

# Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar

## Molecular responses of plants to stress conditions

İlker BÜYÜK<sup>1</sup>, Semra SOYDAM-AYDIN<sup>2</sup>, Sümer ARAS<sup>1</sup>

### ÖZET

Bitkiler sesil doğaları gereği yaşam döngüleri boyunca büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyecek birçok stres faktörü ile karşılaşır. Biyotik ve abiyotik kökenli olabilen bu stres faktörleri bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal zararlar oluşturarak, ürün nicelik ve niteliğini olumsuz yönde etkileyebilir. Bitkiler bu olumsuz etkileri azaltmak veya engellemek amacıyla moleküler savunma mekanizmalarına sahiptirler. Bu cevap mekanizmaları makromoleküllerin ve iyonların homeostasisi, koruyucu moleküllerin sentezi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve detoksifikasyon olmak üzere üç grupta toplanabilir. Makromoleküllerin ve iyonların homeostasisi bitkilerin dehidrasyona karşı olan temel cevap mekanizmalarından birisidir. Ayrıca, homeostazi; su iletimi ve iyon dengesinin kontrolünde rol oynayan aquaporinlerin ve iyon taşıma sistemlerin aktivasyonu ve inaktivasyonunu kapsar. Bitkilerde strese karşı verilen cevaplardan bir diğeri düşük moleküler ağırlıklı, çözünen maddeler veya ozmolitler, ısı şoku (Heatshock) ve LEA proteinleri (geç embriyogenez bağımlı) gibi koruyucu moleküllerin sentezine dayanmaktadır. Bu moleküller hücre içerisinde ozmotik ayarlayıcı ve ozmoprotektan olarak görev alırlar. Stres koşulları altında ROS sentezi ve detoksifikasyonundan sorumlu enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların oluşumu strese karşı verilen moleküler cevaplardan sonuncusudur. Günümüzde en popüler çalışma sahalarından biri haline gelmiş olan biyoteknolojide, bitkilerin stres

### ABSTRACT

Plants encounter many stress factors which affect their growth and development throughout their lifecycles because of their sessile nature. These stress conditions which can be originated by biotic and abiotic factors can adversely affect the quantity and quality of the product with leading to physiological and biochemical damage to crops. Plants have molecular response mechanisms for protecting and reducing negative effects of stress factors and these mechanisms can be divided in three groups, including homeostasis of ions and macromolecules, synthesis of protective molecules and formation and detoxification of reactive oxygen species (ROS). Homeostasis of macromolecules and ions is one of the response mechanisms of plants against dehydration and contains activation and inactivation of aquaporins and ion transport systems which play a role for controlling of water transmission and ion balance. The other stress response of plants is based on synthesis protective molecules such as low molecular weighted soluble substances or osmolites, heat shock (HSP) and LEA (late embryogenesis abundant proteins) proteins. These molecules are participate in cell as an osmotic regulator and osmoprotectan. The last molecular responses of plants is the generation of enzymatic and non-enzymatic antioxidants which are responsible for synthesis and detoxification of ROS under stress condition. Today, in biotechnology which has become one of the most popular research area, improving

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA

<sup>2</sup> Niğde Üniversitesi, Ulukışla Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, NİĞDE

İletişim / Corresponding Author : Sümer ARAS

Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA

Tel : +90 312 222 58 15

E-posta / E-mail : aras@science.ankara.edu.tr

Geliş Tarihi / Received : 26.07.2012

Kabul Tarihi / Accepted : 28.08.2012

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2012.40316

Büyük İ, Soydam-Aydın S, Aras S. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. Türk Hij Den Biyol Derg, 2012; 69(2): 97-110.

koşullarına karşı adaptasyonu ve dirençliliğinin artırılması öncelikle bitkilerde stres etkilerinin net anlaşılmasına bağlıdır. Bu açıdan stres molekülerine ilişkin kaynak ve çalışmaların artırılması faydalı olacaktır.

**Anahtar Sözcükler:** Stres, homeostasis, reaktif oksijen türleri (ROS), detoksifikasyon

the adaptation and resistance of plants against stress conditions is primarily depends on a clear understanding of the effects of stress in plants. In this respect, increasing the sources and studies of stress molecular biology would be useful.

**Key Words:** Stress, homeostasis, reactive oxygen species (ROS), detoxification

## GİRİŞ

Canlılar doğaları gereği dış çevre ile sürekli ilişki halindedirler. İçinde buldukları çevrede uygunsuz koşullar oluşması durumunda adaptasyon eksikliğine bağlı olarak stres koşullarına maruz kalırlar. Çevre şartlarının bir bitkinin normal büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyecek kadar değişmesi halinde bitkide meydana gelen duruma stres denir. Bir başka deyişle bitki üzerinde negatif etkileri olan dış faktörler olarak tanımlanır. Birçok durumda, stres bitkinin canlı kalabilmesi, ürün verebilmesi, biyokütle birikimi ve özümleme ile ilişki kurarak açıklanması gereken bir kavramdır.

Bitkiler yaşamları sürecinde birçok stres faktörü ile karşılaşmaktadırlar. Stres faktörleri Levitt'e göre biyotik ve fizikokimyasal olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (1). Biyotik faktörler; mikroorganizmaların (fungus, bakteri ve virüs) enfeksiyonu ve zararlı hayvanların saldırıları sonucu oluşan stres faktörleridir. Abiyotik faktörler ise su, sıcaklık, radyasyon, kimyasallar, manyetik ve elektriksel alanlar gibi çevre faktörleridir (2).

Sesil doğaları gereği stres etmeninden uzaklaşarak kaçınma gibi bir seçeneğe sahip olmayan bitkiler hayvanlardan farklı olarak strese direkt maruz kalırlar. Bu direkt etki büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkilerken bitki organlarının yaşantısını yitirmesine neden olmaktadır. 1982 yılında Boyer stres faktörlerinin ekin üretiminin %70 kadarını etkileyebileceğini öne

sürerken; 2007 yılındaki Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) raporuna göre dünyadaki karasal alanın sadece %3,5'i herhangi bir çevresel tehditten etkilenmemektedir (3, 4).

Stres etmenlerinin neden olduğu zarar; bitkinin türüne, tolerans ve adaptasyon kabiliyetine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (5-7). Yaşamları boyunca bitkilerin doğada birçok stres faktörü ile karşılaştıkları düşünüldüğünde stresle ilişkili mekanizmaların aydınlatılması ve toleranslı tür ve çeşitlerin geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu amaçla, gerçekleştirilen bu derleme çalışmasında bitkilerde stres koşullarında oluşan moleküler ve biyokimyasal olaylara değinilecek ve strese karşı verilen tepkiler açıklanmaya çalışılacaktır.

