

ARPA BİTKİSİNDE ULTRAVİYOLE-B STRESİNİN FOTOSİSTEM II ETKİNLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ

Nuran ÇİÇEK¹, Hüsnü ÇAKIRLAR¹, Reto Jörg STRASSER²

ÖZ

Bu çalışma, farklı sürelerde [0 (kontrol), 1, 3 ve 5 saat] UV-B ışımalarının arpa (*Hordeum vulgare* L., Bülbül 89) yapraklarının fotosistem II (PSII) etkinliği üzerine etkisini araştırmak için yapılmıştır. UV-B stresinin, PSII etkinliği üzerine etkisini değerlendirmek için klorofil *a* fluoresansındaki polifazik artış (OJIP) kullanılmıştır. UV-B stresi, arpa bitkisinin JIP-Testine göre hesaplanan fonksiyonel parametrelerini ve yapısal parametrelerini önemli düzeyde etkilemiştir. Farklı sürelerdeki UV-B'nin polifazik klorofil *a* fluoresansı üzerine etkisi, PSII'nin donör ve akseptör kısmının kısmi öneminin değerlendirilmesi perspektifinden tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Arpa, Fotosentetik etkinlik, Polifazik klorofil *a* fluoresansı, UV-B ışınması.

THE EFFECT OF ULTRAVIOLET-B STRESS ON PHOTOSYSTEM II EFFICIENCY IN BARLEY PLANT

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of UV-B radiation with different exposure times (0, 1, 3 and 5 hours) on photosystem II (PSII) efficiency of barley (*Hordeum vulgare* L., Bülbül 89) leaves. The polyphasic rise (OJIP) in the chlorophyll *a* fluorescence was used to evaluate the effect of UV-B stress on the efficiency of PSII. UV-B stress significantly affected the functional parameters and structural parameters calculated by JIP-Test. The effect of UV-B with different application times on polyphasic chlorophyll *a* fluorescence parameters are discussed from the perspective of evaluating the relative importance of UV-B of donor and acceptor side capacity in PSII.

Keywords: Barley, Photosynthetic efficiency, Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence, UV-B radiation.

¹Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06800, Beytepe, Ankara.
Tel: 0 312 297 62 47; Faks: 0 312 299 20 28; E-posta: ncicek@hacettepe.edu.tr

²Cenevre Üniversitesi, Biyoenerjetik Laboratuvarı, Cenevre, İsviçre.

1. GİRİŞ

Ozon tabakasının her geçen gün incilmesi, yeryüzüne ulaşan UV ışın miktarının artmasına yol açmaktadır. Işık spektrumunun küçük bir kısmını oluşturmasına rağmen, sahip olduğu enerji miktarının yüksek olması nedeniyle UV'nın biyolojik süreçler üzerindeki etkisi önemlidir. Genel olarak; UV, dalga boyu aralıklarına göre üç gruba ayrılır. Canlılar için en zararlısı, 200-280 nm arasındaki UV-C'dir ve normal koşullarda yeryüzüne ulaşmaz. İkinci grubu, bitki gelişim süreçleri üzerinde olumsuz değişiklikler meydana getiren 280-315 nm arasındaki UV-B'dir. Sonucu grup ise, canlılar için daha az zararlı olan 315-400 nm arasındaki UV-A'dır (Tevini 2004).

UV-B, nükleik asitler, protein, lipid ve bitki hormonları gibi UV absorptör biyolojik moleküllerle etkileşimi nedeniyle önemli çevresel streslerden birisidir (Tevini 2004). Ayrıca, Albert vd. (2005; 2008; 2010a; b) Grönland bitkileri ile yaptıkları çalışmalarla, UV-B'nin bitkiler için önemli bir stres faktörü olduğunu ortaya koymuşlardır. UV-B, özellikle DNA molekülünü esas hedef olarak nükleik asitlerin yapısını bozar (Bieza ve Lois 2001). Aminoasitleri de hedef alarak protein ve enzimlerin yapılarını ve lipid peroksidasyonu ile membran yapısını bozar (Hightower vd. 1994). Bu nedenle, membranlarda taşınım engellenir. Bitki hormonlarının yapısını da etkilediği kaydedilmektedir (Ros ve Tevini 1995). Elektronik absorpsiyonları UV bölgede olması nedeniyle, fotosentetik pigmentlere zarar verip (Tevini 2004), fotosentetik aktiviteyi olumsuz etkilediği bildirilmektedir (Allen vd. 1998). UV-B'nin neden olduğu etkiler sonucunda bitki büyüme ve gelişmesi olumsuz etkilenmektedir (Qaderi ve Reid 2005). Buna karşılık bitkiler, UV-B etkisini azaltmak veya en aza indirmek için bazı koruyucu bileşikler (UV-absorblayan bileşikler gibi) sentezler ve bazı tamir mekanizmalarını harekete geçirirler (Strid vd. 1994; Tevini 1994; Mackerness 2000). Oluşturulan cevaplar, bitkilerin UV-B ışınmasına duyarlılık derecelerini belirler (Saile-Mark ve Tevini 1997). Farklı deneysel bulgular elde edilmesine rağmen (Qaderi ve Reid 2005), yüksek UV-B düzeylerinin bitkilerde fotosentetik yapıya zarar verebileceği ortaya konulmuştur (Tevini vd. 1991; Wilson ve Greenberg 1993; Teramura ve Sullivan 1994; Greenberg vd. 1996; Fedina vd. 2003; Çakırlar vd. 2008). Ayrıca, PSII'nin UV-B zararının birincil hedefi olduğu ileri sürülmektedir (Correia vd. 1999; Hollosy 2002; Wang vd. 2010).

