



PATOJENLERE KARŞI BİTKİLERDE SAVUNMA VE ANTIOKSİDANLAR

Esra KOÇ^{*}, A. Sülün ÜSTÜN

Ankara Üni. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Ankara

ÖZET

Bitkiler virus, bakteri, protozoa, nematod, fungus gibi patojenik organizmaların ve çeşitli çevresel koşulların olumsuz etkilerine maruz kalmaktadırlar. Bitkiler patojen saldırılarından kendilerini koruyabilmek için birçok savunma mekanizması geliştirmişlerdir. Bu savunma sırasında patojen hidrolitik enzim, toksin gibi kimyasal bileşikler kullanırken bitkiler ise fiziksel bariyerlerin yanısıra, savunma peptitleri, antioksidanlar, sekonder metabolitler ve antimikrobiyal özellikteki proteinler (Patojen ile bağlantılı proteinler (PR))'in dahil olduğu çok sayıda savunma maddesine sahiplerdir. Antioksidanlar hücrel hasarların engellenmesinde görev yapmaktadırlar. Bu savunmada görev yapan bileşikler patojenlerin neden olacağı zararı minimum düzeye indirmektedirler.

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar; Bitki; Savunma; Patojen.

DEFENCE AGAINST PATHOGEN IN PLANTS AND ANTIOXIDANTS

ABSTRACT

Plants are constantly exposed to a great variety of potentially pathogenic organisms, such as viruses, fungi, bacteria, protozoa, nematodes, and can be affected by adverse environment conditions. Plants develop many defence mechanisms to provide themselves from the pathogen attack. When considering plant and pathogen interactions, while the pathogen uses a series of chemical compounds, such as hydrolytic enzymes and toxins, plants have numerous defense substances, which include the synthesis of defense peptides, antioxidants, secondary metabolites, and proteins (Pathogenesis-related proteinler (PR)) with antimicrobial properties besides various forms of physical barriers. Antioxidants are involved in the prevention of cellular damage. This defensive compounds have the ability to decrease the harm, that the pathogen causes, to the minimum.

Keywords: Antioxidants; Plant; Defence; Pathogen.

1.GİRİŞ

Bitkiler patojen saldırılarından kendilerini korumak için birçok savunma mekanizmasına sahiptir. Bu savunma mekanizmaları bazı patojenler için caydırıcı bir rol oynamasına karşın bazı patojenler için etkisiz kalmaktadır. Bunun sonucunda da hastalıklar ortaya çıkmaktadır.

Bakteriler, funguslar, virüsler ve nematodlar gibi birçok organizma için besin kaynağı olan bitkiler, patojenlerden soyutlanamazlar fakat, kaçınılmaz olan patojen saldırılarını algılamak ve karşı koymak için evrim sürecinde uygun savunma stratejileri geliştirmişlerdir. Bitkiler patojen istilasına etkili bir biçimde durdurabilmek için yapılarında varolan fiziksel ve kimyasal engeller kadar, patojen atağı ile aktive olan, uyarılabilir savunma tepkilerini de kullanırlar.

Bitkiler farklı stres faktörlerine karşı aynı veya benzer savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bitkiler stresi ya tolere etmekte ya da ondan kaçınmaktadırlar. Stres faktörleri yapısal ve metabolik hasarlara neden olmaktadır. Bu hasarlar tersinir ya da geri dönüşümsüz olabilirler. Bu yüzden bitkiler sekonder metabolitlerin yanısıra başka savunma yolları geliştirmişlerdir. Bunlar dehidrin veya PR proteinleri gibi spesifik proteinler, fenilpropanoid yolunun aktivasyonu, reaktif oksijen türlerin oluşumu, antioksidanların aktivasyonu, thionin, thaumatin, kitinaz, glukanaz gibi PR proteinleri, fitoaleksinler, düşük molekül ağırlıklı fenolikler, savunma enzimleri ve düşük sıcaklık, ağır metaller, ozmotik stres, ozon ve patojen gibi stres faktörlerine karşı sentezlenen diğer savunma faktörleri, programlanmış hücre ölümü olan HR, SAR vs.'dir [1].

Bitkilerin hastalık etmenlerine karşı oluşturdukları savunma mekanizmalarından aşağıda kısaca bahsedilmektedir:

2. GENEL (TEMEL) DAYANIKLILIK

Birçok bitki türü bazı hastalıklara karşı doğal olarak dayanıklılık gösterirler. Genelde bir bitkide hastalık oluşturabilen bir etmen başka bir bitkide herhangi bir hastalık oluşturmayabilir. Bu durum genel dayanıklılık veya temel dayanıklılık olarak adlandırılmaktadır. Bu tip dayanıklılık uzun ömürlüdür. Genel dayanıklılığın mekanizması birçok durumda bitkide patojen sporlarının gelişmesini, hücre ve dokuları enfekte etmesini önleyici olmasından kaynaklanmaktadır. Bitkideki kütikula, hücre çeperinin yapısı, fenolik bileşiklere ya da hastalık etmeni tarafından uyarılabilecek bir savunma sistemine sahip olması, o bitkinin hastalığa karşı dayanıklı olmasını sağlamaktadır [2].

3. ÖZEL (SPESİFİK) DAYANIKLILIK

Konukçu bitkiler hastalıkların oluşturacağı zararlar engel olmak için dayanıklılık genlerini geliştirmişlerdir. Dayanıklılık geninin ürünü olan proteinler hastalık etmeninin bitkiye girmesi sırasında salgıladığı sinyal moleküllerini tanıma yeteneğine sahiptirler. Bu tanıma işlemi bitkinin savunma sisteminin harekete geçirilmesi bakımından zorunludur. Sonuçta bitki savunma mekanizmasının uyarılması antimikrobiyal etkiye sahip birçok proteinin bitkide üretilmesine neden olmaktadır [2].

Genel dayanıklılık ile özel dayanıklılık arasındaki en önemli fark, genel dayanıklılığın özel dayanıklılığa oranla çok daha uzun ömürlü olmasıdır.

