

Ozmotik Basıncın Bazı Kültür Bitkilerinin Erken Gelişme Dönemindeki Etkileri

II. Prolin, Klorofil Birikimi ve Zar Dayanıklılığı

Rıza AVCIOĞLU¹ Gülcan DEMİROĞLU²
Mohammad Ali KHALVATI³ Hakan GEREN⁴

Summary

Effects of Osmotic Pressure on Early Growing Stages of Some Crop Plants II. Proline, Chlorophile Accumulation and Membrane Integrity

In this study conducted under the Hidroponic RAF system conditions in physiology laboratory of Field Crops Department of Agriculture Faculty, Ege University, effect of different osmotic pressures (0, 2, 4, 6, 8, 10 m Bar, NaCl) in growth medium on the proline, chlorophile a and b content and membrane integrities of different crop cultivars such as maize (*Zea mays*), alfalfa (*Medicago sativa*) and intermediate wheatgrass (*Agropyron intermedium*) at early growing stage. Results indicated that maise cultivars had the highest values and alfalfa followed them, whereas particularly at this stage intermediate wheatgrass could survive under these salt concentrations exceeding 4 mBar. Test results of proline, chlorophile-a and chlorophile-b contents were quite high in resistant crops and membrane integrity values were also in similar manner.

Keywords: Osmotic pressure, chlorophile content, membrane integrity

Giriş

Tarım alanlarının ve su kaynaklarının tuzlanarak kaybedilmesi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde uzun yıllardır uygulanan entansif tarımın doğal bir sonucu olarak ortaya çıkmıştır. Doğru olanı, bu uygulamalar yerine, daha sürdürülebilir tarım tekniklerine ve su kullanımına yönelmesidir.

¹ Prof. Dr, EÜZF Tarla Bitkileri Bölümü, Bornova-İZMİR avcioglu@ziraat.ege.edu.tr

² Arş. Gör. EÜZF Tarla Bitkileri Bölümü, Bornova-İZMİR

³ ZYM, EÜZF Tarla Bitkileri Bölümü, Bornova-İZMİR

⁴ Dr. EÜZF Tarla Bitkileri Bölümü, Bornova-İZMİR

Örneğin, çokyıllık bitkilerin ve ağaçların karışık kullanıldığı yetiştirme şekliyle (Agroforestry), üst toprak tabakalarında daha az sodyum ve diğer tuzların birikimi sağlanabilecektir. Ancak, bu tür bir yeni tarım sistemine geçmek uzun sürelerde gerçekleşebilecek zor bir işlemdir. Oysa tuza dayanıklı bitkiler geliştirmek ve tarımda kullanmak geçici, ancak en azından kısa sürede sonuç verecek pratik bir çözüm yolu olarak dikkati çekmektedir.

Son yıllarda bitki fizyologları ve ıslahçıları, kültür bitkileri çeşitlerinin tuza dayanıklılık açısından varyasyonlarına eğilmiş ve saptadıkları farklılıklardan yararlanarak, tuza dayanıklı çeşitler ortaya koymuşlardır (7,4). Bitki fizyologları ise bu dayanıklılığın moleküler temellerini açıklamaya çalışmaktadırlar (10,3), bitkilerin tuz, vb stres faktörlerine dayanıklılıkta iki yol izlediklerini, ilkinin "Kaçınma" olduğunu açıklamaktadır. Bu amaçla bitkiler, yapılarında morfolojik ve kimyasal değişiklikler gerçekleştirmektedirler. İkinci dayanıklılık mekanizması ise "Tolerans" dır, yani stres faktörünün etkisini azaltma çabasıdır ve bu amaçla hücre ve doku seviyesinde değişiklikler gerçekleştirilir. Örneğin, hücre duvarlarının güçlendirilmesi (membran dayanıklılığı), sekonder metabolit üretimi ve prolin gibi stres proteinlerinin sentezlenmesi bunların başında gelmektedir.

Bitkilerin, kök bölgesindeki tuz (NaCl) yoğunluğu, Na⁺un yapraklarda birikerek klorofil moleküllerinin Mg⁺⁺ ile yer değiştirmesini ve klorofillerin yapısını bozarak klorozis'i sonuçladığı bilinmektedir (1). Benzer koşullarda ve yine aşırı Na⁺ yoğunluğunda, bir stres proteini olan prolin'in hücrelerde üretimi ve birikimi artmaktadır (11).