Fotosentez, yeryüzündeki enerji dönüşümünü sağladığından canlılık için en önemli süreçlerin başında yer almakta ve genel anlamda enerji akışlarından ibarettir. Fotosentetik bir örneğe ulaşan uyarılma enerjisinin bir kısmı, daha çok ısı ve daha az miktarı fluoresans olmak üzere yitirilir. Uyarılma enerjisinin büyük bir kısmı ise redoks enerjisine dönüştürülmek üzere reaksiyon merkezine iletilir. Fotosistem I (PSI)'in de olaya katılmasıyla redoks enerjisi, sonunda CO₂'in şekerlere fiksasyonunu sağlayan elektron transportunu oluşturur (Epitalawage vd. 2003). Bu metabolik süreçte, fotosentetik yapının önemli elemanlarından biri olan PSII, çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Dolayısıyla, bitki stres fizyolojisi alanında fotosentetik etkinliğin incelenmesi ve değerlendirilmesi ilgi çekici bir araştırma konusu olmuştur. Teknolojik gelişmeler sayesinde de, fotosentezin mekanizması ve çevresel değişkenlere verdiği cevaplar hakkında güvenilir bilgiler elde edilebilmektedir.

Klorofil *a* fluoresansı ölçme tekniği, fotosentez çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Krause ve Weis 1991; Strasser vd. 2000; Oukarroum vd. 2009). Klorofil *a* fluoresansı hakkında ilk temel bilgiyi Kautsky ve Hirsh (1931) vermiştir (Strasser vd. 2000). Kautsky ve Hirsh (1931), karanlıkta bırakılan fotosentetik örnek ışıklandırıldığında; klorofil *a* fluoresans sinyallerinin sabit olmadığını, maksimum bir değere yükseldiğini ve sonra bir azalmanın meydana gelip sonunda sabit bir seviyeye geldiğini gözlemişlerdir. Aynı araştırmacılar, gözlem sonuçlarındaki artış fazının fotosentezin primer reaksiyonlarını ve azalma fazının ise CO₂ asimilasyonundaki artışı yansıttığını ileri sürmüşlerdir (Maxwell ve Johnson 2000; Strasser vd. 2000). Kautsky ve Hirsh (1931)'in gözlemlerinden sonra, pek çok araştırmacı bu konuya yeni bilgiler katmışlar ve günümüzde bu teknik bitki fizyolojisinde geniş bir kullanım alanı bulmuştur (Krause ve Weis 1991; Mohammed vd. 1995; Strasser vd. 1997; Schreiber ve Neubauer 1987; Maxwell ve Johnson 2000; Reigosa ve Weiss 2001; Tsimilli-Michael ve Strasser 2008).

Klorofil fluoresansını ölçmek için amaca bağlı olarak değişik tiplerde fluorimetre geliştirilmiştir ve bunlardan birisi OJIP polifazik klorofil *a* fluoresansını ölçmektedir (Çiçek ve Çakırlar 2006). Fotosentetik tüm örnekler fluoresans yayarlar (Strasser vd. 2000; 2004). Eğer fluoresans ölçümleri, zaman çözünürlüğü çok yüksek olan bir fluorimetre ile yapılır ve değerler logaritmik zamana karşılık bir grafikte gösterilirse polifazik bir eğri elde edilir. OJIP

şeklinde adlandırılır ve bu harflendirme, fluoresansın başlangıç O (F_O), yaklaşık 2 ms'de J (F_J) ve 30 ms'de I (F_I) ara basamakları ile maksimum P (F_P veya F_M) basamaklarını ifade eder. Her bir faz, zamana bağlı olarak örneğin fotosentetik durumu hakkında bilgi vermektedir (Strasser vd. 2000). Kautsky etkisi (eğrisi) olarak da bilinen bu eğrinin başlangıç basamağı O 'dan maksimum (pik) P seviyesine doğru artışı, PSII aktivitesi sayesinde primer elektron alıcısı kinonun (Q_B^{-2}) redükte formunun birikimini yansıtmaktadır (Epitalawage vd. 2003). Ölçüm zamanının çok kısa olmasına ve deneysel olarak temelde çok az noktalar (F_O , F_J , F_I , F_M , F_V gibi) belirleniyor gibi gözükmesine rağmen; elde edilen bu değerlerden pek çok parametrenin hesaplanarak fotosentetik örneğin fizyolojik durumu hakkında detaylı bilgi sahibi olunabilir. Ayrıca, ölçümlerden elde edilen veriler, JIP-Test ile analiz edilebilir. Biyomembranlardaki Enerji Akışları Teorisi'ne (Strasser 1978; 1981) dayanan JIP-Test, ışıklandırılan tüm fotosentetik organizmaların sergilediği hızlı fluoresans kinetiklerinin bir analizidir ve bitki canlılığını görüntülemeye önemli bir araç olduğu gösterilmiştir (Tsimilli-Michael ve Strasser 2008). Elde edilen sonuçların tablolar halinde sunulmasının yanı sıra OJIP eğrisi veya radar ve pipeline grafik modellerinde gösterilmesi de mümkündür.

Son zamanlarda UV-B ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmesine rağmen, literatürde OJIP polifazik klorofil *a* fluoresansı ölçümü yapılarak UV-B etkilerinin ortaya konulduğu araştırma sayısı çok azdır. Bu çalışmada, farklı sürelerde UV-B uygulanmasını arpa (*Hordeum vulgare* L. var. Bülbül 89) bitkisinin fotosentetik etkinliği üzerine etkisinin polifazik klorofil *a* fluoresansı ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Arpa (*Hordeum vulgare* L. var. Bülbül 89) tohumları yıkanıp saf suda 3 saat şişirilerek perlit içeren saksılara ekilmiştir. Bitkiler, 16 saat fotoperiyot, $25/18 \pm 2^\circ\text{C}$, $50 \pm 5\%$ nem ve $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetine sahip kontrollü koşullardaki iklim dolabında (Digitech HI-TECH SYSTEMS, ANKARA) büyütülmüştür (Çakırlar vd. 2008). 5-6 günlük bitkiler, farklı sürelerde [0 (kontrol), 1, 3 ve 5 saat] UV-B ışınmasına (312 nm , G15T8E, USHIO UV-B Fluorescent Lamp) maruz bırakılmışlardır. Uygulamanın ardından bitkilerin yapraklarında fluorimetre (HandyPEA, Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn Norfolk, PE 4 NE, UK) ile polifazik klorofil *a* fluoresansı ölçümleri yapılmıştır. 30 dakika

karanlıkta tutulan bitkilerin yapraklarında, 3 di-oddan sağlanan 600 Wm^{-2} ($3000 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)'lik kırmızı ışıkla fluoresans yayılımı uyarılmış ve 12 bit çözünürlükte, 1 s süresince kaydedilmiştir (Strasser ve Strasser 1995; Strasser vd. 2000; Toth vd. 2005). Elde edilen OJIP verileri, JIP-Test ile hesaplanan parametrelerden yararlanılarak değerlendirilmiştir. JIP-Test (Strasser vd. 2004), Prof.Dr. Reto J. Strasser'ın Biyoenerjetik Laboratuvarı (Cenevre Üniversitesi)'nda çalışma ekibi tarafından geliştirilen BIOLYZER programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçların sunumunda programın OJIP eğrisi, radar ve pipeline grafik modellerinden yararlanılmıştır. Çalışmada kullanılan JIP-Test'in bazı parametreleri, Tablo 1'de verilmiştir.