## STRES KOŞULLARINDA BİTKİLERİN VERDİĞİ CEVAPLAR

Halofitler (tuzcul), kserofitler (kurakçıl) veya cipsli (alçıtaşlı) topraklarda yetişenler gibi bazı bitkiler stres koşullarına doğal olarak adapte olabilmektedirler. Stres koşullarına maruz kalmalarına rağmen bu özelleşmiş bitkiler hayatta kalabilmekte ve buldukları çevrede yaşam döngülerini tamamlayabilmektedirler. Strese dayanıklılıkları dolayısıyla bu gibi bitki türlerinde ve stres toleransı düşük *Arabidopsis thaliana* (model organizma) gibi bitkilerde gerçekleştirilen araştırmalar sonucunda bitkilerde strese karşı

verilen fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevaplar aydınlatılmaya çalışılmıştır (8). Elde edilen veriler eşliğinde bitkilerde stres koşullarına karşı oluşan moleküler cevap mekanizmaları makromoleküllerin ve iyonların homeostasisi, koruyucu moleküllerin sentezi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve detoksifikasyon olmak üzere üç grupta toplanabilir.

### 1. Makromoleküllerin ve İyonların Homeostazisi:

Abiyotik çevresel faktörlerin çoğu (tuzluluk, kuraklık, yüksek ve düşük sıcaklıklar gibi) bir ozmotik bileşen içermekte, hücrel dehidrasyona yol açmakta ve iç dengeyi (homeostazi) bozmaktadır.

Bitkilerde tuz stresine maruz kalınması durumunda, potasyum ( $K^+$ ) ve sodyum ( $Na^+$ ) iyon dengesinin sağlanması oldukça önemlidir ve bu yüzden iyon taşınımının düzenlenmesi gerekmektedir. Tuzluluk ile beraberinde gelen  $Na^+$  stresi bitkilerde kök hücreleri tarafından  $K^+$  alımını engeller. Aynı zamanda  $Na^+$ 'un hücreye giriş yaparak aşırı seviyede birikmesiyle birlikte toksik etki gösterdiği bilinmektedir (9-11). Büyümede meydana gelen azalışı veya hücre ölümlerini engellemek amacıyla bitkiler aşırı  $Na^+$  iyonunu uzaklaştırmalı ya da vakuolde bölümlere ayırmalıdır. Hayvanların aksine, bitki hücrelerinde  $Na^+$ -ATPaz veya  $Na^+/K^+$ -ATPaz olmadığı için tüm iyon ve metabolitlerin taşınımı H-ATPazlar ve H-pyrofosfatazlar ile gerçekleştirilir. Stres koşulları altında bitkilerde birtakım düzenlemeler dahilinde H-ATPazlar ve H-pyrofosfatazlar aracılığı ile iyonların iletimine bağlı olarak homeostaz sağlanır (9).

Görüldüğü üzere bitkilerin dehidrasyona karşı olan temel cevap mekanizması su iletimi ve iyon dengesinin kontrolü ile su geçişinde rol oynayan hidrofilik transmembran kanallar olan aquaporinlerin ve iyon taşıma sistemlerinin aktivasyonunu/inaktivasyonunu kapsamaktadır (10-13).

### 2. Koruyucu Moleküllerin Sentezi:

Bitkilerde strese karşı verilen cevaplardan bir diğeri ise düşük moleküler ağırlıklı çözünen maddeler

veya ozmolitler (şekerler, polioller, prolin gibi aminoasitler), ısı şoku proteinleri (Heatshock) ve LEA proteinleri (geç embriyogenez bağımlı proteinler) gibi farklı özel proteinlere dayanmaktadır.

Koruyucu moleküllerden olan ozmolitler stres tarafından oluşturulan ROS'un temizlenmesinde görev yapan proteinlerdir. Ozmotik ayarlayıcı ve ozmoprotektan olarak rol oynarlar. Sitoplazmada suyun alıkonmasını sağlarlar ve sodyumun apoplast ve vakuollerde tutulmasını kolaylaştırarak hücrel yapıları korumaktadırlar (14).

Isı şoku proteinleri; protein katlanması, hücrel düzenlenmesi ve uygun olmayan proteinlerin hücrede birikiminin önlenmesi gibi birçok konuda işlevsel olmalarının yanı sıra farklı stres koşullarında da sentezlendiği bilinen moleküler şaperon gibi davranan yani proteinlerin katlanarak üç boyutlu hale gelmesi işleminde yer alan proteinlerdir (15). Hasarlanmış ve yanlış katlanmış polipeptitleri bağlama potansiyeline sahip olan ısı şoku proteinleri bu sayede bu polipeptitlerin yıkımını önleyerek potansiyel olarak hücreyi strese karşı korumada rol oynarlar (16).

Yapılmış olan bir çok çalışmada; tuzluluk stresi altındaki birçok bitkide toksik etkisi olmayan ancak koruyucu role sahip ozmotin olarak adlandırılan katyonik proteinlerin biriktiği gözlenmiştir. Toplam hücrel proteinin yaklaşık olarak %12'sini oluşturan bu proteinler PR-5 (patojen ilişkili grup 5) protein ailesine ait 24 kDa'luk stres ilişkili koruyucu proteinler olarak bilinmektedir. Ozmotin sentezinin absisik asit tarafından kontrol edildiği ve osmotoleransı sağladığı gösterilmiştir (17, 18).

İlk olarak tohum embriyolarında tanımlanmış LEA proteinlerinin de bitkilerde stres savunmasında koruyucu etkilere sahip olduğu düşünülmektedir (19). Stres altında LEA genleri tarafından ifade edilen hidrofilik LEA proteinleri suyu bağlama kapasiteleri dolayısıyla su eksikliği etkilerini azaltmada ve hücrel bütünlüğün korunmasında etkin rol oynamaktadırlar (20).

### 3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Detoksifikasyon:

ROS'lar bitkilerde endojen olarak kloroplastlardaki fotosentezreaksiyonlarında, plastit ve peroksisomlarda, mitokondrilerdeki sitrik asit döngüsünde NADPH oksidaz, hücre duvarı peroksidazları ve amino oksidazlar gibi enzimlerin etkisiyle oluşan en yoğun serbest radikallerdir (21, 22). Radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla ya da atom veya moleküle bir elektron ilavesiyle oluşurlar. Diğer moleküllere elektron verebildiklerinden ya da onlardan elektron alabildiklerinden dolayı organizmada indirgeyici veya yükseltgeyici olarak davranırlar (23, 24). Bitkinin normal gelişim sürecince de sentezlenirler ancak detoksifikasyon mekanizması ile aralarındaki denge sayesinde zararlı etki oluşturmazlar (1). Hücrelerde bilinen başlıca ROS'lar singlet oksijen ( $^1O_2$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ) olup normal koşullarda hücredeki düzeyleri sürekli denge halindedir (24).

a) **Singlet oksijen ( $^1O_2$ ):**  $^1O_2$ , elektron taşıma sisteminde görevli olan  $O_2$  molekülünün fazladan enerji alması sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi neticesi oluşabileceği gibi;  $^1O_2$  radikalinin nitrik oksit (NO) ile reaksiyonu ve  $H_2O_2$ 'nin hipoklorit ( $ClO^-$ ) ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir.