Tuz stresine dayanıklılığın önemli bir göstergesi olan "Zar Dayanıklılığı" da, stres koşullarında bitki dokularında açığa çıkan serbest iyon miktarını saptayarak ölçülebilmekte, bu açıdan doku ekstraksiyonlarının elektriksel geçirgenliğini, mmhos/cm cinsinden ölçmek en sağlıklı göstergelyi oluşturmaktadır (9).

Materyal ve Yöntem

Araştırmada materyal olarak, daha önceki çalışmalarımızda tuza dayanıklı olarak saptanmış iki mısır çeşidi (*Zea mays*) (Frassino, Flash) ile değişik araştırmacıların tuza dayanıklı bitkiler olarak nitelendirdikleri mavi ayrık (*Agropyron intermedium*)'ın G-888 çeşidi ve bir yonca (*Medicago sativa*) çeşidi olan Circle kullanılmıştır.

Araştırma materyali, sera koşullarındaki su kültüründe (Hydroponic) RAF sistemi ve sırasıyla 0-2-4-6-8-10 mBar ozmotik basınç (3,69-7,37-11,06-

14,75-18,44 g/1000cc NaCl) ortamında çimlendirilerek yetiştirilmiş ve çimlenmenin tamamlanmasından 2 hafta sonra klorofil-a ve klorofil-b içerikleri ile prolin birikimi ve zar dayanıklılıkları saptanmıştır. Bitkiler Hydroponic RAF düzeneğinde, 14 saat/günlük fotoperiyodik gelişme koşullarında ve 25-33 °C sıcaklık + %50-65 nisbi nemde, 25.000-30.000 lux ışık şiddetindeki ortamda bırakılmışlardır.

Yetiştirme ortamındaki besin çözeltisi aşağıdaki kimyasallardan oluşmuştur. N 400 ppm (KNO_3 , $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $(NH_4)_2SO_4$); P 100 ppm (KH_2PO_4); K 600 ppm (KNO_3 , K_2SO_4)
Ca 500 ppm ($Ca(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$); Mg 150 ppm ($Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$)
S 75 ppm ($(NH_4)_2SO_4 \cdot K_2SO_4$); Fe 30 ppm , Zn 0.5 ppm, Mn 20 ppm, Cu 1 ppm, B 0.5 ppm, Mo 0.25 ppm, Co 0.05 ppm(Fertilion- Combi I)

6 farklı tuz konsantrasyonunun ana parselleri, bitki çeşitlerinin alt parselleri oluşturduğu deneme deseni 3 tekerrürlü split plot olarak gerçekleştirilmiş, her parselde (besleme tankında) 8 bitki yer almıştır. Denemeden elde edilen ölçüm değerleri Tarist programı kullanılarak istatistik açıdan analiz edilmiş, varyantlar LSD değerleri (%5) kullanılarak karşılaştırılmış ve bu değerler çizelgelerde ayrıca verilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Prolin içeriği:Değişik ozmotik basınçlarda(tuz yoğunluklarında), araştırma materyalini oluşturan bitkilerde saptanan prolin içerikleri Çizelge 1'de özetlenmiştir. Bu değerlere ilişkin varyans analizi, BasınçxBitki interaksyonunun önemli bulunduğunu ayrıca faktörlerin etkilerinin de istatistik açıdan önem taşıdığını ortaya koymuştur. Buna göre en yüksek prolin içeriği mısırın Flash çeşidinde ve 10 mBar ozmotik basınçta %2.482 olarak saptanmış, yoncanın Circle çeşidinde ise 0 mBar'da %0.309 ile en düşük değer elde edilmiştir, mavi ayrığın G-888 çeşidi de 0 mBar'da ve 2 mBar'da % 0.333 ve % 0.327 ile aynı grupta yer almıştır. Artan ozmotik basınç değerlerinde tüm bitkilerde, prolin birikimi artış eğilimi göstermekte, bu açıdan Flash ve Circle oldukça başarılı bir eğilim sergilerken, G-888 özellikle 4 mBar'dan sonra yaşamını sürdüremediğinden bir birikimi de söz konusu olmamaktadır.

