiotic stressors: do they depend on stress intensity?, *Pyhsiologia Plantarum*, 122, 159-168.
- Kacar, B., Katkat, V. ve Öztürk, Ş., 2002, Bitki Fizyolojisi, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı, Yayın No. 198. 493-540 s.
- Kadioğlu, A., 2004, Bitki Fizyolojisi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Yayınları, 3.baskı.
- Kagan, V.E, 1989, Tocopherol stabilizes membrane against phospholipase A, free fatty acids and lysophospholipids. Vitamin E: biochemistry and health implications. Diplock, A.T., Machlin, J., Packer, L., Pryor, W.A., (eds.), *Annals of the New York Academy of Science*, New York, 570, 121-135.

- Kagan, V.E, Fabisiak, J.P. and Quinn, P.J., 2000, Coenzyme Q and vitamin E need each other as antioxidants, *Protoplasma*, 214, 11-18.
- Kamal-Eldin, A. and Appelqvist, L-A., 1996, The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols, *Lipids*, 31, 671-701.
- Keleş, Y. and Öncel, I., 2002, Response of antioxidative defence systems to temperature and water stress combinations in wheat seedling, *Plant Sci.*, 163, 783-790.
- Kendall, E.J. and McKersie, B.D., 1989, Free radical and freezing injury to cell membranes of winter wheat, *Physiol. Plant.*, 76, 86-94.
- Kimber, G. and Sears, E.R., 1987, Evolution in genus *Triticum* and origin of cultivated wheat, pp. 155-164, In Heyre, E.G. (eds.) *Wheat and Wheat Improvement*, 2nd ed. Argon. Monogr.13. ASA, CSSA and SSSA, Madison, WI., 764p.
- Kimber, G. and Feldman, M., 1987, Wild wheat, special report 353, College of agriculture, University of Missouri Columbia, 142p.
- Kishitani, S., watanabe, K., Yasuda, S., Arakawa, K. and Takabe, T., 1994, Accumulation of glycinebetaine during cold acclimation and freezing tolerance in leaves of winter and spring barley plants, *Plant, Cell and Environment*, 17, 89-95.
- Kratsch, H.A. and Wise, R.R. 2000, The ultrastructure of chilling stress, *Cell and Environment*, 23, 337-350.
- Kronstad, W.E., 1996, Agricultural Development and Wheat Breeding in 20th Century. Prospects for Global Improvement. Braun, H.J. et al. (eds.), *Proceedings of the 5th International Wheat Conference*, Ankara, Turkey, pp. 1-10.
- Knight, H., 2000, Calcium signaling during abiotic stress in plants, *Int Rev Cytol.*, 195, 269-324.

- Knight, C.A. and Duman, J.G., 1986, Inhibition of recrystallization of ice by insect thermal hysteresis proteins: A possible cryoprotective role, *Cryobiology*, 23, 256-262.
- Knight, C.A., DeVries, A.L. and Oolman, L.D., 1984, Fish antifreeze proteins and the freezing and recrystallization of ice, *Nature* 308, 295-296.
- Knight, H., Trewavas, A.J. and Knight, M.R., 1996, Cold calcium signalling in *Arabidopsis* involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation, *Plant Cell*, 8, 489-503.
- Kocaçalışkan, İ., 2004, *Bitki Fizyolojisi*, Dumlupınar Üniversitesi Yayınları, 4.Baskı.
- Kohorn, B.D., 2000, Plasma membrane-cell wall contacts, *Plant Physiol.*, 124, 31-38.
- Koster, K.L. and Lynch, D.V., 1992, Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of Puma rye, *Plant Physiol.*, 98, 108-113.
- Kotchoni, O.S., 2004, Molecular and physiological characterization of transgenic *Arabidopsis* plants expressing different aldehyde dehydrogenase (ALDH) genes, Ph.D. thesis, University of Bonn, Germany.
- Kotchoni, S.O. and Gachomo, E.W., 2006, The reactive oxygen species network pathways: an essential prerequisite for perception of pathogen attack and the acquired disease resistance in plants: a review, *J. Biosci.* 31(3), 389-404.
- Kotchoni, O.S., Kuhns, C., Ditzer, A., Kirch, H-H. and Bartels, D., 2006, Over-expression of different aldehyde dehydrogenase genes in *Arabidopsis thaliana* confers tolerance to abiotic stress and protects plants against lipid peroxidation and oxidative stress, *Plant Cell Environ.*, 29, 1033-1048.
- Kuk, Y.I., Shin J.S., Burgos N.R., Hwang, T.E., Han, O., Cho, B.H., Jung, S. and Guh, J.O., 2003, Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants, *Crop Sci.*, 43, 2109-2117.