Birçok biyolojik molekül ile benzer kuantum durumuna sahip olduğundan kolaylıkla reaksiyona girebilir.  $OH^\cdot$  radikali gibi lipoksigenaz özellik gösterir (24, 25). Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Sistein, metionin, triptofan, tirozin ve histidin yapılarında bulunan çift bağlardan kaynaklanan yüksek elektron yoğunluğundan veya kükürt kısımlarından dolayı  $^1O_2$  ile oksidasyona uğramaları muhtemeldir (25).

b) **Süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ):** Kloroplastta, fotosistem I ve II'de elektron taşıma sisteminde görev alan moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron transferi

sonucu indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan  $O_2^-$  radikali oluşur. Moleküler oksijenin ferrodoksin ( $Fd_{red}$ ) aracılığı ile indirgenmesi ve süperoksit radikali oluşumu aşağıdaki tepkimeyle oluşur (26).



Hücre sel koşullarda üretilen süperoksit, oksitleyici veya indirgeyici olarak davranabilir. Aldığı elektronu metal iyonuna sitokrom-c'ye veya bir radikale vererek tekrar oksijene oksitlenir. Oksijenden daha oksitleyici olan süperoksit bir elektron daha alır ve peroksit anyonuna indirgenir.

Aerobik canlılarda  $O_2^-$ 'lerin  $H_2O_2$ 'e çevrilmesi katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenir. Aynı zamanda süperoksit, hafif asidik koşullarda SOD olmadan kendiliğinden dismutasyonla  $H_2O_2$ 'e çevrilebilir (27).

SOD enziminin yüksek katalitik etkisi nedeniyle hücrelerde  $O_2^-$  birikimine izin verilmez. Ancak, çeşitli patolojik durumlarda süperoksit yapımının artmasıyla süperoksitde özgü tepkimeler görülmeye başlar. Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı olduğu proteinlerden salınımına neden olur. Kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar ve metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır (27).

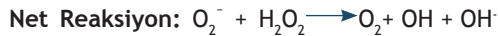
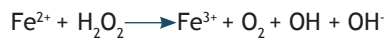
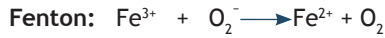
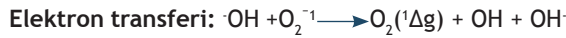
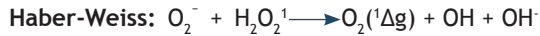
c) **Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ):** Hidrojen peroksit, aerobik canlılarda süperoksitlerin katalitik aktivitesi çok yüksek bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) tarafından katalizlenmesi ile oluşur. Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin katalizi ile hidrojen peroksit oluşumu aşağıdaki şekilde gerçekleşir (28).



Hidrojen peroksidin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, demir, bakır gibi metal iyonlarının varlığında  $OH^\cdot$  radikalinin öncülü olarak

davranmasıdır.  $H_2O_2$  özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan  $H_2O_2$ 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılması gerekir (28).

**d) Hidroksil radikal (OH $\cdot$ ):** Hidroksil radikal (OH $\cdot$ ) hücredeki en reaktif oksidantlardan biridir. OH $\cdot$ , hücrelerin eliminasyonunda kullanılabilecekleri bir enzim sistemi olmadığından kolayca tüm biyolojik moleküller ile reaksiyona girebilir ve fazla miktarda üretildiğinde ise hücrelerin ölümüne sebep olur. Nispeten daha az zararlı olan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve  $O_2^{\cdot -}$  anyonunun metal iyonları varlığında Haber-Weiss ( $Cu^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ) veya fenton ( $Fe^{2+}$  ve diğer geçiş metalleri; Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) reaksiyonu ile oluşur. Hidroksil radikali oluşum reaksiyonlarındaki reaksiyonlar aşağıda gösterildiği gibi gerçekleşir (29-31).



Çevresel strese karşı toleransı da kapsayan birçok hücresel süreçte ROS'lar ikincil haberciler olarak da rol oynamaktadırlar. Bitkilerde özellikle kuraklık, tuzluluk, soğuk, metal toksisitesi ve UV radyasyonu gibi abiyotik stres faktörleri altında ROS'ların üretimi artmaktadır. Hücresel ROS konsantrasyonunun artması durumunda antioksidan savunma sistemleri ve ROS üretimi arasındaki denge bozulmakta ve zincirleme reaksiyonlar şeklinde organizmada ROS artışı sonucu bitkiler oksidatif strese girmektedir. Stres altında ROS üretiminin artışı lipidlerin peroksidasyonuna, proteinlerin oksidasyonuna, nükleik asit hasarına, enzim inhibisyonuna, programlı hücre ölümü (apoptozis) aktivasyonuna ve hücrelerin ölümüne kadar birçok hasara yol açabilir (31-36).

Bitkilerde stresin öncelikli etkilerinden biri olarak gösterilen lipid peroksidasyonun son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) analizleriyle stresin öncelikli hedefi olan membranlardaki etkileri yansıtılmaktadır (37). Günümüze dek gerçekleştirilmiş olan çalışmalarda stresle birlikte *Lycopersicon esculentum* L'da (domates) (38, 39-41), *Triticum aestivum* L'da (buğday) (42), *Hordeum vulgare* L'de (arpa) (43), *Brassica nigra* (L.) W.D.J.Koch'da (hardal) (44, 45) ve daha birçok bitkide MDA düzeyinin yani lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir.

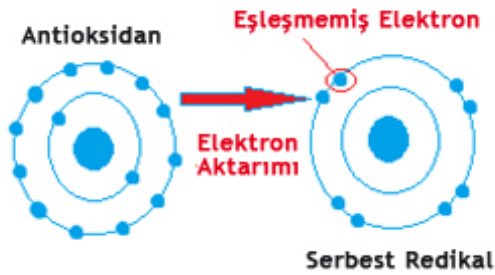
ROS'lar oluşturdukları membran hasarlarının yanı sıra DNA, protein ve lipidlerle olan etkileşimi ve bu yolla hücrelerde meydana getirdikleri hasar bakımından farklılık göstermektedirler. ROS'ların bu makromoleküller ile etkileşimleri Tablo 1'de özetlenmiştir (46-51).