Çizelge 1. Ozmotik Basıncın Bazı Kültür Bitkilerinin Prolin, Klorofil-a, Klorofil-b İçerikleri (%) ve Zar Dayanıklılığına (mmhos/cm) Etkisi

Bitkiler	Ozmotik Basıncı (mBar)						
	0	2	4	6	8	10	Ort
Prolin İçerikleri (%)							
<i>Zea mays</i> Frassino	0.440	0.582	0.783	0.918	1.171	1.617	0.918
<i>Zea mays</i> Flash	0.538	0.741	1.171	1.050	2.202	2.482	1.364
<i>A. intermedium</i> G-888	0.333	0.327	0.479	-	-	-	0.190
<i>Medicago sativa</i> Circle	0.309	0.371	0.681	1.480	1.894	2.104	1.139
Ortalama	0.400	0.505	0.778	0.862	1.317	1.551	-
LSD(%5)	Basıncı :0.042 Bitki :0.034 Basıncı x Bitki :0.084						
Klorofil-a İçerikleri (%)							
<i>Zea mays</i> Frassino	2.41	1.72	0.92	0.42	0.34	0.27	1.013
<i>Zea mays</i> Flash	2.91	2.05	1.82	0.94	0.74	0.58	1.506
<i>A.intermedium</i> G-888	2.24	1.38	0.72	-	-	-	0.720
<i>Medicago sativa</i> Circle	2.79	1.94	1.51	1.25	0.92	0.65	1.510
Ortalama	2.58	1.77	1.24	0.65	0.50	0.37	-
LSD(%5)	Basıncı:0.05 Bitki :0.04 Basıncı x Bitki :0.11						
Klorofil-b İçerikleri(%)							
<i>Zea mays</i> Frassino	1.803	1.093	0.799	0.322	0.214	0.162	0.732
<i>Zea mays</i> Flash	1.545	1.585	1.284	0.614	0.390	0.227	0.940
<i>A.intermedium</i> G-888	1.600	0.953	0.578	-	-	-	0.522
<i>Medicago sativa</i> Circle	1.598	1.606	1.091	0.675	0.492	0.310	0.962
Ortalama	1.636	1.309	0.938	0.403	0.274	0.170	-
LSD(%5)	Basıncı :0.051 Bitki :0.041 Basıncı x Bitki :0.101						
Zar Dayanıklılığı (mmhos/cm)							
<i>Zea mays</i> Frassino	2.15	3.41	5.45	7.13	10.54	13.70	7.06
<i>Zea mays</i> Flash	2.10	2.84	3.75	5.63	7.73	9.75	5.30
<i>A.intermedium</i> G-888	1.47	2.22	3.76	-	-	-	1.24
<i>Medicago sativa</i> Circle	2.25	4.03	3.61	5.56	6.13	7.73	4.88
Ortalama	1.99	3.13	4.14	4.58	6.10	7.79	-
LSD(%5)	Basıncı:0.23 Bitki :0.19 Basıncı x Bitki :0.46						

Bitkilerin tuz stresi koşullarında, sekonder metabolitler, farklı kimyasallar ve özellikle stres proteinleri (prolin, vb) üreterek hücrel osmotik basınçlarını yükselttikleri, bu sayede de besin ortamında ortaya çıkan yüksek

ozmotik basıncı dengeleyip, yaşamlarını sürdürebildikleri bilinmektedir (3). Bu açıdan daha fazla prolin oluşturabilen bitkilerin ve çeşitlerinin daha sağlıklı büyümesi ve strese dayanması (direnmesi) söz konusudur. Araştırma materyali içinde yer alan mısırın Flash çeşidi bu açıdan en başarılı seçenek olarak dikkati çekmekte ve onu yoncanın Circle çeşidi izlemektedir. Bu sonuçlar bazı mısır çeşitlerinin tuza dayanıklı olduğunu öne süren (8,4)'un bulgularını doğrulamaktadır. Ancak tuza dayanıklı bir bitki türü olarak bilinen mavi ayrığın olumsuz bulguları diğer araştırmacıların verileriyle uyumlu bulunmamaktadır.

Klorofil-a içeriği:Değişik tuz yoğunluklarında yetiştirilen bitkilerin klorofil-a içeriğine ilişkin bulgular Çizelge 1'de izlenmektedir. İstatistik analiz sonuçlarına ilişkin LSD değerleri, Basınç x Bitki interaksyonlarının önemli bulunduğunu, ayrıca bitki ve basınç faktörlerinin de önemli etki yaptığını ortaya koymakta, mısırın Flash çeşidinin %2.91'lik oranda 0 mBar basınçta en yüksek klorofil-a oluşturabildiğini göstermektedir. Mısırın Frassino çeşidi ise 10 mBar basınçta oluşturabildiği %0.27'lik klorofil-a değeri ile en sonda yer almaktadır. Ayrıca basınç değerleri arttıkça tüm bitki çeşitlerinde klorofil-a içeriği de hızla azalmakta, ancak mısırın Flash ve yoncanın Circle çeşitleri 10 mBar'a kadar diğerlerinden daha yüksek bir içeriği koruyabilmekte, mavi ayrığın G-888 çeşidi 4 mBar'dan sonra yaşamını yitirmektedir.