Bitki kendisini patojen saldırısından koruyabilmek için şu özelliklere sahip olmalıdır:

- Bitki patojenin kendisini konukçu olarak tanımasına fırsat vermemelidir
- Bitki patojenin içeri sızmasını önleyici silahlara sahip olmalıdır
- Bitki içeriye girmeyi başarmış patojenlerin gelişmesini önleyebilecek donanıma sahip olmalıdır

Bitki patojen tarafından etkilense bile patojenin daha fazla yayılarak tüm bitkiyi öldürme olasılığını en aza indirebilecek sistemlere sahip olmalıdır [2].

Yaralanma, patojenik olmayan organizmaların yanısıra virüsent olmayan ve virüsent patojenlerle enfeksiyon sonrasında bitkilerde genel olarak bir savunma cevabı meydana gelmektedir. Virüsent olmayan bir patojen ile enfeksiyon sonrasında virüsent patojenler ve nonpatojenlerle interaksyonda meydana gelmeyen hipersensitif bir cevap (HR) oluştururlar. Bu yüzden farklı iki sinyal yolu meydana gelmektedir. Bunlardan biri çeşitli uyarımlara karşı oluşan genel bir savunma cevabı ve diğeri avirüsent patojenlere karşı oluşan HR'dir .

Bitkilerde savunma cevaplarının bir bölümü çeşitli fonksiyonel gruplara ayrılmaktadır [3]. İlk olarak Fenilalanin amonyum liyaz (PAL), Şalkon sentaz (CHS) ve Şalkon izomeraz gibi fenilpropanoid metabolizmasıdır. Bu metabolizmanın birçok son ürünü gibi fitoaleksinler, hücre duvarı yapısına katılan lignin gibi doğrudan antimikrobiyal etki göstermektedir. Fenilpropanoid ürünleri farklı biyotik ve abiyotik uyarımlara karşı bitki savunmasında farklı rollere sahiptirler.

İkinci savunma cevabı hidroksprolin-zengin glikoproteinler (HRGPs)'in sentezi ve peroksidazlardır. Bu savunma genlerinin ürünleri patojenin yayılmasını engelleyen yapısal bariyerlerin sentezlenmesinde görev yapmaktadırlar.

Üçüncü savunma cavabını ise Kitinaz, Glukanaz, Pektinaz enzim sentezleri oluşturmaktadır. Bu enzimler savunma cevaplarının uyarılmasında görev yapan bitki hücre duvarından endogenik elisitörlerin (uyarıcı) serbest kalmasını ve fungusun hücre duvarının parçalanmasını sağlamaktadırlar.

Son olarak çeşitli bitki patojen sistemlerinde lipoksigenaz (LOX) aktivitesinde meydana gelen artıştır. LOX ürünleri jasmonik asit gibi patojen ve yaralanmalara karşı oluşan genel cevaplardandır [3].

Ayrıca bitki dokularının UV, yaralanma, don vs. streslere maruz bırakılması da fitoaleksinin sentezlenmesine neden olmaktadır [4].

Bitkiler ve patojenler arasındaki interaksyonda ya başarılı bir şekilde enfeksiyon yada başarılı bir şekilde direnç meydana gelmektedir [5]. Direnç sırasında virus, bakteri veya funguslar ile enfeksiyon sonucunda enfekte olmuş hücrelerin etrafında bir dizi lokalize cevaplar meydana gelmektedir. Bu cevaplara hücre ölümüne neden olan oksidatif stres de dahildir. Bu şekilde patojenler ölü hücrelerde hapsolmakta ve enfeksiyon bölgesinden bitkinin diğer bölgelerine yayılmaları engellenmiş olmaktadır. Ayrıca lokal cevaplar sırasında hücrelerin hücre duvarlarının yapısında değişimler meydana gelmekte böylece patojenin hücre içine girişi de engellenmektedir. Fitoaleksinin, PR (Patojen ile bağlantılı- proteinler) proteinleri gibi antimikrobiyal bileşiklerin *de novo* sentezi ile de patojenlerin hücreleri enfekte etmesi sırasında patojene karşı bir direnç oluşturulmaktadır. Enfeksiyon sonrasında oluşan sinyaller ile henüz enfekte olmamış bitki bölgelerinde gen ekspresyonu da uyarılarak lokal cevapların oluşması sağlanmaktadır.

Sistemik direnç (saldırıya uğrayan bitkinin enfeksiyon bölgesinden uzak dokularda savunma kapasitesini artırması) sırasında fitoaleksinin ve PR proteinlerinin üretimi gerçekleşmektedir. Fitoaleksinler lokal cevapların başlıca antimikrobiyal bileşikleriyken PR proteinleri hem lokal hem de sistemik direnç sürecinde meydana gelmektedirler [5].

Uyarılabilir bitki savunma mekanizması fitoaleksinler, litik enzimler, okside olan maddeler, hücre duvarı lignifikasyonları ve patojenite ile ilgili birkaç proteini de kapsayan antimikrobiyal maddeleri içermektedir.

Bitkilerde antimikrobiyal bileşikler genel olarak iki gruba ayrılmaktadır; Fitoantisipin ve fitoaleksinerler [5]. Fitoantisipinler enfeksiyon öncesinde bitkilerde var olan veya enfeksiyon sonrasında da meydana gelen düşük molekül ağırlığına sahip olan antimikrobiyal bileşiklerdir. Fitoaleksinerler ise bitkiler abiyotik strese veya mikroorganizmalara maruz kaldıktan sonra bitkilerde hem sentezlenen hem de biriken düşük molekül ağırlığına sahip antimikrobiyal bileşiklerdir. Fitolakesinerler enfeksiyon bölgesinde birikirler ve *in vitro* ortamda bakteri, fungus gelişimini inhibe etmektedirler. Bu yüzden fungus ve bakteri tarafından meydana gelecek olan hastalıklara karşı savunma bileşikleri olarak kabul edilmektedirler.

PR proteinleri bitkilerde patojen enfeksiyon sonucu veya buna benzer stres koşullarında sentezlenen proteinlerdir. Sistemik direnç oluşturmaktadırlar. PR proteinleri patojenin saldırısını, yayılmasını, çok yönlülüğünü sınırlandırmakta ve yaralanma, incinme, yüksek osmotik basınç gibi diğer stres koşullarında da oluşmaktadırlar. PR proteinlerinin ilk kez TMV (Tütün Mozaik Virüsü) ile enfekte edilen tütün yapraklarında yapılan çalışmada hipersensitif bir reaksiyon sonucunda meydana geldiği tespit edilmiştir [6].