**Tablo 1.** Reaktif oksijen türlerinin DNA, protein ve lipidlerle etkileşimleri

| Reaktif Oksijen Türleri (ROS)        | Etkileşim                 |                             |                             | Referanslar |
|--------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|
|                                      | DNA                       | Protein                     | Lipit                       |             |
| Hidroksil radikal (OH $\cdot$ )      | Evet (Guanin, 5' C şeker) | Hızlıca                     | Hızlıca                     | 46, 47      |
| Singlet oksijen ( $^1O_2$ )          | Evet (Guanin)             | Trp, His, Tyr, Met, Cys     | Çoklu doymamış yağ asitleri | 46, 48      |
| Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )       | Var                       | Evet                        | Güçlülükle (Sistein)        | 49, 50      |
| Süperoksit anyon ( $O_2^{\cdot -}$ ) | Yok                       | Evet (Demir-sülfür merkezi) | Güçlülükle                  | 49, 51      |

## ANTIOKSİDAN SİSTEMLER

Bitkiler oksidatif stres altında yaşamlarını devam ettirebilmek ve stresle başa çıkabilmek için ROS'un kontrolü ve detoksifikasyonunu sağlayan çeşitli antioksidanlara sahiptirler. Antioksidanlar düşük konsantrasyonlar da oksidasyon yapabilen ve diğer bir substratın oksidasyonunu azaltan (elektron aktarımıyla) veya engelleyen yani oksidasyona karşı mücadele eden maddelerdir (Şekil 1).



Şekil 1. Antioksidan tarafından serbest radikalın nötralize edilmesi

Antioksidanlar, enzimatik olmayan antioksidanlar ve enzimatik antioksidanlar olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Enzimatik olmayanlar, askorbik asit (AA), tokoferoller (vitamin E), karotenoidler, glutatyon ve fenolik bileşiklerdir. Enzimatik antioksidanlar ise süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon peroksidaz (GPX) ve katalaz (CAT) olarak bilinmektedir. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar hücredeki lokalizasyonlarına ve rollerine göre farklılık göstermektedirler (Tablo 2) (52).

### 1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

a) **Askorbik asit (vitamin C):** Askorbik asit bitkilerde ROS'a bağlı olarak meydana gelen hasarın etkilerini en aza indirmede ve önlemede rol oynayan hücrelerdeki en güçlü ve en bol antioksidandır (53, 54). Bitkilerde özellikle fotosentetik hücrelerde ve meristemlerde fazla miktarda bulunurken, normal fizyolojik koşullar altında yaprak ve kloroplastlarda düşük seviyededir. Ancak stres koşullarına maruz kalan bitki hücrelerinde

Tablo 2. Bitkilerde enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidanların lokalizasyonları ve rolleri

| Enzimatik Olmayan Antioksidanlar | Rolü  | Hüresel Lokasyonu  |
|----------------------------------|---|--|
| Askorbik Asit                    | Direk olarak $O_2^{* -}$ , $OH^*$ ve $H_2O_2$ 'yu temizler.   | Kloroplast, apoplast, vakuol, sitozol  |
| Tokoferoller                     | Lipit peroksidasyonunu kırar. Lipit peroksitlerini $O_2^{* -}$ ve $OH^*$ 'i temizler.   | Bitkilerin tüm kısımlarında bulunur. Kloroplast membranlarında tokoferol yoğun olarak bulunur. |
| Karotenoidler                    | Peroksi radikalleri ile $O_2^{* -}$ ve $OH^*$ 'i temizler.  | Sitozol, vakuol  |
| Glutatyon                        | Redoks döngüsünün bir substratı olarak, $OH^*$ ile $^1O_2$ 'nin direk temizlenmesinde yararlıdır.   | Sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri   |
| Fenolik Bileşikler               | Antioksidan özelliklerini iyi birer hidrojen veya elektron vericisi olmaları, zincir kırıcı özellikleri ve geçiş metalleri ile şelat oluşturmaları ile gösterirler. | Sitozol, vakuol  |
| Süperoksit Dismutaz (SOD)        | $O_2^{* -}$ 'i $H_2O_2$ 'ye dönüştürür.   | Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksisom  |
| Askorbat Peroksidaz (APX)        | $H_2O_2$ 'yi $H_2O$ 'ya çevirir.  | Kloroplast, sitozol, mitokondri, peroksisom  |
| Katalaz (CAT)                    | $H_2O_2$ 'yi $H_2O$ 'ya çevirir.  | Peroksisom   |
| Glutatyon Peroksidaz (GPX)       | $H_2O_2$ 'yi ve lipit peroksitlerini etkisizleştirir.   | Kloroplast, sitozol, mitokondri, endoplazmik retikulum   |

konsantrasyonu artar ve  $O_2^-$  ve  $OH^-$ 'in direkt temizlenmesinde rol oynayarak, oksidatif strese karşı tolerans sağlamada görev alır. *Cucumis sativus* L. (salatalık), *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (turp), *Pisum sativum* (L.) (bezelye), *Nicotiana tabacum* L. (tütün), *Populus nigra* L. (kavak), *Hordeum vulgare* (arpa), *Picea asperata* Mast. (dragon ladini) *Soja max* Piper (soya) ve daha pek çok bitkide değişik biyotik ve abiyotik koşullar altında gerçekleştirilen enzim ve gen ifadesi analizleri sonucunda askorbik asit ile ilişkili gen ifade seviyelerinin artış gösterdiği ve bu artışların strese karşı savunma cevabı olarak verildiği saptanmıştır (55-62).

**b) Tokoferoller (vitamin E):** Lipid radikallerinin ve ROS'ların temizlenmesinde rol oynadığı bilinen tokoferoller biyolojik membranlarda özellikle kloroplastların tilakoid membranlarında yoğun olarak bulunmaktadır. Bitkilerde bulunan dört izomeri arasında ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - ve  $\delta$ -) yer alan  $\alpha$  tokoferoller; moleküler yapılarında üç metil grubu içermelerine sebebiyle en yüksek antioksidatif aktiviteye sahip olanıdır (63, 64).  $\alpha$  tokoferoller kloroplastlarda  $\gamma$ -tokoferolmetiltransferaz enzimi aracılığıyla  $\gamma$ -tokoferol'den sentezlenmektedirler.  $O_2^-$  gibi ROS çeşitlerine karşı membran kararlılığının korunmasında kritik öneme sahiptirler.

Günümüze dek yapılmış olan çalışmalarda, oksidatif stresin bitkilerde tokoferol sentezinden sorumlu olan genlerin ifade seviyelerini arttırdığı görülmüştür (51, 52). *L. esculentum* (domates), *Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana tabacum* (tütün) gibi birçok bitkide çeşitli stres koşulları altında yapılan denemelerde,  $\alpha$  tokoferol artışının bitki dokularının oksidatif strese karşı savunulmasında önemli rolü olduğu gözlenmiştir (65-68).

**c) Karotenoidler:** Karotenoidler doğada 600'ün üzerinde çeşidi olan bitki ve mikroorganizmalarda bulunan pigmentlerdir. Bitki metabolizmasında oksidatif stres toleransını da içeren birçok rolü olan bu antioksidanların *Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn. (amla), *Vigna mungo* (L.) Hepper (siyah

mercimek), *Hordeum vulgare* (arpa) gibi birçok bitkide ağır metal stresi altında seviyelerinin arttığı belirlenmiş ve artışların stres savunmasındaki etkinliklerine bağlı olduğu ileri sürülmüştür (69-73).