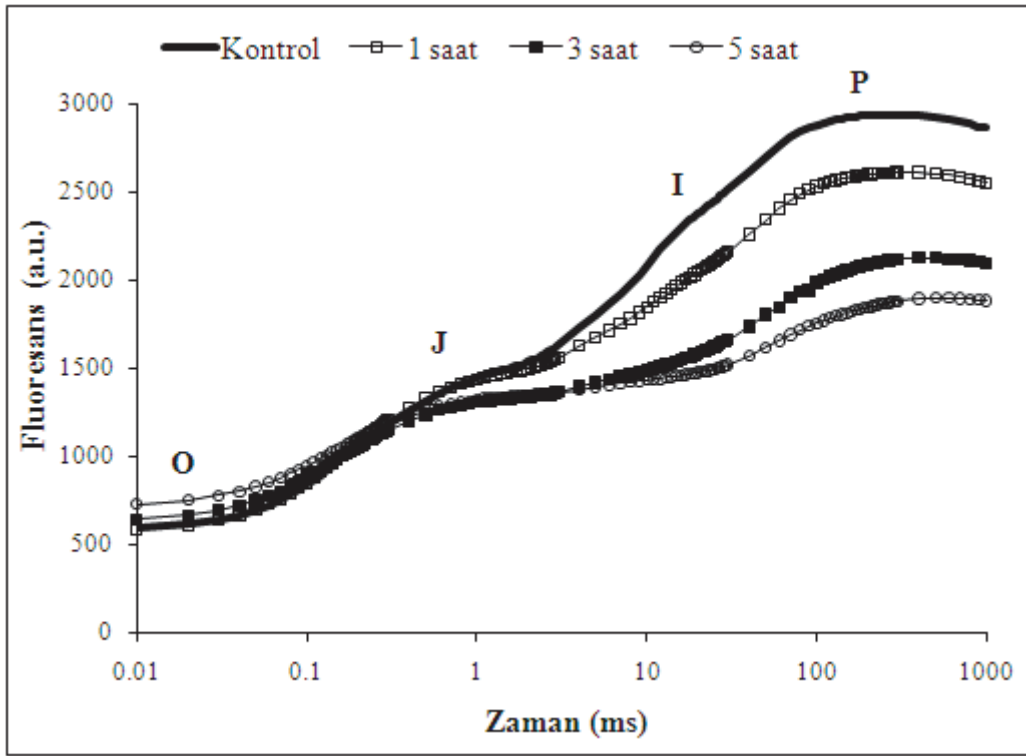
SONUÇLAR

Bu çalışmada, farklı sürelerden UV-B uygulanan arpa bitkisinde polifazik klorofil *a* fluoresansı geçişleri kaydedilmiş ve verilerin logaritmik zaman skalasında grafiği çizilmiştir (Şekil 1.). UV-B uygulaması, karakteristik OJIP grafiğinde farklılıklara yol açmıştır. Şekil 1., UV-B uygulamasının arpa bitkisinin PSII aktivitesini inhibe ettiğini açıkça göstermektedir. Özellikle, F_O değerinde uygulama süresine bağlı olarak küçük bir artış olurken, F_M ve F_I değerlerinde önemli düşüşler meydana gelmiştir. Dolayısıyla, I-P arası büyüklük kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 1.).

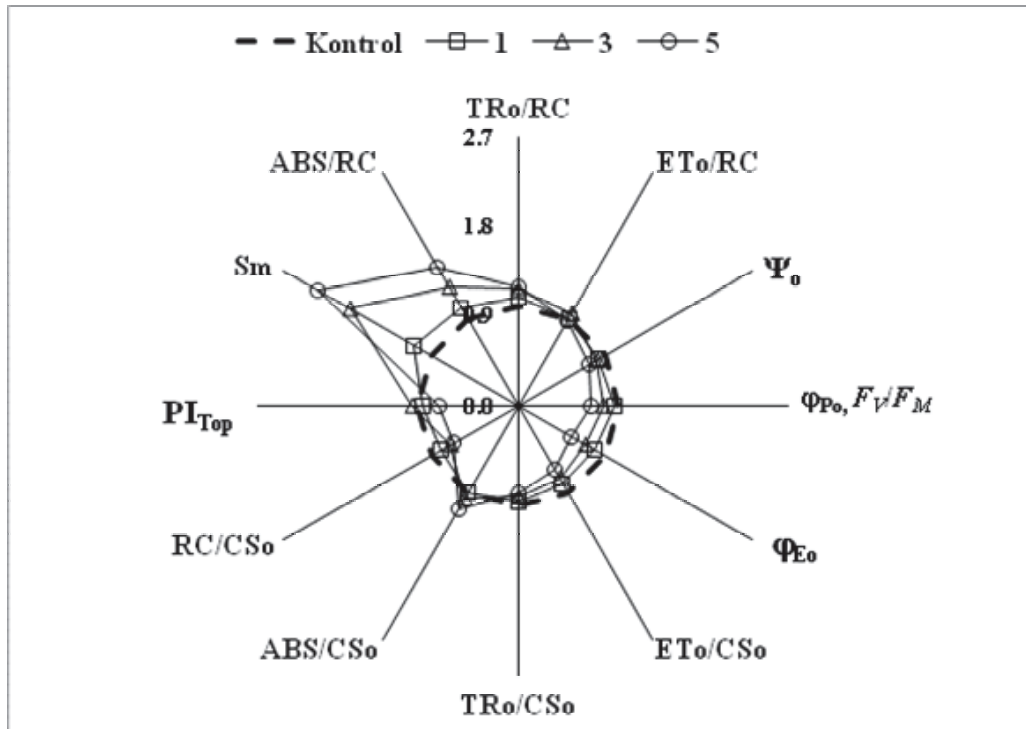
Bu çalışmada UV-B uygulaması, bazı akış oranları, spesifik (reaksiyon merkezi bazında, RC) ve fenomenolojik (yaprak alanı bazında, CS) akışlar üzerinde de değişimlere yol açmıştır (Şekil 2.). UV-B, primer fotokimyanın ve elektron transportunun quantum verimini (F_V/F_M ve Φ_{E0}), yakalanan eksitonun Q_A 'dan elektron transport zincirine elektronu hareket ettirme etkinliğini (Ψ_0) azaltmaktadır. Bu parametrelerden hesaplanan toplam performans indeksi (PI_{Top})'ni de önemli düzeyde azalttığı görülmektedir. UV-B uygulama süresi arttıkça (özellikle 5 saat UV-B uygulamasında); PSII'nin anten büyüklüğü (ABS/RC) ve elektron taşıyıcıları (Sm), reaksiyon merkezinin yakalama oranı (TRo/RC) ve elektron transportu (ETo/RC) artmaktadır. Sonuçlar fenomenolojik olarak incelendiğinde; ölçüm yapılan yaprak alanı bazında aktif reaksiyon merkezleri yoğunluğunun (RC/CS_0), elektron transportunun (ETo/CS_0) ve maksimum yakalama oranının (TRo/CS_0) azaldığı, absorblanan foton sayısının (ABS/CS_0) arttığı görülmektedir (Şekil 2.).