PR proteinleri ilk olarak enfeksiyon sonrasında yüksek bitkilerde keşfedilmiştir. PR proteinlerinin şimdiye kadar 14 familyada 40 türü bulunmuştur [6] (Tablo 3.1). Bu proteinler interselüler alanlarda lokalize olan asidik PR proteinleri ve genellikle vakuolde intraselüler alanlarda biriken fonksiyonel olarak asidik PR proteinlerine benzeyen fakat farklı moleküler ağırlıklarına ve aminoasit dizilerine sahip bazı proteinler olmak üzere iki büyük gruba ayrılmaktadır [7].

PR proteinleri sistemik dirençde bir marker olarak kabul edilmektedir. Fitoaleksinerler gibi *in vitro* ortamlarda antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahiptirler [7].

Birçok çalışma ile başlıca iki sinyal yolu olduğu tespit edilmiştir [8]. Patojen saldırılarına karşı direnç yolu olan SA (Salisilik Asit)'e bağlı sistemik direnç ve herbivorlara karşı etkili olan JA (Jasmonik Asit)'e bağlı direnç.

Bitkiler herbivor ve hastalıkların etkisini azaltabilmek için de çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Böcek veya patojen saldırıları bitkilerde savunma mekanizmalarını harekete geçirecek olan endojenik hormonların birikimine neden olmaktadır. SA, JA ve Etilen gibi spesifik bitki hormonları çoğu patojen ve zararlı böceklere karşı sentezlenmektedirler. Patojenle enfeksiyon sonucunda savunma mekanizmalarını harekete geçirecek olan sinyaller oluşmakta ve buna bağlı olarak da lokal ve sistemik

antimikrobiyal savunma oluşmaktadır. Üç bitki hormonu SA, JA ve etilen hormonları patojenle enfeksiyon sonrası bitkilerde sinyal olarak görev yapmaktadırlar [8].

Tablo 3. 1.

PR protein Familyası [6]

Familya	Üye tipi	Özellikleri
PR-1	Tütün PR-1a	Bilinmiyor
PR-2	Tütün PR-2	B-1,3 Glukanaz
PR-3	Tütün P,Q	Kitinaz I, II ,IV,V, VI,VII
PR-4	Tütün R	Kitinaz tip I,II
PR-5	Tütün S	Thaumatinn benzeri
PR-6	Domates inhibitör I	Proteinaz İnhibitörü
PR-7	Domates P ₆₉	Endoproteinaz
PR-8	Salatalık Kitinaz	Kitinaz III
PR-9	Tütün (lignin –oluşumu peroksidaz)	Peroksidaz
PR-10	Maydanoz-PR1	Ribonukleaz benzeri
PR-11	Tütün sınıf V kitinaz	Kitinaz tip I
PR-12	Turp R _s – AFP3	Defensin
PR-13	Arabidopsis THI2-1	Thionin
PR-14	Arpa LTP4	Lipid- transfer protein

SA, JA ve etilen patojen enfeksiyonu veya herbivorların oluşturduğu yaralanmayla birikirler ve uzak ya da kısmen birlikte savunma bağlantılı genleri aktive etmektedirler. Direnç genleri transkriptleri, enfekte hücrede ve çoğunlukla etrafındaki hücrelerde birikirler. Bu genler PR proteinleri olarak adlandırılan kitinaz, glukanaz, defensin, peroksidaz ve fitoaleksinin sentez yolunda yer alan enzimleri kodlamaktadırlar [8].

Eksojen uygulanan SA'in, gen ekspresyonu ve fitoaleksinler ile aralarında PR proteinlerinin de yer aldığı birçok proteinin sentezini uyardığı bildirilmiştir. SA birikimi, bitki dokularında patojene karşı hem lokal savunma tepkilerinin oluşturulmasında, hem de Sistemik kazanılmış direnç (SAR)'in kurulmasında gereklidir. Tütün yaprakları TMV inoküle edildiğinde, SA içeriğinin 180 kat arttığı bulunmuştur. SA'e

bağlı bir direnç yolu olan SAR en fazla uyarılan dayanıklılık mekanizması olarak kabul edilmektedir. SA bitkilerde hareketli bir molekül olmasına karşın, SAR için mobil bir sinyal olma özelliği göstermemektedir. Uzun mesafe taşınabilen sinyallerin (lipid türevli sinyaller) algılanması, enfekte olmamış dokularda SA birikimine neden olur; bunun sonucu olarak da aralarında PR genlerinin de yer aldığı savunma genlerinin aktivasyonu gerçekleşmektedir [9].

Bitkiler patojenden kaynaklanan bazı molekülleri (elisitörleri) algılayarak savunma tepkilerini başlatırlar. Bu tür biyotik uyarıcılar, glikoproteinlerin dahil olduğu proteinler, polifenoik yağ asitleri, kitin ve β -1,3 glukanlardan türetilen fragmentler gibi patojenlerden kaynaklanan ve spesifik olmayan elisitörlerdir [9].

Savunma tepkimelerinin ilk ve önemlisi, direnç genleri tarafından spesifik patojenlerce kodlanan avirulens (Avr) proteinlerin algılanmasıdır [9]. PR genleri ile oluşturulan savunma tepkisi (aynı zamanda gen için-gen direnci), saldırı bölgesinde bulunan hücrelerde hızlı nekrozların (hipersensitif tepki veya HR) ortaya çıkmasına neden olmakta ve patojenin o bölgede etkin bir şekilde sınırlandırılması ile sonuçlanmaktadır. Yani bitkilerde patojen interaksyonu süresince HR'nin dahil olduğu birçok savunma mekanizmaları aktif hale gelmektedir.

HR hastalıklara direnç sağlamak için hızlı bir hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır. Programlanmış hücre ölümünde enfeksiyon bölgesinde ve çevresinde hücre ölümü gerçekleştirilerek patojenin yayılması engellenmektedir [9].