- Kün, E., 1988, Serin İklim Tahılları, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları:1032, Ders Kitabı: 299, 13s.
- Lagudah, E.S., Dubcovsky, J. and Powell, W., 2001, Wheat genomics, *Plant Physiol. Biochem*, 39, 335-334.
- Lamb, C. and Dixon, R.A., 1997, The oxidative burst in plant disease resistance response, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 48, 251-275.
- Landjeva, S.P. and Ganeva, G.D., 2000, Chromosome N-banding polymorphism in *Aegilops geniculata* roth, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47, 35-42.
- Larson, R.A., 1988, The antioxidant in higher plants, *Phytochemistry*, 27, 969-978.
- Larcher, W., 1995, *Physiological plant ecology, ecophysiology and stress physiology of functional groups*, Springer-Verlag, Berlin.
- Leonardis, D.S., Dipiero, N. and Dipierro, S., 2000, Purification and characterization of an ascorbate peroxidase from potato tuber mitochondria, *Plant Physiol. and Biochem.*, 38, 773-779.
- Lersten, N.R., 1987, Morphology and anatomy of the wheat plant, In wheat and wheat improvement, 2nd edition, ed. By Heyne, E.G., American Society of Argon, 33-75.
- Lew, R.R., 1996, Pressure regulation of the electrical properties of growing *Arabidopsis thaliana* L. root hairs, *Plant Physiol.*, 112, 1089-1100.
- Lew, R.R., 2004, Osmotic effects on the electrical properties of *Arabidopsis* root hair vacuoles, *Plant Physiol.*, 134, 352-360.
- Lewitt, J., 1980, Responses of plants to environmental stress, Vol.1, Chilling, freezing and high temperature stresses, Academic Pres, New York.
- Linctenthaler, H.K., 1996, Vegetation stress: An introduction to the stress concept in plants, *J. Plant Physiol.*, 148, 4-14.
- Linnaeus, C., 1953, *Species Plantarum, Laurentii Salvii, Holmiae.*

- Liso, R., Innocenti, A.M., Bitonti, M.B. and Arrigoni, O., 1988, Ascorbic acid-induced progression of quiescent centre cells from G1 to S phase, *New Phytologist*, 110, 469-471.
- Lukatkin A.S., 2003, Contribution of oxidative stress to the development of cold-induced damage to leaves of chilling-sensitive plants: 3. Injury of Cell membranes by chilling temperatures, *Russian J. Plant Physiol.*, 50, 243-246.
- Lynch, D.V. and Steponkus, P.L., 1987, Plasma membrane lipid alterations associated with cold acclimation of winter rye seedlings (*Secale cereale* L. cv Puma), *Plant Physiol.*, 83, 761-767.
- Lynch, D.V. and Thompson, G.A., 1982, Low temperature-induced alterations in the chloroplast and microsomal membrane of *Dunaliella salina*, *Plant Physiol.*, 69, 1369-1375.
- Mancuso, S., 2000, Electrical resistance changes during exposure to low temperature measure chilling and freezing tolerance in olive tree (*Olea europaea* L.) plants, *Plant Cell Environ.*, 23, 291-299.
- Marshall, J.G., Dumbroff, E.B., Thatcher, B.J., Martin, B., Rutledge, R.G. and Blumwald E., 1999, Synthesis and oxidative insolubilization of cell wall proteins during osmotic stress, *Planta*, 208, 401-408.
- Mahajan, S. and Tuteja, N., 2005, Cold, salinity and drought stresses, *Plant Mol.Bio.*, 444, 139-158.
- McCord, J.M. and Fridowich, I., 1969, Superoxide dismutase, An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein), *Journal of Biological Chemistry*, 244, 6049-6055.
- McKersie, D.B., 1996, Oxidative stress, Retrieved October 25, 2000 from the World Wide, <http://www.agronomy.psu.edu/Course/AGRO518/Oxygen.htm>.