Tablo 1. JIP-testte kullanılan bazı terimlerin, tanımlamaların ve formüllerin özeti (Strasser vd. 2000; 2004; Tsimilli-Michael ve Strasser 2008; Han vd. 2009).

Teknik ve hesaplanan fluoresans parametreleri	Tanımı
F_O	Minimum fluoresans intensitesi (O basamağı)
F_J	2 ms'deki fluoresans intensitesi (J basamağı)
F_I	30 ms'deki fluoresans intensitesi (I basamağı)
F_M	Maksimum fluoresans intensitesi (P basamağı)
V_J	$(F_{2ms} - F_O)/(F_M - F_O)$, J basamağındaki değişken fluoresans
Mo veya (dV/dt)o	$4(F_{300\mu s} - F_O)/(F_M - F_O)$, Fluoresansın tahmini başlangıç eğimi (ms^{-1} 'deki) veya fotokimyanın başlangıç hızı
Area	Fluoresans eğrisinin F_O ile F_M değeri üzerinde kalan ve Q_A 'nın tam indirgenmesi için transfer edilmesi gereken elektron sayısı hakkında bilgi sağlayan toplam alan
Sm	$Area/(F_M - F_O)$, her bir reaksiyon merkezi için toplam elektron taşıyıcıları
Kuantum etkinliği veya akış oranları	
ϕ_{P_0} veya TRo/ABS	$(1 - F_O)/F_M$ veya F_V/F_M , Primer fotokimyanın maksimum quantum verimi
ϕ_{E_0} veya ETo/ABS	$1 - F_O/F_M$. Ψ_0 , Elektron transportunun maksimum verimi
Ψ_0 veya ETo/TRo	$1 - V_J$, Tutulan eksitonun Q_A^- 'dan elektron transport zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliği
δRo veya RE/ETo	$(1 - V_I)/(1 - V_J)$, İndirgenmiş sistemlerarası elektron alıcılarının bir elektronu, PSI son elektron alıcılarına hareket ettirme etkinliği
ϕ_{R_0} veya REo/ABS	$\phi_{P_0} \cdot \Psi_0 \cdot \delta Ro$, Q_A^- 'dan PSI son elektron alıcılarına elektron transportun kuantum verimi
Spesifik akışlar	Her bir reaksiyon merkezi başına enerji akışları
ABS/RC	$Mo \cdot (1/V_J) \cdot (1/\phi_{P_0})$, $t=0$ 'da absorplanan enerji akışı veya ortalama anten büyüklüğü
TRo/RC	$Mo \cdot (1/V_J)$, $t=0$ 'da yakalanan enerji akışı
ETo/RC DIo/RC	$Mo \cdot (1/V_J) \cdot \Psi_0$, $t=0$ 'da elektron transportu $(ABS/RC) - (TRo/RC)$, Fotokimya dışında kaybedilen enerji
Fenomenolojik akışlar	Ölçüm yapılan yaprak alanı bazında enerji akışları
ABS/CSo $\approx F_O$	$t=0$ 'da absorplanan enerji akışı
TRo/CSo	$\phi_{P_0} \cdot (ABS/CSo)$, $t=0$ 'da yakalanan enerji akışı
ETo/CSo DIo/CSo	$\phi_{P_0} \cdot \Psi_0 \cdot (ABS/CSo)$, $t=0$ 'da elektron transportu $(ABS/CSo) - (TRo/CSo)$, Bir PSII'de fotokimya dışında kaybedilen enerji
RC/CSo	$\phi_{P_0} \cdot (V_I/Mo) \cdot F_0$, $t=t_{F_M}$ 'da aktif PSII reaksiyon merkezleri miktarı
PI_{Top}	$(RC/ABS) \cdot (\phi_{P_0} / (1 - \phi_{P_0})) \cdot (\Psi_0 / (1 - \Psi_0)) \cdot (\delta Ro / (1 - \delta Ro))$, Toplam performans indeksi



Şekil 1. Farklı sürelerde uygulanan UV-B'nin arpa yapraklarının karakteristik polifazik OJIP eğrisi üzerine etkisi.



Şekil 2. UV-B uygulamasının bazı akış oranları, spesifik ve fenomenolojik akışlar üzerine etkisinin radar grafiğindeki gösterimi.