Biyolojik olarak, birkaç uyarılmış sistemik savunma sistemi detaylı olarak tanımlanmıştır [9]. Bunlar nekrotik patojenler tarafından tetiklenen SAR patojen olmayan rizobakter strainlerinin köklerde kolonize olmasıyla aktive olan uyarılmış sistemik direnç (ISR) ve böceklerin beslenmesine bağlı olarak ortaya çıkan doku hasarlarıyla uyarılan yara uyarımlı savunma sistemlerini kapsamaktadır. Uyarılmış savunma tepkileri, iç bağlantıları sinyal transdüksiyon yolları ağı ile düzenlenmektedir.

Patojenler de bitkilerin bu savunma mekanizmalarına karşın bitki dokuları içerisinde ilerlemelerini sağlayacak sistemler geliştirmişlerdir [10]. Bunlardan birisi hücre duvarının yapısında bulunan yapısal bileşikleri parçalayan hidrolitik enzimler (Kitinaz, Pektinaz, Selülaz, Hemiselülaz, Ligninaz) bir diğeri ise toksinlerdir.

Bitkiler ise patojenin bu virülens faktörlerine karşı önemli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlar içinde Antioksidanlar, Fenolikler, Fitoaleksinler, Savunma peptitleri ve proteinleri, HR, SA, JA vs. bulunmaktadır.

4. ANTIOKSİDANLAR

Serbest radikaller (Hidroksil radikali , süperoksit radikalleri vs.) oksidatif fosforilasyon sonucu meydana gelirler ve oksidatif hasarlara neden olmaktadır. Serbest radikaller yaşam için gereklidir. Elektron transferi enerji üretimi ve pek çok diğer metabolik işlevde temel oluşturur. Ama zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olmaktadır. Normal koşullar altında bu serbest radikallerin yıkımı ve üretimi bitki hücresi içinde düzenlenmektedir. Buna rağmen çevresel stresler (yüksek ışık yoğunluğu, herbisitler, patojen saldırılar, kuraklık, tuzluluk, hava kirliliği vs.) sonucunda serbest radikaller ile antioksidan sistemin aktivitesi arasında denge bozulmakta ve protein denaturasyonu, lipid peroksidasyonu, DNA mutasyonlarını içine alan oksidatif hasarlar meydana gelmektedir [11].

Serbest radikal, atomik yada moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROS)'de denilmektedir [12].

Bu yüksek aktiviteye sahip bileşikler (serbest radikaller) kirli havalarda, radyasyonda (ışınım), bitki koruma ilaçlarında, bozulmuş gıdalarda ve normal metabolik süreçte bulunurlar. Serbest radikaller hücrelere saldırıp tahrip etmektedirler. İlk saldırıda öncelikli olarak yeni bir serbest radikal oluşmakta ve kontrol edilemeyen zincirleme bir reaksiyon başlamaktadır.

Reaktif oksijen türleri redüksiyon ve oksidasyon olayları sırasında kloroplast, mitokondri gibi hücre organellerinde elektron taşınımı sonucu bitki hücrelerinde düşük düzeylerde meydana gelmektedirler [13].

ROS aslında patojen ve herbivor saldırılarına karşı bitkinin savunma cevabında önemli bir yere sahip olan bileşiklerdir. Oksidatif yaralanma, aktif programlanmış hücre ölümü ve PR proteinleri gibi antimikrobial savunma süresince meydana gelmektedirler. Son yıllarda patojen-bitki interaksyonu üzerinde yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerini ortadan kaldıran Askorbat peroksidaz, Katalaz gibi enzimlerin etkili olduğu ortaya konmuştur. Bitki dokularının patojenle inokulasyonu veya hücre kültürlerine mikrobiyal uyarıcıların uygulanması Hidrojen Peroksit (H_2O_2)'in hızlı bir şekilde

oluşturulması ile karakterize edilen oksidatif yaralanmaya neden olmaktadır H_2O_2 hipersensitif hücre ölümü için bölgesel sinyal olarak görev yapmaktadır. Herbivorlar sonucu meydana gelen yaralanma sonucu sistemin meydana gelmektedir. Sistemin plazma membranında bulunan reseptörlere bağlanarak hücre içine sinyal göndermektedir. Sinyal sonucu JA sentezlediği, JA ve H_2O_2 'de domates yapraklarındaki mezofil hücrelerindeki savunma genlerini uyardığı tespit edilmiştir [14- 15- 16].

Reaktif oksijen türlerinin etkileri uzun süreli olarak kabul edilmekte ve canlılarda hastalıklara, yaşlanmaya neden olmaktadır. ROS geçici olarak meydana geldikleri gibi enzimatik olarak da meydana gelmektedirler. ROS'nin enzimatik kaynakları hem ekstraselüler hem de intraselülerdir [16]. Büyük ROS kaynakları hücre duvarlarında bulunan peroksidazlar ve aminoksidazlar, plazma membranında bulunan NADP oksidaz, mitokondri, kloroplast, peroksizomlarda bulunan intraselüler oksidaz ve peroksidazlardır (Tablo 4.1.) [17].

Bitkilerde hastalık etmenin oluşturduğu sinyalin algılanması bitkinin savunma mekanizmasını aktif hale getirmektedir. Bitki savunmasında aktif oksijen olarak adlandırılan ürünler bitki hücresi tarafından üretilmeye başlanır. Reaktif oksijen ürünleri arasında H_2O_2 ve süperoksit anyonları sayılabilir. Aktif oksijen türevleri bitkide en az dört değişik role sahiptir [2]:

Reaktif oksijen türleri ilk olarak hipersensitif hücre ölümüne neden olmaktadır. Hipersensitif, bitkinin sadece patojenin enfekte ettiği bölgedeki hücrelerini öldürmesi olayıdır. Hücre ölümü patojenin sadece enfeksiyonun olduğu bölgede lokalize olmasına neden olmakta ve bu şekilde hastalığın yayılması önlenmektedir.

Reaktif oksijen türevlerinin ikinci bir fonksiyonu hastalık etmenine karşı doğrudan öldürücü etkide bulunmasıdır. Bilindiği gibi H_2O_2 yaraların enfekte olmasını önlemek ve çevreyi mikroplardan arındırmak için kullanılmaktadır [2].