**d) Glutasyon:** Glutasyon bitkilerde oksidatif strese karşı rolü olan en önemli metabolitlerden birisidir. Bitki dokularında sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri, kloroplast, peroksizom gibi neredeyse bütün hücre kısımlarında buldukları gözlenmiştir (74, 75). Normal koşullar altında sülfat taşınımının düzenlenmesi, sinyal iletimi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve stresle ilişkili genlerin ekspresyonu gibi birçok fizyolojik süreçte rol oynamaktadırlar. Aynı zamanda yapılan araştırmalara göre glutasyon bitkilerde hücre farklılaşması, hücre ölümü, patojen direnci ve enzimatik düzenleme gibi birçok büyüme ve gelişme ile ilgili olayda da merkezi bir role sahiptir (76).

**e) Fenolik bileşikler:** Fenoller basit fenol iskeletinin yapısıyla ilişkili olan karbon atomu sayılarına göre farklı gruplara (fenolik asitler ve flavonoidler) ayrılmaktadırlar. Bitkilerdeki en önemli ikincil metabolit gruplarından biri olan fenolik bileşikler antioksidan fonksiyona sahiptirler. Yapılan çalışmalarda; farklı çevresel faktörler ve stres koşulları altında fenilpropanoid metabolizmasında ve fenolik bileşik miktarlarında artış meydana geldiği gözlenmiştir (77-81). Flavonoidlerden biri olan izoflavonların ve diğer bazı flavonoidlerin sentezinin bitki enfekte olduğunda, yaralandığında, düşük sıcaklıklar altında ve düşük besin koşullarında artış gösterdiği belirlenmiştir (81, 82). Aynı zamanda UV-B etkisinden korunmak amacıyla bitkilerin UV-absorbe eden flavonoidleri epidermal hücrelerin vakuollerinde biriktirdikleri de bilinmektedir (83, 84).

## 2. Enzimatik Antioksidanlar

**a) Süperoksit dismutaz (SOD):** SOD'lar olağanüstü katalitik etkinlikte çalışan metalloproteinlerdir (85).

$O_2^-$ 'i  $H_2O_2$ 'e dönüştürme rolü olan SOD'ların aktif merkezlerinde yer alan metal iyonlarına göre üç izoenzimi vardır. Bunlar bakır ve çinko içeren Cu/Zn SOD, mangan içeren Mn SOD ve demir içeren Fe SOD'lardır (86-88). Yapılan çalışmalarda; SOD'ların ifadesindeki artışların biyotik ve abiyotik strese bağlı oluşan oksidatif strese başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları altında canlılığı sürdürmesine katkı sağlamada önemli rolleri olduğu ileri sürülmüştür. *Morus alba* L. (dut), *Cicer arietinum* L. (nohut) ve *L. esculentum* (domates) gibi birçok bitkide çeşitli stres koşulları altında gerçekleştirilen çalışmalarda SOD aktivitesinde artışlar meydana geldiği gözlenmiştir (89-91). SOD enzimi kodlayan genlerin gerçek zamanlı kantitatif PCR tekniği kullanılarak ifade seviyelerinin incelendiği çalışmalarda ise çeşitli stres koşulları ve bitki türlerine bağlı olarak gen ifadesinin değişiklik gösterdiği bu ifade değişikliklerinin stres savunmasında rolü olduğu gösterilmiştir (92, 93).

**b) Askorbat peroksidaz (APX):** Yüksek bitkiler, algler, kamçılılar gibi birçok organizmada ROS'a karşı gerçekleştirilen savunmada önemli role sahip olduğu düşünülen enzimatik antioksidanlardır. tAPX, gmAPX, sAPX, cAPX gibi en az beş farklı izoformdan oluşan APX ailesi  $H_2O_2$ 'ye karşı CAT'ye kıyasla daha yüksek bir affiniteye sahiptir. Yapılmış olan çalışmalarda *Ceratophyllum demersum* L. (tilki kuyruğu), *Brassica juncea* L. Czern. (hardal), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Vigna mungo* L. (siyah mercimek) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) gibi birçok organizmada stres koşulları altında APX enzim aktivitesinde ve gen ekspresyonunda artışlar olduğu gözlenmiş ve bu artışların stres savunmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (84, 94-99).

**c) Katalaz (CAT):** CAT; stres koşulları altında oluşan zararlı  $H_2O_2$ 'in  $H_2O$  ve  $O_2$ 'ya direkt olarak dönüşümünü sağlayarak hücreleri strese karşı korumada görevli en önemli enzimatik antioksidanlardan biridir. Yüksek bitkilerde tanımlanmış çok sayıda katalaz izozimi; *Hordeum vulgare*'de (arpa), *Helianthus annuus* L.'ta

(ayçiçeği), *Brassica oleracea* L. 'da (karnabahar) ve *Zea mays* L.'da (mısır) çalışılmıştır ve elde edilen veriler neticesinde enzimin farklı stres koşulları ve farklı bitkilerde değişik düzeylerde koruma sağladığı gözlenmiştir (100-103). Farklı katalaz izozimlerini kodlayan genlerin stres altındaki davranışlarını incelemek amacıyla gerçekleştirilmiş olan gerçek zamanlı kantitatif PCR çalışmaları sonucunda *L. esculentum* (domates), *Hordeum vulgare* (buğday), *Corylus maxima* Mill. (fındık), *Pinus nigra* J.F.Arnold (çam) ve daha birçok bitkide bu enzimi kodlayan genlerin stresle ilişkili olarak ifade düzeylerinin de arttığı gözlenmiştir (93, 104-107).

**d) Glutasyon peroksidaz (GPX):** GPX'ler glutasyonu  $H_2O_2$ , organik ve lipit hidroperoksitlerin miktarını azaltmada kullanan çeşitli izozimleri olan geniş bir ailedir ve oksidatif strese karşı bitkileri korumada görevlidirler. Millar (108) tarafından *Arabidopsis* bitkisinin sitozolünde, kloroplast'nda, mitokondride'sin endoplazmik retikulumda tanımlanmış yedi proteinden oluşan AtGPX1-AtGPX7 olarak adlandırılan bir GPX ailesi belirlenmiştir (84, 85, 109). *Capsicum annum* L. (biber), *Pisum sativum* (bezelye) ve *L. esculentum* (domates) başta olmak üzere pek çok bitkide stres koşulları altında GPX'in koruyucu bir rolü olduğu bulunmuştur (109, 110).