- Mehler, A.H., 1951, Studies of reactions of illuminated chloroplasts.10. Mechanics of reduction of oxygen and other Hill reagents. Arch. Biochem. Biophys., 33, 65-77.
- Minorsky, P.V., 1989, Temperature sensing by plants: a review and hypothesis, Plant Cell Environ., 12, 119-135.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Golley, M. and Van Breusegem, F., 2004, The reactive oxygen gene network of plants; Trends Plant Sci., 9, 490-498p.
- Mittler, R., 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, Trend plant Sci. 7, 405-410.
- Morris, R. and Sears, E.R., 1967, The cytogenetics of wheat and its relatives. In wheat and wheat improvement, Edited by Quisenberry, K.S. and Reitz, L.P., American Society of Agronomy Monographs, Madison, Wisconsin, pp. 19-87.
- Moller, I.M., 2001, Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover and metabolism of reactive oxygen species, Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol., 52, 561-591.
- 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, 54-62p.
- Munnik, T. and Meijer, H.J.G., 2001, Osmotic stress activates distinct lipid and MAPK signalling pathways in plants, FEBS Lett, 498, 172-178.
- Murata, N. and Los, D.A., 1997, Membrane fluidity and temperature perception, Plant Physiol., 115: 875-879.
- Murelli, C., Rizza, F., Albin, F.M., Dulio, A., Terzi, V. and Cattivelli, L., 1995, Metabolic changes associated with cold-acclimation in contrasting cultivars of barley, Physiologia Plantarum, 94, 87-93.

- Neill, S., Desikan, R. and Hannock, J., 2002, Hydrogen peroxide signalling, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 5, 388-395p.
- Nesbitt M. and Samuel D., 1996, From staple crop to extinction? The archaeology and history of the hulled wheats" in *Hulled Wheats: Proceedings of the First International Workshop on Hulled Wheats 21-22 Temmuz 1995*, Pascoli, S. Padulosi, K. Hammer, ve Heller J. (eds.), IPGRI, Roma , İtalya, pp. 41-100.
- Noctor, G. and Foyer, C.H., 1998, Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249-279.
- Noctor, G., Arisi, A.C.M., Jouanin, L., Kunert, K.J., Rennenberg, H. and Foyer, C.H., 1998, Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants, *Journal of Experimental Botany* 49, 623-647.
- Nomura, M., Muramoto, Y., Yasuda, S., Takabe, T. and Kishitani, S., 1995, The accumulation of glycinebetaine during cold acclimation in early and late cultivars of barley, *Euphytica*, 83, 247-250.
- Okuda, T., Matsuda, Y., Yamanaka, A. and Sagisaka, S., 1991, Abrupt increase in the level of hydrogen-peroxide in leaves of winter-wheat is caused by cold treatment, *Plant Physiol.*, 97, 1265-1267.
- Ort, D.R. and Baker, N.R., 1988, Consideration of photosynthetic efficiency at low light as a major determinant of crop photosynthetic performance, *Plant Physiol. Biochem.* 26, 555-565.
- Örvar, B.L., Sangwan, V., Orman, F. and Dhindsa, R.S., 2000, Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity. *Plant J.*, 23, 785-794.
- Özgen, M., 1984, *Triticum x Aegilops* Melezleri, Sorunlar ve Çözüm Yolları, *Doğa Bilim Dergisi*, D2, 8, 1.