İki farklı UV-B uygulama süresi (en kısa, 1 saat, ve en uzun, 5 saat, UV-B uygulama süresi), Biolyzer programının pipeline grafik modelinde kontrolle karşılaştırılması yapılmıştır (Şekil 3.). Membran modelinde; uygulama süresi arttıkça kontrole göre reaksiyon merkezi başına absorblanan (ABS/RC) ve yakalanan foton miktarı (TRo/RC), anten büyüklüğü ve fotokimya dışında kaybedilen enerji miktarı (Dİo/RC) da artmaktadır (Şekil 3a.). Yaprak modelinde ise; süre arttıkça, kontrole göre absorblanan foton sayısı (ABS/CSo), inaktif reaksiyon merkezleri sayısı (siyah daireler) ve kaybedilen enerji miktarı (Dİo/CSo) artarken, yakalanan (TRo/CSo) ve elektron transportuna iletilen enerji miktarı (ETo/CSo) azalmaktadır (Şekil 3b.).

TARTIŞMA

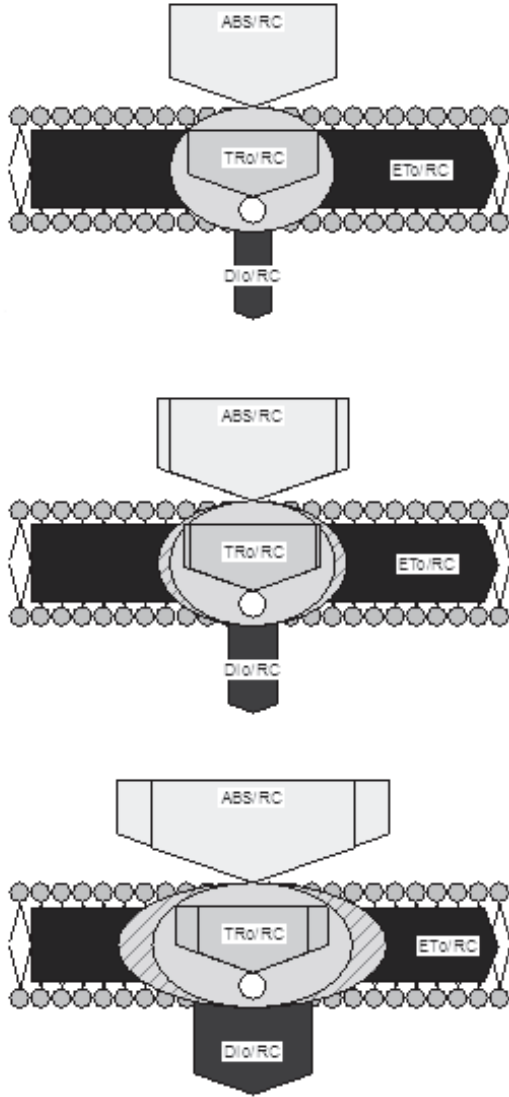
UV-B, tilakoid membranının fotosentez reaksiyonları, Calvin döngüsünün enzimatik olayları ve CO₂ difüzyonunun stomatal sınırlamaları olmak üzere fotosentezin üç esas sürecini olumsuz etkilemektedir (Allen vd. 1998). Arpa çeşitlerinde NaCl ile UV-B ışınmasına karşı bir çapraz uyum olup olmadığı önceki çalışmamızda araştırılmış ve PSII aktivitesinin inhibe olduğu saptanmıştır (Çakırlar vd. 2008). Bu çalışmada da, farklı sürelerde UV-B uygulamasının arpa bitkisinin PSII etkinliğini inhibe ettiği gösterilmiştir ve bu sonuç önceki çalışma bulgularını desteklemektedir. Tüm fotosentetik materyaller OJIP şeklinde adlandırılan polifazik klorofil *a* floresans artışı sergilerler ve çalışmamızda da bu artış belirlenmiştir (Şekil 1.). Ancak UV-B uygulaması, özellikle I-P basamakları arasındaki büyüklüğü azaltmıştır, yani F_M ve F_I değerlerinde önemli düşüşler meydana gelmiştir (Şekil 1.). Fotoinhibitör koşullar altında F_O değerinin sabit kalmasının düzenleyici ya da koruyucu bir mekanizmanın varlığını ifade ettiği ileri sürülmektedir (Demmig ve Björkman 1987; Osmond vd. 1993). F_M (P) basamağının, tüm Q_A moleküllerinin redükte formda olduğu duruma karşılık geldiği ve Q_A ile ferredoksin arasında bulunan tüm elektron taşıyıcılarının indirgenmesi sonucunda F_M 'e ulaşıldığı kabul edilmektedir (Strasser vd. 1995). Bu çalışmada I-P fazındaki önemli düşüş, UV-B'nin muhtemelen plastokinon havuzunun indirgenme sürecini olumsuz etkilediği anlamına gelmektedir. Bununla birlikte, I-P fazının PSI'ye doğru olan elektron transferi ile PSI'in akseptör kısmındaki bir engellenmeyle ilişkili olduğu da ileri sürülmektedir (Schansker vd. 2006). I basamağı, Q_A^- Q_B^- 'nin birikimini yansıtırken; P (F_M) basamağı, $Q_A^- Q_B^-$ birikimini yansıtır (Strasser vd. 1995). Çalışmada I ve P basamaklarında düşüşlerin

saptanması, bu birikim mekanizmalarında UV-B nedeniyle aksamalar olduğunu ortaya koyar. Bunlara ilaveten; uygulama süresinin artması, OJIP polifazik klorofil *a* floresansı üzerindeki olumsuz etkinin şiddetini de artırmıştır (Şekil 1.).