Reaktif oksijenin bir başka fonksiyonuda lignifikasyonda rol oynamasıdır. Lignin oluşumu bitkilerde enfeksiyondan sonra hücre duvarının sağlamlaştırılması bakımından önemlidir. Bitkide lignin yapılması da hidrojen peroksit yapımını gerektirir. Gereksevim duyulan hidrojen peroksit bitki hücresinde enfeksiyona tepki olarak üretilen H_2O_2 'dir [2].

Tablo 4.1.

Bitkilerde ROS oluşumu, lokalizasyonu ve uzaklaştırılması [17]

Mekanizma	Lokalizasyon	Başlıca Reaktif oksijen türleri
Oluşum (ürün)		
Fotosen. ET ve PSI-II	Kloroplast	O_2^-
Solunum ET	Mitokondri	O_2^-
Glikolat Oksidaz	Peroksizom	H_2O_2
NADPH oksidaz	Plazma Membranı	O_2^-
Yag asidi β -oksidasyonu	Peroksizom	H_2O_2
Oksalat Oksidaz	Apoplast	H_2O_2
Ksantin Oksidaz	Peroksizom	O_2^-
Peroksidaz ,Mn ve NADH	Hücre Duvarı	H_2O_2, O_2^-
Amino oksidaz	Apoplast	H_2O_2
Parçalama		
Süperoksit dismutaz	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	O_2^-
Askorbat peroksidaz	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2
Katalaz	Peroksizom	H_2O_2
Glutasyon Peroksidaz	Sitozol	$H_2O_2, ROOH$
Peroksidaz	Hücre duvarı, Sitozol, Vakuol	H_2O_2
Askorbik Asit	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2, O_2^-
Glutasyon	Kloroplast, Sitozol, mitokondri, Apoplast	H_2O_2
α -Tokoferol	Membranlar	$ROOH, O_2^-$
Karetenoidler	Kloroplast	O_2

Reaktif oksijen türlerinin diğer bir rolü de bitkide sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır. Hastalık etmeninin enfeksiyonu sonucunda bitki hücresinde üretilen H_2O_2 veya öteki aktif oksijen bileşikleri bitkinin dayanıklılık sistemini uyarıcı etkide bulunmaktadır. Reaktif oksijen sadece enfekte olmuş bölgelerdeki genleri uyarmakla kalmaz, aynı zamanda sistemik doku olarak bilinen ve bitkinin hastalık tarafından henüz etkilenmediği bölgelere giderek oradaki genlerin de aktif hale gelmesini sağlamaktadır. Bu olay SAR olarak bilinir. SAR sistemi uyarılmış bitkide, bundan sonraki enfeksiyonlara karşı dayanıklılık son derece artar. Bu olay bir yerde bitkinin aşılınması ile eşdeğerdir [18-19].

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir [12].

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Enzimatik olmayan antioksidanlar vitamin A, C, E, KoenzimQ10, Selenyum, Çinko gibi mineraller, Melatonin hormonu, Kareteneoidler; Likopen, α -Karoten, β -Karoten, Lutein, Zeaksantin, Astaksantin, Flavonoller; Quercetin, Rutin, Tanninlerdir. Enzimatik antioksidan grubunda ise Katalaz (CAT) [H_2O_2 'nin moleküler oksijene dönüşümünü katalizler], Askorbat peroksidaz (APX) [H_2O_2 'nin su ve monodehidroaskorbata dönüşümünü katalizler], Glutatyon redüktaz (GR) [okside glutatyonu (GSSH) indirgenmiş Glutatyona (GSH) katalizler] ve Glutatyon peroksidaz [hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzim], Glutatyon S-transferaz [başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar] bulunmaktadır [20].

Patojenle enfeksiyon sırasında elisitör ve reseptör arasındaki interaksiyon sonucunda hızlı iyon akışları ve oksidatif stres meydana gelmektedir. Erken cevap oluşması için dolaylı yoldan heterotrimerik G proteine ihtiyaç vardır. G proteinleri plazma membranında lokalize olmuştur ve bitkide patojene karşı savunma sırasında hem Ca kanallarının aktivasyonunu hem de membrana bağlı NADPH oksidaz'ın aktivasyonunu uyarmaktadır [21].

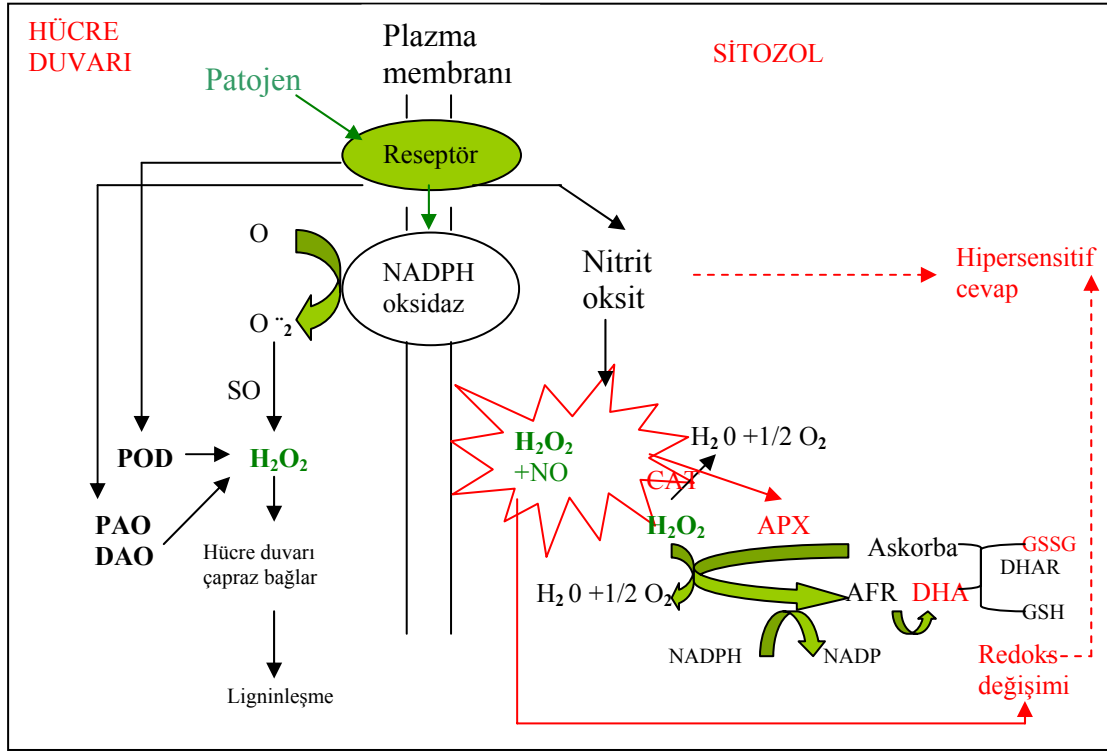
Bitkilerde ve diğer aerobik organizmalarda enerji üretimi sırasında oksijen gereklidir. O_2 'nin H_2O 'ya indirgenmesi süresince ROS meydana gelmektedir. ROS birçok hücrel kompartımanda meydana gelebilirler. Stres koşullarında kuraklık, tuz stresi, ozon, yüksek ve düşük sıcaklıklar, ayrıca kalvin döngüsünde NADP'nin indirgenmesi, elektron transferi, lipid katabolizması, fotosolunum olaylarında olmaktadır [22].