- Packer, L., Weber, S.U. and Rimbach, G., 2001, Molecular aspects of alfa-tocotrienol antioxidant action and cell signalling, *Journal of Nutrition*, 131, 369-373.
- Pastori, G.M. and Foyer, C.H., 2002, Common components, networks and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of 'redox' and abscisic acid-mediated controls, *Plant Physiol.*, 129, 7460-7468.
- Parody-Morreale, A., Murphy, K.P., Di Cera, E., Fall, R., DeVries, A.L. and Gill, S.J., 1988, Inhibition of bacterial ice nucleators by fish antifreeze glycoproteins, *Nature*, 333, 782-783.
- Pearce, R.S., 1999, molecular analysis of acclimation to cold, *Plant Growth Regulation*, 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.
- Polisenky D.H. and Braam, J., 1996, Cold-shock regulation of Arabidopsis TCH genes and the effects of modulating of intracellular calcium levels, *Plant Pyhsiol.*, 111, 1271-1279.
- Porter, J.R. and Gawith, M., 1999, Temperature and the growth and development of wheat: a review, *European Journal of Agronomy*, 10, 23-26.
- Prasil, I., and zamecnick, J., 1998, The use of conductivity measurement method for assessing freezing injury, *Enviromental and Experimental Botany*, 40, 1-10.
- Raison, J.K. and Orr, G.R., 1986, Phase transition in liposomes formed from polar lipids of mitochondria from chilling sensitive plants, *Plant Physiol.*, 81, 807-811.
- Rao, V.M., Hale, B.A. and Omrod, D.P., 1995, Amelioation of ozone induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide, *Plant Physiol.*, 109, 421-432.

- Raskina, O., Belyayev, A. and Nevo, E., 2004, Quantum speciation in *Aegilops*: Molecular cytogenetic evidence from rDNA cluster variability in natural population, *PNAS*, 101 (41), 14818-14823.
- Ramanjulu, S. and Bartels, D., 2002, Drought and desiccation-induced modulation of gene expression in plants, *Plant Cell Environ.* 25, 141-151.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G., 1997, Antioxidant properties of phenolic compounds, *Trends in Plant Sci.* 2, 152-159.
- Sanchez-Fenandez, R., Fricjer, M., Corben, L.B., White, N.S., Sheard, N., Leaver, C.J., Van Montagu, M., Inze, D. and May, M.J., 1997, Cell proliferation and hair tip growth in the *Arabidopsis* root are under mechanistically different forms of redox control, *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*, 94, 2745-50.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. and Shucla, D.S., 1997, Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat, *J. Agronomy and Crop Sci.*, 178, 171-178.
- Scandalios, J.G., 2001, Molecular response to oxidative stress. Molecular analysis of plant adaptation to the environment. Hawkesford, M.J. and Buchner, P., (eds.), 181-208.
- Sharkey, T.D., Berry, J.A., Sage, R.F., 1988, regulation of photosynthetic electron transport in *Phaseolus vulgaris* L. as determined by room temperature chlorophyll a fluorescence, *Planta*, 176, 415-424.
- Shulaev, V. and Oliver, D.J., 2006, Metabolic and proteomic markers for oxidative stress, *New tools for reactive oxygen species research*, *Plant Physiol.*, 141, 367-372p.
- Seeher, J., 2001, "Hattuşa Kazı Sonuçları" T.C. Kültür Bakanlığı, Anıtlar ve Müzeler Genel Müdürlüğü 22. Kazı Sonuçları Toplantısı (22-26 Mayıs 2000, İzmir) Bildirileri Ankara,. 303-314s.
- Semenza, G.L., 1999, Perspectives on oxygen sensing, *Cell*, 98, 281-284.

- Smirnoff, N., 1995, Antioxidant systems and plant response to the environment, In: Smirnoff, N., ed. Environment and plant metabolism: Flexibility and acclimation, Oxford: BIOS Scientific Publishers, 217-243.
- Smirnoff, N., 1996, The function and metabolism of ascorbic acid in plants, *Annals of Botany*, 78, 661-669.
- Smirnoff, N., 2000, Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule, *Current Opinion in Plant Biology*, 3, 229-235.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S., 2001, Changes in the antioxidant enzyme efficiency in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl toxicity, *Plant Sci.*, 161, 613-619.
- Stefanowska, M., Kuras, M., Kubacka-Zebalska, M. and Kacperska, A., 1999, Low temperature affects pattern of leaf growth and structure of cell walls in winter oilseed rape (*Brassica napus* L., var. *oliefera* L.), *Ann Bot.*, 84, 313-319.
- Steponkus, P.L., Uemura, M. and Webb, M.S., 1993, A contrast of the cryostability of the plasma membrane of winter rye and spring oat-two species that widely differ in their freezing tolerance and plasma membrane lipid composition, *Advanced in Low-Temperature Biology*. P.L. Steponkus (ed.), JAI Pres, London, 2, 211-312.
- Sung, D-Y., Kaplan, F., Lee, K-J. and Guy, C.L., 2003, Acquired tolerance to temperature extremes, *Trends Plant Sci.*, 8, 179-187.
- Surpin, M., Larkin, R.M. and Chory, J., 2002, Signal transduction between the chloroplast and the nucleus, *Plant Cell*, 14, 327-338.
- Sysoeva, M.I, Markovskaya, E.F., Khakina, T.G. and Sherudilo, E.G., 1999, Temperature drop, dry matter accumulation and cold resistance of young cucumber plants, *Plant Growth Regulation*, 28, 89-94 (6).
- Taiz, L. and Zeiger, E., 1998, *Plant Physiology*, Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, 792p.