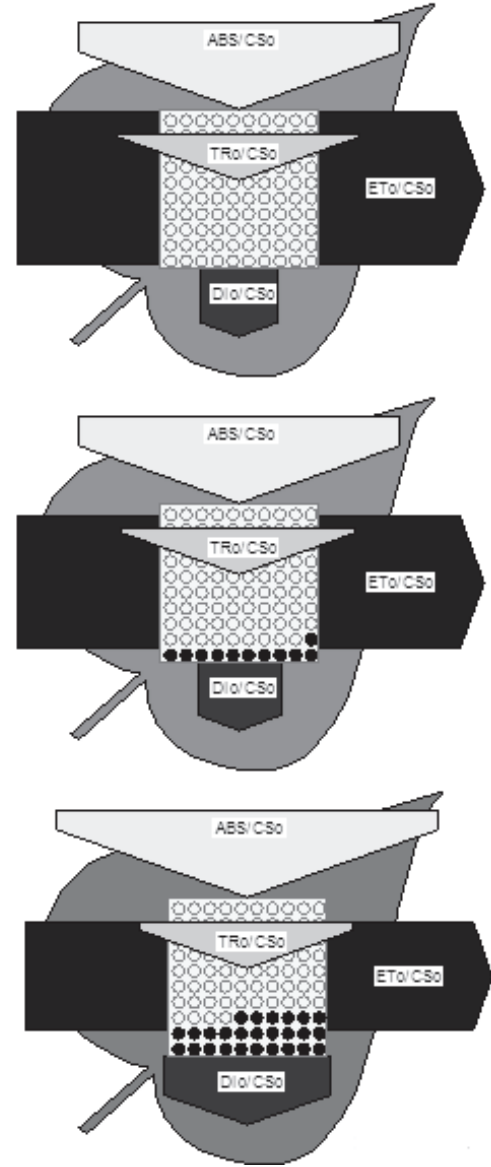
Bu çalışmada UV-B uygulaması, bazı akış oranlarını (F_V/F_M , ϕ_{Eo} ve Ψ_o) kontrole göre azaltmıştır (Şekil 2.). Tablo 1'den görüleceği gibi bu akış oranlarından türetilen ve bitkinin fotosentetik performansının bir ölçüsü olan toplam performans indeksi (PI_{Top}), özellikle en uzun (5 saat) UV-B uygulamasında belirgin bir şekilde azalmıştır. Ψ_o düzeyinin azalması, Q_A^- 'dan sonraki elektron transportunda bir blokajı ifade etmektedir. Ayrıca, UV-B'den ϕ_{Eo} 'nin F_V/F_M 'den daha fazla etkilenmesi muhtemelen PSII'nin akseptör kısmının donör kısmından kısmen daha fazla etkilendiği anlamına gelebilir. Bunlara ilaveten; ϕ_{Po} , ϕ_{Eo} ve Ψ_o 'deki düşüşler, UV-B'nin büyük olasılıkla Q_B redükte etmeyen PSII reaksiyon merkezlerinin fraksiyonunda bir artışa neden olduğu sonucuna da varılabilir. Bu tip reaksiyon merkezleri, Q_A^- 'yi redükte ederken Q_B^- 'yi redükte edemezler ve Q_B^- redükte etmeyen PSII reaksiyon merkezleri adını alır (Cao ve Govindjee, 1990). Ayrıca, Wang vd. (2010) UV-B'nin primer kinonun bağlı olduğu D2 proteinine zarar vererek elektron transportunun inhibe olmasına yol açtığını da bildirmektedir.

UV-B uygulaması, ABS/RC, Sm, TRo/RC, ETo/RC ve Dİo/RC (fotokimya dışında kaybedilen enerji miktarı) artmaktadır (Şekil 2 ve 3a.). ABS/RC ve Sm'deki artış, inaktif reaksiyon merkezlerinin kısmi miktarlarındaki değişimden ve tüm reaksiyon merkezlerinin kapanması için gerekli olan enerji ihtiyacının artmasından kaynaklanmaktadır. Daha küçük anten büyüklüğünün daha düşük F_M seviyesi ile sonuçlandığı ileri sürülmektedir (Schansker vd. 2006). Ancak, çalışmamızda UV-B uygulamasıyla PSII'nin anten büyüklüğünün (ABS/RC) arttığı saptanmıştır (Şekil 2 ve 3a.). Bunun nedeni, muhtemelen inaktif reaksiyon merkezlerinin artmasındandır. Reaksiyon merkezi bazında değişimlere ilave olarak; UV-B, ölçüm yapılan yaprak alanı bazında da incelenen parametrelerde kontrole göre farklılıklar meydana getirmiştir.

a. Membran Modeli



b. Yaprak Modeli



Şekil 3. En kısa ve en uzun süre UV-B uygulamasının kontrol grubu ile pipeline modelde karşılaştırılması (a. Membran modeli, b. Yaprak modeli; her iki grafikte okların kalınlığı sürecin durumu hakkında bilgi vermektedir).

Bu çalışmada UV-B uygulamasının, ölçüm yapılan yaprak alanı bazında RC/CSo, ETo/CSo ve TRo/CSo parametrelerini azaltırken, absorblanan foton sayısını (ABS/CSo), inaktif reaksiyon merkezleri sayısını (siyah daireler) ve fotokimya dışında enerji kaybını (DiO/CSo) artırdığı saptanmıştır (Şekil 3b).

Sonuç olarak; PSII etkinliği UV-B'den olumsuz şekilde etkilenmektedir. UV-B uygulaması, arpa bitkisinin fotosentetik membranlarındaki aktif reaksiyon merkezlerinin sayısını azaltıp inaktif reaksiyon merkezlerinin

sayısını artırmaktadır (Şekil 2 ve 3.) ve PSII birimleri arasındaki işbirliğinin kaybolmasına yol açmaktadır. Bununla birlikte; absorblanan foton enerjisinin artmasına rağmen etkin şekilde fotokimya kullanımı (ϕ_{P_0} , PI_{Top}) sağlanamamaktadır. Enerji daha çok fotokimyasal olmayan yollarda (DiO/RC ve DiO/CSo) yitilmekte ve DiO/RC ve DiO/CSo'deki önemli artış bunu desteklemektedir (Şekil 3.).

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, UV-B stresinin fotosentetik etkinliğe etkisi ile ilgili çalışmaların sonuçları ile tutarlılık göstermekte-

dir (Mishra vd. 2008; Surabhi vd. 2009; Albert vd. 2005; 2008; 2010a; b; Wang vd. 2010). Mishra vd. (2008) ve Surabhi vd. (2009) börülce (*Vigna unguiculata* L. Walp.) ile yaptıkları çalışmada, UV-B uygulamasının büyüme ve biyokütle birikimini olumsuz etkilediğini belirlemişler ve bu olumsuz etkinin fotosentetik etkinliğin azalmasıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Wang vd. (2010) *Wolffia arrhiza*'da UV-B'nin elektron transportunu inhibe ederek ve inaktif reaksiyon merkezleri miktarını artırarak fotosentezi etkilediğini saptamışlardır. Albert vd. (2010b) ise; UV-B'nin efektif reaksiyon merkezleri miktarını, primer fotokimyanın maksimum quantum etkinliğini (F_V/F_M) ve elektron transportunu azaltarak toplam performans indeksini (PI_{Top}) olumsuz etkilemesi nedeniyle *Salix arctica* ve *Vaccinium uliginosum* bitkileri için UV-B'nin PSII performansını etkileyen bir stres faktörü olduğunu kabul etmektedirler.