Bitki hücrelerinde ROS kloroplast, mitokondri, plazma membranı, apoplastik alanlarda meydana gelmektedir. Peroksizomlarda da normal metabolizma süresince süperoksit radikalleri meydana gelmektedir. Meydana gelen ROS Süperoksit dismutaz (SOD) ve GR gibi antioksidan savunma sistemi tarafından etkisiz hale getirilmektedir [23].

Yüksek sitotoksik özelliğe sahip olan ROS'ların oluşumu ve birikimi bitki hücresinde sıkı kontrol altındadır. Bitkiler hücreleri oksidatif hasardan savunma mekanizmaları ile korumaktadırlar. Bitki savunmasında ROS 'lar sinyal olarak da görev yapmaktadırlar: Örneğin H₂O₂ SA'ı uyararak savunmada görev yapan PR-1 proteinlerinin sentezinden sorumlu olan PR-1 genlerini uyarılmaktadır. Ayrıca H₂O₂ bitki savunmasında önemli bir yere sahip olan Glutasyon peroksidaz, GR gibi antioksidanların sentezinden sorumlu olan genler için de bir uyarıcı olarak görev yapmaktadır [24]. Yani ROS türleri hücre hasarlarına neden olmalarına karşın bitkilerde sinyal molekülü olarak da görev yapmaktadırlar. Düşük konsantrasyonlarda savunma ile ilgili genlerin uyarılmasında, savunma cevaplarının oluşmasında görev yapmasına karşın yüksek konsantrasyonlarda hücre hasarlarına, hücre ölümlerine neden olmaktadır.

Patojenle enfeksiyon sonucunda bitki hücresinde oksidatif strese neden olan Nitrik oksid (NO) ve ROS meydana gelmektedir. Bu ROS patojenin hücre içine girişini engellediği gibi Hipersensitif cevap (HR)'ın oluşumunda görev yapan savunma sistemlerindeki enzimlerin (SOD, APX vs.) aktifleşmesi ve dolayısıyla ROS'lerinin etkisiz hale getirilmesi, GSSG oluşumu, ligninleşmenin meydana gelmesi, patojenlerin enfeksiyonu sonucunda NO meydana gelmesi ki NO programlanmış hücre ölümü süresince askorbat peroksidazın ifade edilmesinde dolayısıyla askorbat ve glutasyonun azalması gibi olaylarda anahtar olarak görev yapmaktadır (Şekil 4.1.) [25].

Stres koşulları altında hücreleri korumak ve ROS düzeylerini kontrol altında tutabilmek için bitki dokuları ROS'ni ortadan kaldıran SOD, CAT, Peroksidaz, Askorbat Peroksidaz vs. çeşitli enzimler ve düşük moleküler ağırlığa sahip antioksidanları (Askorbat, Glutasyon, Fenolik Bileşikler, Tokoferoller vs.) içermektedirler [26].



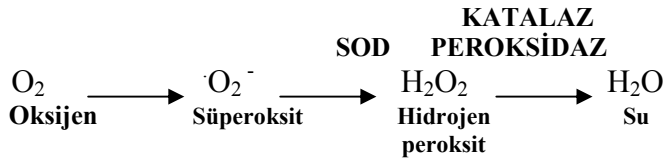
Şekil 4.1. HR cevap süresince Antioksidan sistemde meydana gelen değişimler [25].

O_2^- ve H_2O_2 'in verimli bir şekilde yıkımı için çeşitli antioksidan enzimlerin aktivasyonu gerekmektedir. Bitki hücrelerinin farklı kompartımanlarında meydana gelen süperoksit SOD tarafından H_2O_2 'e dönüştürülmektedir. Kloroplast gibi organellerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan askorbat hızlı bir şekilde O_2^- 'e indirgenmektedir. H_2O_2 tiol gruplarını hızlı bir şekilde okside eden güçlü bir oksidanttır. Fotosentez tiol-düzenleyici enzimlerle bağlantılı olduğu için H_2O_2 'in kloroplastlarda birikimine izin verilmemesi gerekmektedir [27].

CAT H_2O_2 'i su ve moleküler oksijene dönüştürmektedir. Bu enzimin substrata ilgisi düşük olmasına karşın yüksek katalitik aktiviteye sahiptir. Bunun için de H_2O_2 'i bağlayan iki aktif bölgeye sahiptir. Ayrıca katalazın yokluğu kloroplastlarda kalvin döngüsünde tiol-düzenleyici enzimlerin korunmasının engellenmesine neden olmaktadır. H_2O_2 'in yıkılmasında alternatif diğer bir yol ise hücrelerin tümünde bulunan peroksidazların aktivasyonu ile gerçekleştirilebilmekte ve H_2O_2 'in suya indirgenmesini sağlamaktadır (Şekil 4.2) [28].