Bilindiği gibi klorofil oluşumu; bitkilerin Ototrofik yapılarını ortaya koyabilmelerinin, yani inorganik maddelerden organik maddeler üreterek büyüüp gelişebilmelerinin temel taşıdır. Bu nedenle, tuz (NaCl) stresi koşullarında Na^+ a direnir, klorofil moleküllerindeki Mg^{++} la yer değiştirmesini engellemeleri ve klorofil miktarını giderek arttırabilmeleri onların tuza dayanıklılığının en önemli bir göstergesi olmaktadır (5).

Klorofil-b içeriği: Değişik ozmotik basınçların, çalışmamızda incelenen bitki materyalinin klorofil-b içeriğine etkisini gösteren bulgular Çizelge 1'de izlenmektedir. Yapılan istatistik analizler, BasınçxBitki interaksyonunun önem taşıdığını, ayrıca faktörlerin ayrı ayrı etkisinin de önemli bulunduğunu göstermektedir. Buna göre yapılan değerlendirmeler, mısırın Frassino çeşidinin 0 mBar ozmotik basınç altında %1.803'lük klorofil-b içeriği ile en yüksek değere ulaştığını, 10 mBar'da mısırın Flash çeşidinin en düşük değere ulaştığını, mavi ayrığın G-888 çeşidinin ise 6 mBar basınçta yaşamını yitirdiğini ortaya koymaktadır. Tüm bitkilerde 4 mBar ozmotik basınç

sınırından sonra klorofil-b oluşumunun hızla gerilediği ve her basınç kademesinden sonra önemli düşüşün gerçekleştiği, diğer karakterlerde olduğu gibi, mısırın Flash çeşidi ile yoncanın Circle çeşidinin diğerlerinden daha yüksek klorofil içeriklerine sahip olduğu da Çizelge 1'den izlenebilmektedir.

Klorofil-b, bitkiler dünyasında yer alan 8 farklı klorofil molekülü grubundan birini oluşturmakta ve klorofil-a'dan sonra mezofil dokuda yer alan en büyük orandaki klorofil molekülü grubunu simgelemektedir. Klorofil-b'nin analizle saptanan % miktarı da tuza dayanıklılığın iyi bir göstergesidir. Bu bakımdan, klorofil-a içeriğine ilişkin yorumlarımızın klorofil-b için de aynen geçerli olduğu belirtilmelidir. Pek çok araştırma sonucu da bunu doğrulamakta ve tuz (NaCl)'un Na^+ 'un klorofil molekülleri üzerindeki Mg^{++} ile yer değiştirerek oluşturduğu yıkım etkisinin, klorofil-b'de de ortaya çıkacağı ve giderek artan tuz yoğunluklarında (ozmotik basınçlarda) dokularda daha az klorofil-b saptanabileceği gerçeğine ulaşılmaktadır (2, 6)

Zar Dayanıklılığı:Çalışmada incelenen son karakteri oluşturan zar dayanıklılığına (yıkım direncine) ilişkin bulgular Çizelge 1'de özetlenmiştir. İstatistiksel analiz sonuçları BasınçxBitki interaksyonunun önem taşıdığını, bunun yanında basınç ve bitki etkilerinin de önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin, mısırın Frassino çeşidi 10 mBar basınçta 13.70 mmhos/cm ile en yüksek değere ulaşırken, mavi ayrığın G-888 çeşidinin 0 mBar ozmotik basınçta 1.47 mmhos/cm değerine sahip olduğu ve 6 mBar basınçtan sonra yaşamını sürdüremediği gözlenmiştir.

Pek çok araştırmacı (9) tuz stresinin olduğu ortamda, hücre zarı yüzeyine biriken NaCl moleküllerinin iyonizasyonu sonucu oluşan Cl^- iyonlarının pH'yı hızla düşürdüğünü, bunun sonucunda zar proteinlerinin hidrojen bağlarının koptuğunu ve proteinlerden, protein pompalarından K^+ , Ca^{++} gibi iyonlarının da koparak ortama dağıldığını açıklamaktadır. Bunun doğal bir sonucu olarak zarın yıkımı oranında ortamda serbest iyon konsantrasyonu artmakta, elektriksel geçirgenliği ölçerek hücre zarı yıkımının ne düzeyde olduğu konusunda fikir edinme şansı doğmaktadır (2). Bu yöntemle saptanan bulgularımız, diğer karakterlerde de görüldüğü gibi, en yüksek dayanıklılık gösteren bitki çeşitlerinde daha yüksek elektriksel geçirgenlik değerleri saptandığını, bir başka deyişle ortama fazla miktarda iyon salabilen ve işlevlerini sürdürebilen güçlü zarların bu bitki çeşitlerinde bulunduğunu doğrulamaktadır.