SONUÇ

Çalışma sonucunda elde edilen tüm cevaplar, UV-B ışımalarının arpa bitkisinin fotosentetik yapısındaki PSII'nin yapı ve fonksiyonunu ve PSI'e kadar devam eden elektron transportu etkinliğini azaltarak fotosentetik aktiviteyi inhibe ettiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, UV-B'nin PSII'nin akseptör kısmını daha fazla etkilediği ileri sürülebilir. Uygulama süresinin artması, belirlenen olumsuz etkinin şiddetini arttırdığı da görülmektedir. Bitkinin fotosentetik performansını ortaya koyan ve verim konusunda değerlendirmeler yapılabilmesine ipucu sağlayan performans indeksi (PI_{Top}) parametresi, UV-B ışımalarının da dahil olduğu pek çok stres faktörlerinin etkilerinin ortaya konmasında kullanılabilir. Ayrıca bu çalışma; bitkilerin fotosentetik performansları üzerine çevresel faktörlerin etkisinin hızlı, güvenilir ve örneğe zarar vermeden belirlenmesi için Klorofil a Floresansı ölçümünün sıklıkla kullanılabilir bir metot olduğunu görüşünü de desteklemektedir.

KAYNAKLAR

Albert, K.R., Mikkelsen, T.N. and Ro-Poulsen, H. (2005). Effects of ambient versus reduced UV-B radiation on high arctic *Salix arctica* assessed by measurements and calculations of chlorophyll-a fluorescence parameters from fluorescence transients. *Physiologia Plantarum* 124, 208-226.

Albert, K.R., Mikkelsen, T.N. and Ro-Poulsen, H. (2008). Ambient UV-B radiation decreases photosynthesis in high arctic *Vaccinium uliginosum*. *Physiologia Plantarum* 133, 199-210.

Albert, K.R., Mikkelsen, T.N., Ro-Poulsen, H., Arndal, M.F. and Michelsen, A. (2010a). Ambient UV-B radiation reduces PSII performance and net photosynthesis in high Arctic *Salix arctica*. *Environmental and Experimental Botany*, (in press), doi:10.1016/j.envexpbot.2010.07.001

Albert, K.R., Mikkelsen, T.N., Ro-Poulsen, H., Michelsen, A., Arndal, M.F., Bredahl, L., Hakansson, K.B., Boesgaard, K. and Schmidt, N.M. (2010b). Improved UV-B screening capacity does not prevent negative effects of ambient UV irradiance on PSII performance in High Arctic plants. Results from a six year UV exclusion study. *Journal of Plant Physiology* 167, 1542-1549.

Allen, D.J., Nogues, S. and Baker, N.R. (1998). Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *Journal of Experimental Botany* 49, 1775-1788.

Bieza, K. and Lois, R. (2001). An Arabidopsis mutant tolerant to lethal ultraviolet-B levels shows constitutively elevated accumulation of flavonoids and other phenolics. *Plant Physiology* 126, 1105-1115.

Cao, J. Govindjee (1990). Chlorophyll a fluorescence transient as an indicator of active and inactive photosystem II in thylakoid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta* 1015, 180-188.

Correia, C.M., Areal, E.L.V., Torres-Pereira, M.S. and Torres-Pereira, J.M.G. (1999). Intraspecific variation in sensitivity to ultraviolet-B radiation in maize grown under field conditions. II. Physiological and biochemical aspects. *Field Crops Research* 62, 97-105.

Çakırlar, H., Çiçek, N., Fedina, I., Georgieva, K., Doğru, A. and Velitchkova, M. (2008). NaCl induced cross-acclimation to UV-B radiation in four barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum* 30, 561-567.

- Çiçek, N. and Çakırlar, H. (2006). Fotosentezi ölçme yöntemleri: Klorofil fluoresansı. *Anadolu Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Dergisi* 7(3), 295-302.
- Demmig, B. and Björkman, O. (1987). Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77K) and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants. *Planta* 171, 171-184.
- Epitalawage, N., Eggenberg, P. and Strasser, R.J. (2003). Use of fast chlorophyll a fluorescence technique in detecting drought and salinity tolerant chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties. *Archives des Sciences Genève* 56(2), 79-93.
- Fedina, I., Grigorova, I. and Georgieva, K. (2003). Response of barley seedlings to UV-B radiation as affected by NaCl. *Journal of Plant Physiology* 160, 205-208.
- Greenberg, B.M., Wilson, M.I., Gerhardt, K.E. and Wilson, K.E. (1996). Morphological and physiological responses of *Brassica napus* to ultraviolet-B radiation: photo-modification of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and potential acclimation processes. *Journal of Plant Physiology* 148, 78-85.
- Han, S., Tang, N., Jiang, H.X., Yang, L.T., Li, Y. and Chen, L.S. (2009). CO₂ assimilation, photosystem II photochemistry, carbohydrate metabolism and antioxidant system of citrus leaves in response to boron stress. *Plant Science*, 176, 143-153.
- Hightower, K.R., McCready, J.P. and Borchman, D. (1994). Membrane damage in UV-irradiated lenses. *Photochemistry and Photobiology* 4, 485-490.
- Hollosy, F. (2002). Effects of ultraviolet radiation on plant cells. *Micron* 33, 179-197.
- Kautsky, H. and Hirsch, A. (1931). Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation. *Naturwissenschaften* 19, 96.
- Krause, G.H. and Weis, E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42, 313-349.
- Mackerness, S.A.H. (2000). Plant responses to ultraviolet-B (UV-B: 280–320 nm) stress: What are the key regulators? *Plant Growth Regulation* 32, 27-39.
- Maxwell, K. and Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345), 659-668.
- Mishra, V., Srivastava, G., Prasad, S.M. and Abraham, G. (2008). Growth, photosynthetic pigments and photosynthetic activity during seedling stage of cowpea (*Vigna unguiculata*) in response to UV-B and dimethoate. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 92, 30-37.
- Mohammed, G.H., Binder, W.D. and Gillies, S.L. (1995). Chlorophyll fluorescence: A review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scandinavian Journal of Forest Research* 10, 383-410.
- Osmond, C.B., Ramus, J., Levavasseur, G., Franklin, L.A. and Henley, W.J. (1993). Fluorescence quenching during photosynthesis and photoinhibition of *Ulva rotundata* Blid. *Planta* 190, 97-106.
- Oukarroum, A., Schansker, G. and Strasser, R.J. (2009). Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl a fluorescence kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Physiologia Plantarum* 137, 188-199.
- Qaderi, M.M. and Reid, D.M. (2005). Growth and physiological responses of canola (*Brassica napus*) to UV-B and CO₂ under controlled environment conditions. *Physiologia Plantarum* 125, 247-259.
- Reigosa, M.J. and Weiss, O. (2001). *Fluorescence techniques*. In: Reigosa MJ (Ed) *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands 155-171.
- Ros, J. and Tevini, M. (1995). Interaction of UV-radiation and IAA during growth of seedlings and hypocotyl segments of sunflower. *Journal of Plant Physiology* 146, 295-302.
- Saile-Mark, M. and Tevini, M. (1997). Effects of solar UV-B radiation on growth, flowering and yield of central and southern