Hayvanlarda peroksidazlar glutatyon (GSH)'un oluşumunda ve H_2O_2 'in detoksifikasyonunda önemlidir. Yani CAT ve Peroksidaz ROS 'ların detoksifiye edilmesinde görev yapmaktadırlar. H_2O_2 'i elemine

ederler ve hücrelerde H_2O_2 konsantrasyonunun düzenlenmesinde görev yaparlar. Patojenin enfeksiyonu sonucu meydana gelen H_2O_2 'in birçok etkisi bulunmaktadır [27]. Birincisi peroksidaz aktivitesinin uyarılması ile patojenin penetrasyonu engellenmektedir. İkincisi konukçu üzerinde oksidatif stres meydana getirdiği gibi patojen üzerinde de stres oluşturmaktadır. Üçüncüsü ise sistemik direncin oluşumunu sağlayan bir sinyal olarak görev yapmaktadır.



Şekil 4.2. Enzim aktivitesi.

Bitki hücrelerinde H_2O_2 'in detoksifikasyonunda en önemli indirgen substrat askorbattır. APX askorbatı H_2O_2 ve suya parçalamaktadır. Askorbik asit, Süperoksit anyonu, singlet oksijen ve H_2O_2 gibi ROS'ların geniş bir bölümünü elemine etmekte ve zincir kırıcı olarak görev yapmaktadırlar [28]. Primatlar hariç bütün hayvanlarda askorbik asit sentezlenmektedir. Bitkilerde Askorbat hem fotosentetik hemde fotosentetik olmayan dokularda milimolar konsantrasyonlarda birikebilir. Yapraklar klorofilden daha fazla askorbat içermektedir. Askorbat en önemli antioksidanlardan biridir ve doğrudan hidroksil radikalleri, süperoksit ve singlet oksijen ile reaksiyona girmektedir. Fotosentezin düzenlenmesinde, ışığa karşı korumada önemli olmasının yanısıra prostetik grup olarak metal iyonu bulunduran enzimlerin aktivitelerinin korunmasında da önemli bir role sahiptir.

APX enzimi yüksek bitkilerde keşfedilmiştir. Vakuol, hücre duvarı, sitozol de bulunan Guaiacol peroksidaz gibi birçok enzimden farklı olarak organellerde lokalize olmuştur. APX izoenzimleri dört farklı hücresel kompartımanda lokalize olmuştur. Kloroplastlarda stromatal APX (sAPX) ve tilakoid membrana bağlı APX (tAPX), peroksizom (mikrobody) membranına bağlı APX (mAPX) ve sitozolik APX (cAPX). Beşinci bir APX izoenzimi mitokondri membranına bağlı olarak (mitAPX) bulunmuştur [29].

GSH ise güçlü bir hücresel reaktantdır ve peroksitleri ortadan kaldırmaktadır [30]. Hayvan dokularında, bitkilerde ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunan bir antioksidandır. Canlılarda yüksek düzeylerde (0.1mM- 10 mM) bulunurlar ve düşük molekül ağırlığına sahip peptid ve tiol bulundurlar.

GSH hücreleri toksik ROS'lere karşı korumanın yanısıra katalitik - metabolik olaylarda ve taşımada da fonksiyonları bulunmaktadır. Protein ve nükleik asit sentezi sırasında meydana gelen reaksiyonlara katılmakta, serbest radikalleri ve peroksitleri detoksifiye etmektedirler. Bazı enzimler için kofaktör olarak, sisteinin transportunda ve depolanmasında görev yapmaktadır. İntraselüler alanlarda sentezlenir ve hücre dışında hücre membranındaki belirli enzimler tarafından yıkımı başlatılır. GSH'ın oksidatif hasara, toksik bileşiklere ve radyasyona karşı hücreleri korumak için hücresele düzeylerinde artış olduğu metodlarla tespit edilmiştir. GSH peroksidazlar tarafından glutasyon disülfid (GSSG)'e dönüştürülmektedir.

GSH peroksidazlar da oksidasyona karşı hücre membranlarını ve hücre proteinlerini korumaktadırlar. GSH peroksidaz dört altüniteden meydana gelmektedir ve her biri selenyum atomu içermektedir. Diğer bir peroksidaz GSH-S-transferazdır. Bu enzimde organik peroksitlerin indirgenmesinde görev yapmaktadır [30].

H₂O₂'i uzaklaştırmak için meydana gelen bir dizi reaksiyon Askorbat- Glutasyon döngüsü olarak bilinmektedir. Yapraklarda ve dokularda askorbat okside olduğunda daima Monodehidroaskorbat'dan (MDHA) Dehidroaskorbat (DHA) meydana gelmektedir. DHA GSH'ı substrat olarak kullanan DHA Redüktaz'ın aktivasyonu ile askorbata indirgenmektedir. Bu reaksiyon sonucunda GSSG meydana gelmektedir. GSSG NADPH tarafından tekrar GSH'a dönüştürülmektedir. Bu sırada NADPH'dan kopan elektronlar kullanılarak H₂O₂ suya indirgenmektedir [27].

Hidroksil radikali (OH⁻) yüksek reaktif bir özelliğe sahip olduğundan (oksidatif stres altında hücresele hasarların ana sebebi) enzimatik bir şekilde kontrol edilmesi oldukça zor bir serbest radikaldir. Yaşayan organizmalar bu radikalden SOD ile kaçınmaya çalışmaktadırlar. Bu enzim aerobik olan tüm organizmalarda bulunmaktadır [31]. Enzimin metal kofaktörlerine göre üç tipi bulunmuştur. Bunlardan FeSOD (prokaryotik organizmalarda, kloroplast stromasında) ve MnSOD (prokaryotik organizmalarda ve ökaryotların mitokondrisinde) yapısal olarak benzerlik göstermesine karşın Cu/ZnSOD (sitozolda ve kloroplastlarda) diğer ikisinden farklı bir yapıya sahiptir. Bu enzimler H₂O₂ 'e olan farklı duyarlılıklarına göre lokalize olmaktadır [32]. SOD, süperoksidin H₂O₂'e dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir. Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile ya da direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ile Glutasyon peroksidaz (GPx) ve CAT enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir. Normal koşullarda hücrede oluşan H₂O₂'in detoksifikasyonunda esas olarak bir selenoenzim olan GPx fonksiyona sahiptir. CAT'ın H₂O₂ oluşumunun arttığı durumlarda önemli etkinliğinin olduğu kabul

edilmektedir. SOD, GPx ve CAT enzimlerinden ayrı olarak E ve C vitamini de hücre içi antioksidan özelliğe sahiptir. Her ikisi de hücre membranlarındaki lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlardır [12].