- Tao, D.L., Oquist, G. and Wingsle, G., 1998, Active oxygen scavengers during cold acclimation of Scots pine seedling in relation to freezing tolerance, *Cryobiology*, 37, 38-45.
- Terzioğlu, S. and Ekmekçi, Y., 1997, Behaviour of growth in some spring, alternative and winter wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under low temperature conditions, *Tr. J. of Botany*, 21, 73-79.
- Tiwari, B.S., Belenghi, B. and Levine, A., 2002, Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition and programmed cell death, *Plant Physiol.*, 128, 1271-1281.
- Thomas, C.E., McLean, L.R., Parker, R.A. and Ohlweiler, D.F., 1992, Ascorbate and phenolic antioxidant interactions in prevention of liposomal oxidation, *Lipids*, 27, 543-550.
- Turrens, J. F., 2003, Mitochondrial formation of reactive oxygen species, *J. Physiol.*, 552, 335-344.
- Vacca, R.A., de Pinto, M.C., Valenti, D., Passarella, S., Marra, E. and De Gara, L., 2004, production of reactive oxygen species, alteration of cytosolic ascorbate peroxidases and impairment of mitochondrial metabolism are early events in heat shock-induced programmed cell death in tobacco Bright-Yellow 2 cells, *Plant Physiol.*, 134, 1100-1112.
- Van-Slageren, M.W., 1994, "Wild Wheats: A monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub. & Spach) Eig (Poaceae)" Veenman Drukkers, Wageningen, Hollanda.
- Wang, C., Zien, C.A., Afithile, M., Welti, R., Hildebrand, D.F. and Wang, X., 2000, Involvement of phospholipase D in wound-induced accumulation of jasmonic acid in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 12, 2237-2246.
- Wang, X., 1999, The role of phospholipase D in signaling cascades, *Plant Physiol.*, 120, 645-651.

- Wang, S.Y., Jiao, H. and Faust, M., 1991, Changes in ascorbate, Glutathione and related enzyme activity, during thidiazuron-induced bud break of apple, *Plant Physiol.*, 82, 231-236.
- Williams, J.P., Kahn., M.U., Mitchell, K. and Johnson, G., 1988, The effect of temperature on the level and biosynthesis of unsaturated fatty acid in diacylglycerols of *Brassica napus* leaves, *Plant Physiol.*, 87, 904-910.
- Willikens, H., Inze, D., Van Montagu, M. and Van Camp, W., 1995, Catalase in plants, *Molecular Breeding*, 1, 207-228.
- Wingate, V.P.M., Lawton, M.A. and Lamb, C.J., 1988, Glutathione causes a massive and selective induction of plant defence genes, *Plant Physiology*, 87, 206-210.
- Wingsle, G., Karpinski, S. and Hallgren, J.E., 1999, Low temperature, high light stress and antioxidant defence mechanisms in higher plants, *Phyton (Austria) Special Issue: " Eurosilva" 39*, 253-68.
- Winston, G.W., 1990, Free radicals in cells. In stress responses in plants: Adaptation and acclimation mechanisms, Willy-Liss Inc., 57-86p.
- Wise, R.R. and Noylar, A.W., 1987 Chilling-enhanced photo-oxidation evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants, *Plant Physiol.*, 83, 278-282.
- Xiong, L., Schumaker, K.S. and Zhu, J.K., 2002, Cell signaling during cold, drought and salt stress, *Plant Cell*, 14, 165-183.
- Xiong, L., and Zhu, J.K., 2002, Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress, *Plant Cell Environ.*, 25, 131-139.
- Xin, Z. and Browse, J., 2000, Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures, *Plant, Cell, Environ.*, 23, 893-902.
- Uemura, M. and Steponkus, P.L., 1994, A contrast of plasma membrane lipid composition of oat and rye leaves in relation to freezing tolerance, *Plant Physiology*, 104, 479-496.