- European bush bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Ecology* 128, 115-125.
- Schansker, G., Toth, S.Z. and Strasser, R.J. (2006). Dark recovery of the Chl *a* fluorescence transient (OJIP) after light adaptation: The qT-component of non-photochemical quenching is related to an activated photosystem I acceptor side. *Biochimica et Biophysica Acta* 1757, 787-797.
- Schreiber, U. and Neubauer, C. (1987). The polyphasic rise of chlorophyll fluorescence upon onset of strong continuous illumination: II. Partial control by the Photosystem II donor side and possible ways of interpretation. *Zeitschrift für Naturforschung* 42c, 1255-1264.
- Strasser, R.J. (1978). The grouping model of plant photosynthesis. In: Akoyunoglou G (Ed) Chloroplast development. Elsevier, North Holland 513-524.
- Strasser, R.J. (1981). The grouping model of plant photosynthesis: heterogeneity of photosynthetic units in thylakoids. In: Akoyunoglou G (Ed) *Photosynthesis III. Structure and molecular organisation of the photosynthetic apparatus*. Balaban International Science Services, Philadelphia 727-737.
- Strasser, B.J. and Strasser, R.J. (1995). Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test. In: Mathis P (Ed) *Photosynthesis: from light to biosphere*. Kluwer Academic, Dordrecht 977-980.
- Strasser, R.J., Srivastava, A. and Govindjee, (1995). Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochemistry and Photobiology* 61, 32-42.
- Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M. and Greppin, H. (1997). How excitation energy distribution indicates the complexity of a developing and to the environment adapting photosynthetic apparatus. In: Greppin H, Penel C, Simon P (Eds) *Travelling Shot on Plant Development*. Rochat-Baumann, Imprimerie Nationale, Genève 99-129.
- Strasser, R.J., Srivastava, A. and Tsimilli-Michael, M. (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M, Pathre U, Mohanty P (Eds) *Probing photosynthesis: Mechanism, regulation and adaptation*. Taylor and Francis, London 443-480.
- Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A. (2004). Analysis of the chlorophyll *a* fluorescence transient. In: Papageorgiou G, Govindjee (Eds) *Chlorophyll *a* Fluorescence - a signature of photosynthesis and respiration*. Springer, The Netherlands 19, 321-362.
- Strid, A., Chow, W.S. and Anderson, J.M. (1994). UV-B damage and protection at the molecular level in plants. *Photosynthesis Research* 39, 475-489.
- Surabhi, G., Reddy, K.R. and Singh, S.K. (2009). Photosynthesis, fluorescence, shoot biomass and seed weight responses of three cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) cultivars with contrasting sensitivity to UV-B radiation. *Environmental and Experimental Botany* 66, 160-171.
- Teramura, A.H. and Sullivan, J.H. (1994). Effect of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plants. *Photosynthesis Research* 39, 463-473.
- Tevini, M. (1994). UV-B effects on terrestrial plants and aquatic organisms. *Progress in Botany* 55, 174-190.
- Tevini, M. (2004). Plant responses to ultraviolet radiation stress. In: Papageorgiou G, Govindjee (Eds) *Chlorophyll *a* Fluorescence - a signature of photosynthesis and respiration*. Springer, The Netherlands 19, 605-621.
- Tevini, M., Braun, J. and Fieser, G. (1991). The protective function of epidermal layer of rice seedlings against ultraviolet-B radiation. *Photochemistry and Photobiology* 53, 329-333.
- Toth, S.Z., Schansker, G., Kissimon, J., Kovacs, L., Garab, G. and Strasser, R.J. (2005). Biophysical studies of photosystem II-related recovery processes after a heat pulse in barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.). *Journal Plant Physiology* 162, 181-194.

- Tsimilli-Michael, M. and Strasser, R.J. (2008). In vivo assessment of stress impact on plants' vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of mycorrhization on host plants. In: *Varma A (Ed) Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology: Eco-function, Biotechnology, Eco-physiology, Structure and Systematics*. Springer, Berlin 679-703.
- Wang, G., Hao, Z., Anken, R.H., Lu, J. and Liu, Y. (2010). Effects of UV-B radiation on photosynthesis activity of *Wolffia arrhiza* as probed by chlorophyll fluorescence transients. *Advances in Space Research* 45, 839-845.
- Wilson, M.I and Greenberg, B.M. (1993). Protection of the D1 photosystem II reaction center protein from degradation in ultraviolet radiation following adaptation of *Brassica napus* L. to growth in ultraviolet-B. *Photochemistry and Photobiology* 57, 556-5563.