Sonuç

Tuz yoğunluğunun arttığı ortamlarda yetiştirilen kültür bitkisi çeşitlerinin fizyolojik davranışları farklı gerçekleşmekte, artan tuz yoğunluğunda oluşan ozmotik basıncın olumsuz etkilerini giderebilmek amacıyla bitkiler prolin içeriklerini arttırmakta, klorofil a ve klorofil b içerikleri azalmakta, dayanıklılık gösterebilen bitkilerde ise özellikle hücre zarlarının dayanıklılığı önem taşımaktadır. Bu özellikleri inceleyerek seçilecek çeşitlerin, tuzluluk sorunu giderek artan bölgelerimizde denenmesi ve yetiştirilmesi tarımsal üretimimize önemli katkılar sağlayacaktır. Bu açıdan ilk aşamada mısır ve yonca üzerinde durulması önem taşımaktadır.

Özet

Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Fizyoloji Laboratuvarı Hidroponic RAF Sistemi koşullarında yürütülen bu çalışmada, büyüme ortamındaki 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 mBar'lık ozmotik basınçların mısır (*Zea mays*), yonca (*Medicago sativa*) ve mavi ayırık (*Agropyron intermedium*) gibi bitkilere ait çeşitlerin erken gelişme döneminde prolin, klorofil-a ve klorofil-b içerikleri ile hücre zarı dayanıklılıklarına etkisi incelenmiştir. Sonuçlar, mısır çeşitlerinin en iyi değerleri verdiğini, onları yoncanın izlediğini, mavi ayırığın ise özellikle bu dönemde 4 mBar'dan sonraki ozmotik basınçlarda (NaCl yoğunluğunda) yaşayamadığını ortaya koymuştur. İncelenen prolin ve klorofil değerleri dayanıklı çeşitlerde oldukça yüksek bulunmuş, zar dayanıklılığı da benzer sonuçlar vermiştir.

Anahtar Sözcükler: Ozmotik basınç, klorofil içeriği, zar dayanıklılığı

Kaynaklar

1. **Avcıoğlu, R. ve A., Gürel, 2000.** Bitki Fizyolojisi, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları Yayın No: 64/1. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Offset Basımevi, İzmir.
2. **Demiroğlu, G., M.A. Khalvati, and R., Avcıoğlu, 2001.** Effect of different salt concentrations on the resistance of Maize cultivars (2) Some Physiological characteristics and ion accumulation in early growth ; Turkish Journal of Field Crops:6 Number: 2, 55. İzmir.
3. **Edreva, A., 1998.** Molecular bases of stress in plants. Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri. 22-26 Haziran, İzmir.
4. **Greenway, H, and R., Munns, 1980.** Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes, Annual Review of Plant Physiology 30:149-190.
5. **Katsuhara, M., T.Mimura, and M., Tazawa, 1990.** ATP-regulated ion channels in the plasma membrane of a Characeae alga, Nitellopsis obtusa, Plant physiol., 93, 343-346.

6. **Khalvati, M.A., 2001.** Bazı mısır çeşitlerinin erken gelişme döneminde tuza dayanıklılıkları üzerinde araştırmalar, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış Yüksek Lisans Tezi), Bornova-İzmir:74
7. **Maas E. and G. J., Hoffman, 1977.** Crop salt tolerance-current assesment, J. Irrig. Drain. Div. ASCE, 102 (IR2): 115-134.
8. **Navari-İzzo, R., F.Bottazzi, and A., Ranieri, 1988.** Effect of water stress and salinity on sterols in *Zea mays* shoots, *Phytochemistry*, 27: 3109-3115.
9. **Poljakoff-Mayber, A. and Gale, J., 1975,** *Plants in saline environments*, springer-verlag, Berlin.
10. **Salisbury, F. B. and C. W., Ross, 1992.** *Plant Physiology*. Wadsworth Pub. Com. Inc. Belmont, California-USA.
11. **Soldatini, G. F. and A., Giannini, 1985.** The effect of water and salt stress on the fixation of ¹⁴CO₂ and on amino acid metabolism in seedlings of *Zea mays* L. *1Agrochimica*: 29, 74