- Urrutia, M.E., Duman, J.C. and Knight, C.A., 1992, Plant thermal hysteresis proteins, *Biochim. Biophys. Acta*, 1121, 199-206.
- Yoshida, S., Hotsuba, K., Kawamura, Y., Murai, M. and Arakawa, K., 1999, Alternations in intercellular pH in response to low temperature stres. *J. Plant Res.*, 122, 225-236.
- Yurtsever, N., 1984, Deneysel İstatistik Metotlar; Tarım, Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları, Genel Yayın No: 121, Teknik Yayın No: 56, 623s.
- Zamecnik, J. and Janacek, J., 1992, Interaction of freeze proteins from cold-hardened cereal seedlings with ice nucleation active bacteria, *Cryobiology*, 29: 718-719.
- Zhu, J.K., 2002, Salt and drought stress signal transduction in plants, *Annu Rev Plant Biol* 53, 247-273.

EK 1.

KULLANILAN KİMYASALLAR VE FORMÜLLERİ LİSTESİ

- Bovin Serum Albumin (BSA)
Coomasie Brilliant Blue G-250 ($C_{47}H_8N_3O_7S_2Na$)
Etanol (C_2H_5OH)
Fosforik asit (H_3PO_4)
Polivinilpirolidon (PVP)
Potasyum fosfat ($K-PO_4$)
Sodyum etilendaimin tetraasetik asit (Na_2EDTA)
Askorbat
L-Metiyonin ($C_5H_{11}NO_2S$)
Triton X-100 [$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$]
Nitroblue tetrazolyum (NBT)
Riboflavin
Okside glutatyon (GSSG)
İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)
Guaikol
Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Tris hidroklorit (Tris-HCl)
Süperoksit dismutaz [SOD (siğır eritrositinden)]

EK 2.**HEWITT BESİN ÇÖZELTİSİ REÇETESİ**

Tuzlar	Ağırlık (400 ml stok çözelti için)	Konsantrasyon Molar (M)	Seyreltme
KNO_3	80.000	2.000	500 (defa)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	188.80	2.000	500 (defa)
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	73.600	0.750	500 (defa)
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	41.600	0.670	500 (defa)
$\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	13.400	0.100	1000 (defa)
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.920	0.100	10.000 (defa)
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.160	0.010	10.000 (defa)
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.05	0.001	10.000 (defa)
H_3BO_3	7.440	0.500	10.000 (defa)
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.484	0.005	10.000 (defa)
NaCl	23.400	1.000	10.000 (defa)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Seher POLAT

Doğum Yeri : Kayseri

Doğum Yılı : 1983

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : 1996-1999 Akkışla Lisesi- Kayseri

Lisans : 1999-2003 Erciyes Üniversitesi Biyoloji Bölümü- Kayseri

Yabancı Dil : İngilizce

Bilimsel Faaliyetler

Lisans bitirme tezi- İnsan, Bitki ve Bakterilerde DNA izolasyonu. Danışman: Dr. Ertuğrul YÜZBAŞIOĞLU

Staj: Erciyes Üniversite Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı. Erciyes Üniversite Hastanesi/ KAYSERİ Temmuz - Ağustos, 2002.

Erasmus Öğrenci Değişim Programı kapsamında Groningen Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Bitki Moleküler Biyolojisi laboratuvarında '*Arabidopsis*'de Homolog Recombinasyon ve Gen Hedefleme' konulu projede aktif olarak çalıştım. Groningen Üniversitesi/ HOLLANDA, 01.09.2005 - 07.03.2006.