## SONUÇ

Genel olarak bitkiler yaşamları boyunca tuzluluk, kuraklık, kirlilik, sıcak, soğuk gibi benzer birçok faktörle karşılaşır ve normal büyümeleri, gelişimleri olumsuz yönde etkilenir. Bitkilerde bu koşullarda meydana gelen değişiklikler stres olarak tanımlanır. Nüfus yoğunluğunun gittikçe artması ve ekilebilir alanların azalması sebebiyle gelecekte besin sıkıntılarının yaşanabileceği dünyamızda strese bağlı ürün kayıplarının azaltılması oldukça önem kazanmıştır. Bu amaçla gelişen teknolojik gelişmeler ışığında; özellikle stres faktörlerine dayanıklı bitki



türlerdeki savunma mekanizmalarının anlaşılması, ürün kayıplarının en aza indirilmesinde oldukça önemli bir adım olacaktır. Bu kapsamda şimdiye dek gerçekleştirilmiş olan bitkilerin strese karşı olan moleküler cevaplarının değerlendirildiği çalışmalarda strese ilişkili olabilecek genler saptanmaya çalışılmış, ilişkili olabileceği düşünülen genlerin farklı bitki ve

stres koşulları altındaki ifade düzeyleri incelenmiştir (111-117). Stresle ilişkili hedef genlerin ve strese karşı davranışlarının belirlenmesini takiben gen aktarımı veya gen susturma gibi özel moleküler metodlar aracılığıyla strese karşı dirençli biyoteknolojik ürün geliştirme yolunda çalışmalar sürdürülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Levitt J. Responses of plants to environmental Stresses. New York, London: Academic Press, 1972: 697.
2. Lichtenhaler HK. Vegetation stress: An introduction to the stress concept in plants. J Plant Physiol, 1996; 148: 4-14.
3. Boyer JS. Plant productivity and environment. Science, 1982; 218: 443-8.
4. Velthuizen H, Huddleston B, Fischer G, Salvatore M, Ataman E, Nachtergaele FO, et al. Mapping biophysical factors that influence agricultural production and rural vulnerability. Environment and Natural Resources Series No. 11, Rome: FAO, 2007.
5. Madhova Rao KV, Raghavendra AS, Janardhan Reddy K. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. Netherlands: Springer, 2005: 345.
6. Dubey RS. Handbook of Plant and Crop Stress. New York: Marcel Dekker, 1994; 227.
7. Kadioğlu A. Bitki fizyolojisi. Trabzon: Lokman Yayın, 2004; 453.
8. Boscaiu M, Lull C, Lidon A, Bautista I, Donat P, Mayoral O, et al. Plant responses to abiotic stress in their natural habitats. Bulletin UASVM, Horticulture, 2008; 65 (1): 53-8.
9. Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK, Bohnert HJ. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 2000; 51: 463-99.
10. Munns R. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ, 2002; 25: 239-50.
11. Wang W, Vinocur B, Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta, 2003; 218: 1-14.
12. Vinocur B, Altman A. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. Curr Opin Biotech, 2005; 16: 123-32.
13. Zhu JK. Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*. Plant Physiol, 2000; 124: 941-8.
14. Smirnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. Phytochemistry, 1989; 28: 1057-60.
15. Henle KJ, Jethmalani SM, Nagle WA. Stress proteins and glycoproteins. Int Mol Med, 1999; (1): 25-32.
16. Chiba S, Yokota SI, Yonekuva K, Tanaka S, Furuyama H, Kubota H, et al. Auto antibodies against HSP70 family proteins were detected in the cerebro spinal fluid from patients with multiple sclerosis. J Neurol Sci, 2006; 241(1-2): 39-43.
17. Singh NK, Handa AK, Hasegawa PM, Bressan RA. Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. Plant Physiol, 1985; 79: 126-37.
18. Husaini AM, Abdin MZ. Overexpression of tobacco osmotin gene leads to salt stress tolerance in strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch.) plants. Indian J Biotechnol, 2008; 7: 465-71.
19. Holmberg N, Bülow L. Improving stress tolerance in plants by gene transfer. Trends Plant Sci, 1998; 3(2): 61-6.
20. Sairam RK, Tyagi A. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Curr Sci, 2004; 86: 407-21.
21. Van Breusegem F, Dat JF. Reactive oxygen species in plant cell death. Plant Physiol, 2006; 141: 384-90.

22. Van Camp W, Van Montagu M, Inze D. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and NO: Redox signals in disease resistance. *Trends Plant Sci*, 1998; 3: 330-4.
23. Flora SJ. Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cell Mol Biol*, 2007; 53: 1-2.
24. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press, 1998: 188-96.
25. Stadtman ER, Barlett BS. Free Radical-Mediated Modification of Proteins. In: Wallace KB, ed. *Free Radical Toxicology*. CRC Press Boca Raton, 1997: 71-87.
26. Mehlar AH. *Arch Biochem Biophys*, 1951; 33: 65-77.
27. Harbinson J, Hedley CL. Changes in P-700 oxidation during the early stages of the induction of photosynthesis. *Plant Physiol*, 1993; 103: 649-60.
28. Asada K, Kiso K, Yoshikawa K. Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplasts on illumination. *J Biol Chem*, 1974; 249 (7): 2175-81.
29. Haber F, Weiss J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc R Soc*, 1934; 147(A): 332-51.
30. Fenton HJH. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *J Chem Soc Trans*, 1894; 65: 899-911.
31. Smirnov N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol*, 1993; 125: 27-58.
32. McKersie BD, Leshem Y. *Stress and stress coping in cultivated plants*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1994.
33. Bray EA. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci*, 1997; 2: 48-54.
34. Farrant JM. A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. *Plant Ecol*, 2000; 151: 29-39.
35. Stuhlfauth T, Scheuermann R, Fock HP. Light energy dissipation under water stress conditions. *Plant Physiol*, 1990; 92: 1053-61.
36. Sgherry CLM, Pinzino C, Navari-Izzo F. Sunflower seedlings subjected to increasing water stress by water deficit: changes in O<sub>2</sub>-production related to the composition of thylakoid membranes. *Physiol Plant*, 1996; 96: 446-52.
37. Hodges DM, DeLong JM, Forney CF, Prange RK. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 1999; 207: 604-11.
38. Krupa Z, Baszynski T. Acyl lipid composition of thylakoid membranes of cadmium-treated tomato plants. *Acta Physiol Plantarum*, 1989; 11: 111-6.
39. Quariti O, Boussama N, Zarrouk M, Cherif A, Ghorbal MH. Cadmium- and copper-induced changes in tomato membrane lipids. *Phytochemistry*, 1997; 45: 1343-50.
40. Ben Ammar W, Nouairi I, Tray B, Zarrouk M, Jemal F, Ghorbal MH. Effets du cadmium sur l'accumulation ionique et les teneurs en lipides dans les feuilles de tomate (*Lycopersicon esculentum*). *J Soc Biol*, 2005; 199: 157-63.
41. Malik D, Sbeoran IS, Singh R. Carbon metabolism of cadmium treated wheat seedlings. *Plant Physiol Bioch*, 1992; 30(2): 223-9.
42. Vassilev A. Cadmium-induced changes in chloroplast lipids and photosystem activities in barley plants. *Biol Plantarum*, 2004; 48: 153-6.
43. Gaur A, Grupa SK. Lipid components of mustard seeds (*Brassica juncea* L.) as influenced by cadmium levels. *Plant Foods Hum Nutr*, 1994; 46: 93-102.
44. Nouairi I, Ben Ammar W, Ben Youssef N, Ben Miled Daoud D, Habib Ghorbal M, et al. Comparative study of cadmium effects on membrane lipid composition of *Brassica juncea* and *Brassica napus* leaves. *Plant Sci*, 2006; 170: 511-9.
45. Halliwell B, Gutteridge MC. *Free Radical and Other Reactive Species and Disease*. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press, 1999: 639-46.
46. Moller IM, Jensen PE, Hansson A. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2007; 58: 459-81.
47. DeFedericis HC, Patrzyc HB, Rajecki MJ, Budzinski EE, Lijima H, Dawidzik JB, et al. Singlet oxygen-induced DNA damage. *Radiat Res*, 2006; 165(4): 445-51.

48. Imlay JA. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide. *Annu Rev Biochem*, 2008; 77: 755-76.
49. Varnova E, Van Brcusegem F, Dat J, Belles-Bolx E, Inze D. The role of reactive oxygen species in signal transduction. In: Scheel D, Wasternack C. eds. Oxford University Press, 2002: 41-73.
50. Dat J, Vandenbeebe S, Vranova E, Van Montagu M, Inze D, Van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cell Mol Life Sci*, 2000; 57: 779-95.
51. Arora A, Sairam RK, Srivastava GC. Oxidative stress and antioxidative systems in plants. *Curr Sci*, 2002; 82: 1227-38.
52. Smirnoff N. Ascorbate, Tocopherol and Carotenoids: Metabolism, Pathway Engineering and Functions. In: Smirnoff N, ed. *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2005: 53-86.
53. Athar HR, Khan A, Ashraf M. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Env Exp Bot*, 2008; 63: 224-31.
54. Foyer CH, Souriau N, Perret S, Lelandais M, Kunert KJ, Pruvost C, et al. Overexpression of glutathione reductase but not glutathione synthetase leads to increases in antioxidant capacity and resistance to photoinhibition in poplar trees. *Plant Physiol*, 1995; 109: 1047-57.
55. Aono M, Kubo A, Saji H, Tanaka K, Kondo N. Enhanced tolerance to photooxidative stress of transgenic *Nicotiana tabacum* with high chlorolastic glutathione reductase activity. *Plant Cell Physiol*, 1993; 34: 129-35.
56. Demirevska-Kepova K, Simova-Stoilova L, Stoyanova ZP, Feller U. Cadmium stress in barley: growth, leaf pigment, and protein composition and detoxification of reactive oxygen species. *J Plant Nutr*, 2006; 29: 451-68.
57. Yang Y, Han C, Liu Q, Lin B, Wang J. Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. *Acta Physiol Plant*, 2008; 30: 433-40.
58. Skorzynska-Polit E, Drazkiewicz M, Krupa Z. The activity of the antioxidative system in cadmium-treated *Arabidopsis thaliana*. *Biol Plant*, 2003; 47: 71-8.
59. Zhang FQ, Shi WY, Jin ZX, Shen ZG. Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplast to cadmium toxicity. *J Plant Nutr*, 2003; 26: 1779-88.
60. Romero-Puertas MC, Corpas FJ, Rodriguez-Serrano M, Gomez M, del Rio LA, Sandalio LM. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. *J Plant Physiol*, 2007; 164: 1346-57.
61. Schützendubel A, Nikolova P, Rudolf C, Polle A. Cadmium and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced oxidative stress in *Populus canescens* roots. *Plant Physiol Biochem*, 2002; 40: 577-84.
62. Hollander-Czytko H, Grabowski J, Sandorf I, Weckermann K, Weiler EW. Tocopherol content and activities of tyrosine aminotransferase and cystine lyase in *Arabidopsis* under stress conditions. *J Plant Physiol*, 2005; 162: 767-70.
63. Kamal-Eldin A, Appelqvist LA. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 1996; 31: 671-701.
64. Wu G, Wei ZK, Shao HB. The mutual responses of higher plants to environment: Physiological and microbiological aspects. *Biointerfaces*, 2007; 59:113-9.
65. Shao HB, Chu LY, Wu G, Zhang JH, Lu Z, Hu YC. Changes of some antioxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at tillering stage. *Colloid Surf B: Bio interfaces*, 2007; 54(2): 143-9.
66. Trebst A, Depka B, Holländer-Czytko H. A specific role for tocopherol and of chemical singlet oxygen quenchers in the maintenance of photosystem II structure and function in *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Lett*, 2002; 516: 156-60.
67. Bergmüller E, Porfirova S, Dörmann P. Characterization of an *Arabidopsis* mutant deficient in g-tocopherolmethyltransferase. *Plant Mol Biol*, 2003; 52: 1181-90.
68. Siefert-Harms D. The light harvesting function of carotenoids in photosynthetic membrane. *Plant Physiol*, 1987; 69: 561-8.
69. Collins A. Carotenoids and genomic stability. *Mutat Res*. 2001; 475: 1-28.

70. Foyer CH, Harbinson J. Oxygen metabolism and the Regulation of photosynthetic electron transport. In: Foyer CH, Mullineaux P, eds. Causes of Photooxidative Stresses and Amelioration of Defense Systems in Plants. Boca Raton, FL. CRC Press, 1994: 1-42.
71. Peñuelas J, Munné-Bosch S. Isoprenoids: An evolutionary pool for photoprotection, Trends Plant Sci, 2005; 10: 166-9.
72. Loreto F, Pinelli P, Manes F, Kollist H. Impact of ozone on monoterpene emissions and evidence for an isoprene-like antioxidant action of monoterpenes emitted by *Quercus ilex* leaves. Tree Physiol, 2004; 24: 361-7.
73. Mittler R, Zilinskas BA. Molecular cloning and characterization of a gene encoding pea cytosolic ascorbate peroxidase. J Biol Chem, 1992; 267: 21802-7.
74. Jimenez A, Hernandez JA, Pastori G, del Rio LA, Sevilla F. Role of the ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves. Plant Physiol, 1998; 118: 1327-35.
75. Rausch T, Wachter A. Sulfur metabolism: A versatile platform for launching defence operations. Trends Plant Sci, 2005; 10: 503-9.
76. Khan NA, Singh S. Abiotic Stress and Plant Responses. New Delhi, IK International, 2008.
77. Temple MD, Perrone GG, Dawes IW. Complex cellular responses to reactive oxygen species. Trends Cell Biol, 2005; 15: 319-26.
78. Rodriguez-Serrano M, Romero-Puertas MC, Pazmino DM, Testillano PS, Risueno MC, del Rio LA, et al. Cellular response of pea plants to cadmium toxicity: Cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide, and calcium. Plant Physiol, 2009; 150: 229-43.
79. Kariola T, Brader G, Li J, Palva ET. Chlorophyllase 1, a damage control enzyme, affects the balance between defense pathways in plants. The Plant Cell, 2005; 17: 282-94.
80. Tewari RK, Kumar P, Sharma PN. Antioxidant responses to enhanced generation of superoxide anion radical and hydrogen peroxide in the copper-stressed mulberry plants. Planta, 2006; 223: 1145-53.
81. Quan LJ, Zhang B, Shi WW, Li HY. Hydrogen peroxide in plants: A versatile molecule of the reactive oxygen species network. J Integrat Plant Biol, 2008; 50: 2-18.
82. Peng CL, Ou ZY, Liu N, Lin GZ. Response to high temperature in flag leaves of super high-yielding rice Pei'ai 645/E32 and Liangyoupeijiu. Rice Sci, 2005; 12: 179-86.
83. Noctor G, Foyer CH. A re-evaluation of the ATP: NADPH budget during C3 photosynthesis. A contribution from nitrate assimilation and its associated respiratory activity. J Exp Bot, 1998; 49: 1895-908.
84. Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal Biochem, 1971; 44: 276-87.
85. Fridovich I. Biological effect of superoxide radical. Arch Biochem Biophys, 1986; 247: 1-11.
86. Scandalios JG. Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant Physiol, 1993; 101: 7-12.
87. Edreva A. Stres physiology, definition and concepts of stres. Classification of stress factors, approaches applied in stress research. Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu. İzmir-EBİLTEM, Bornova. 22-26 Haziran 1998.
88. Kukreja S, Nandval AS, Kumar N, Sharma SK, Sharma SK, Unvi V, et al. Plant water status, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. Biol Plant, 2005; 49: 305-8.
89. Harinasut P, Poonsopa D, Roengmongkol K, Charoensataporn R. Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. Sci Asia, 2003; 29: 109-13.
90. Gapinska M, Sklodowska M, Gabara B. Effect of short- and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. Acta Physiol Plant, 2008; 30: 11-8.
91. Attia H, Karray N, Lachaa M. Light interacts with salt stress in regulating superoxide dismutase gene expression in *Arabidopsis*. Plant Sci, 2009; 177: 161-7.

92. Soydam Aydin S, Aras S. Relationships among lipid peroxidation, enzyme activity and gene expression profiles of superoxide dismutase (SOD) in *Lycopersicum esculentum* L. exposed to cold stress, 2012 (unpublished manuscript).
93. Arvind P, Prasad MNV. Zinc alleviates cadmium-induced oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* L: A free-floating freshwater macrophyte. *Plant Physiol Biochem*, 2003; 41: 391-7.
94. Mobin M, Khan NA. Photosynthetic activity, pigment composition and anti-oxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J Plant Physiol*, 2007; 164: 601-10.
95. Khan NA, Samiullah T, Singh S, Nazar R. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2007; 193: 435-44.
96. Singh S, Khan NA, Nazar R, Anjum NA. Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in blackgram (*Vigna mungo* L. Hepper) under cadmium stress, *Am J Plant Physiol*, 2008; 3: 25-32.
97. Hsu YT, Kao CH. Heat shock-mediated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation and protection against Cd toxicity in rice seedlings. *Plant Soil*, 2007; 300: 137-47.
98. Zlatev ZS, Lidon FC, Ramalho JC, Yordanov IT. Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biol Plant*, 2006; 50: 389-94.
99. Polidoros NA, Scandalios JG. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). *Physiol Plant*, 1999; 106: 112-20.
100. Azevedo RA, Alas RM, Smith RJ, Lea PA. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. *Physiol Plant*, 1998; 104: 280-92.
101. Azpilicueta CE, Benavides MP, Tomaro ML, Gallego SM. Mechanism of CATA3 induction by cadmium in sunflower leaves. *Plant Physiol Biochem*, 2007; 45: 589-95.
102. Frugoli JA, Zhong HH, Nuccio ML, McCourt P, McPeck MA, et al. Catalase is encoded by a multigene family in *Arabidopsis thaliana* (L.). *Plant Physiol*, 1996; 112: 327-36.
103. Polle A, Chakrabarti K, Chakrabarti S, Seifert F, Schramel P, Rennenberg H. Antioxidants and manganese deficiency in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.) Trees. *Plant Physiol*, 1992; 99: 1084-9.
104. Matsumura T, Tabayashi N, Kamagata Y, Souma C, Saruyama H. Wheat catalase expressed in transgenic rice can improve tolerance against low temperature stress. *Physiol Plant*, 2002; 116(3): 317-37.
105. Mittova V, Tal M, Volokita M, Guy M. Up-regulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Plant Cell Environ*, 2003; 26: 845-56.
106. Henriques FS. Gas exchange, chlorophyll a fluorescence kinetics and lipid peroxidation of pecan leaves with varying manganese concentrations. *Plant Sci*, 2003; 165: 239-44.
107. Millar AH, Mittova V, Kiddle G, Heazlewood JL, Bartoli CG, Theodoulou FL, et al. Control of ascorbate synthesis by respiration and its implication for stress responses. *Plant Physiol*, 2003; 133: 443-7.
108. Leon AM, Palma JM, Corpas FJ, Gomez M, Romero-Puertas MC, Chatterjee D, et al. Antioxidant enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium. *Plant Physiol Biochem*, 2002; 40: 813-20.
109. Dixit V, Pandey V, Shyam R. Differential oxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L cv. Azad). *J Exp Bot*, 2001; 52: 1101-9.
110. Leisinger U, Rüfenacht K, Fischer B, Pesaro M, Spengler A, Zehnder AJB, et al. The glutathione peroxidase homologous gene from *Chlamydomonas reinhardtii* is transcriptionally up-regulated by singlet oxygen. *Plant Mol Biol*, 2001; 46: 395-408.
111. Koornneef M, Peeters AJM. Molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants. In: Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, eds. Genetic approaches to abiotic stress responses. Austin, TX. Landes Company, 1999: 1-10.

112. Panjabi-Sabharwal V, Karan R, Khan T, Pareek A. Abiotic stress responses: complexities in gene expression. In: Sopory SK, Bohnert HJ, Govindjee, eds. Abiotic Stress Adaptation in Plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation. Springer-Verlag, 2010: 177-98.
113. Kawasaki S, Borchert C, Deyholos M, Wang H, Brazille S, Kawai K, et al. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *Plant Cell*, 2001; 13(4): 889-905.
114. Rabbani MA, Maruyama K, Abe H, Khan MA, Katsura K, Ito Y, et al. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high-salinity stresses and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA gel-blot analyses. *Plant Physiol*, 2003; 133(4): 1755-67.
115. Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Ann Rev Plant Biol*, 2006; 57: 781-803.
116. Rabello AR, Guimarães CM, Rangel PHN, Silva FR, Seixas D, Souza E, et al. Identification of drought-responsive genes in roots of upland rice (*Oryza sativa* L). *BMC Genomics*, 2008; 9: 485.
117. Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*, 1995; 270: 467-70.