Polifenoller serbest radikalleri ortadan kaldırmada etkisiz hale getirmede güçlü ve ideal bir kimyaya sahiptirler, *invitro* ortamda tokoferol ve askorbatdan daha etkili antioksidanlar olarak gösterilmektedirler. Polifenollerin antioksidan özellikleri hidrojen ve elektron donörleri olarak ve zincir kırıcı olarak görev yapmalarıdır. Yapılan araştırmalar fenoliklerin bitki hücrelerinde H₂O₂ 'i etkisiz hale getirmekte etkili olduğunu göstermiştir [33].

Vitamin E yağda çözünen zincir kırıcı bir antioksidandır. Vitamin E terimi bir grup tokoferol ve tokotrienoller için kullanılmaktadır. Bu grup içine giren tokoferoller (α , β , γ , δ) ve dört tokotrienol (α , β , γ , δ) antioksidan aktiviteye sahiptir. Bunlardan α tokoferol doğada en bol bulunan Vitamin E'dir ve yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir. Tokoferoller ROS'nin özellikle singlet oksijen ve OH⁻ radikalini etkisiz hale getiren detoksifiye etme özelliğine sahip antioksidatif bir fonksiyon taşımaktadırlar. Vitamin E lipid peroksidasyonunu engellemekte ve diğer oksidatif reaksiyonlar sırasında meydana gelen radikallerin etkisini önlemektedir. Bunların yanısıra hücre sel sinyal olarak da görev yapmaktadır [34].

Likopen ve karoten gibi karetenoidler de antioksidan özelliği göstermektedirler. Likopen sekiz izopren biriminden oluşan kırmızı karetenoid pigmentidir. Domateste, karpuz, üzüm vs. meyvelerde bulunur. Singlet oksijenin vereceği zararı engelleyen bir antioksidandır. Karoten fotosentez için önemli olan fotosentetik pigmenttir. Kimyasal olarak sekiz izopren biriminden oluşan bir terpendir [35].

Antioksidanlar üzerinde araştırmalar yapılan en önemli savunma mekanizmalarından biridir.

Soğuk ve sıcak şoka maruz bırakılmış *Cucumis sativus* (Salatalık) fidelerinde yapılan çalışmalarda bitkide bu strese karşı antioksidan savunma sisteminin kullanıldığı, soğuk şok uygulanmış fidelerde antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalma olduğu sıcak şok uygulanmış bitkilerde ise enzim aktivitelerinde bir artış olduğu belirlenmiştir [36].

Farklı NaCl (Tuz) konsantrasyonları uygulanan *Citrus* (turunçgiller)'da antioksidan bir savunma oluştuğu SOD, GR, APX gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinde belirgin değişimler olduğu gözlenmiştir [37].

Antioksidant aktivite değişimleri oksidatif stres oluşturan fungal patojen *B. cinerea Pers.* ile enfekte edilmiş domates bitkisinde reaktif oksijen turevlerinin meydana geldiği ve bunların detoksifiye edildiği yaprak peroksizomlarında da incelenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda SOD, katalaz gibi enzimlerin aktiviterinde artış olduğu belirlenmiştir [38].

Antioksidant bakımından zengin olan dut kulturelerinde tuzluluğun antioksidant enzimler üzerindeki etkileri incelenmiş ve 50, 100 ve 150mM tuz uygulanmış dut kulturelerinde 150 mM tuz konsantrasyonunda SOD, peroksidaz, glutasyon redüktaz enzimlerinin aktiviterinde diğer konsantrasyonlara nazaran artış olduğu saptanmıştır [39].

ABA'in farklı konsantrasyonları mısır fidelerinin yapraklarına uygulanarak antioksidantlarda nasıl değişimler olduğu saptanmaya çalışılmıştır [40]. Mısır fidelerine 10 ve 100µM ABA uygulandığında O₂ ve H₂O₂' in düzeylerinde artış olduğunu saptamış ve buna takiben SOD, CAT, APX ve GR enzimlerinin aktiviterinde ve α-Tokoferolün miktarında artış olduğunu tespit etmişlerdir. 100µM ABA uygulamasını takiben 24 saat içinde lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunda bir artış olmadığı gözlenmiştir. 1000µM ABA uygulamasında ise aşırı miktarda O₂ , H₂O₂ ve H₂O₂' in oluşumda çok önemli olan katalitik Fe içeriğinde artış olduğu görülmüştür. 1000µM ABA uygulamasında antioksidant enzimlerin aktiviterinde, α-Tokoferol içeriğinde artış olduğu fakat bu etkinin 100µM ABA uygulaması kadar uzun sürmediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar düşük ABA konsantrasyonun oksidatif hasara karşı antioksidant savunmayı meydana getirdiğini, ABA'nın yüksek konsantrasyonlarında aşırı miktarda ROS oluştuğunu ve bununda bitki hücrelerinde oksidatif hasarın oluşmasına neden olduğunu göstermektedir [40].

5. SONUÇ

İnsan ve hayvanlarda olduğu gibi bitkilerin de zararlıların saldırılarından kendilerini korumak için çeşitli savunma sistemlerine sahip olduğu bilinmektedir. Bunlar bitkideki morfolojik engeller ve bazı biyokimyasal olaylar arasında değişen bir dizi faktörlerdir. Bitkilerdeki biyokimyasal olaylardan sonra sentezlenen sekonder metabolitler, bitki-zararlı ilişkilerinde önemli rol oynarlar. Zararlılar üzerinde davranışsal ve fizyolojik etkilere sahip olan bu metabolitler çok değişik kategorilerde sınıflandırılmaktadır. Bunların en önemlilerinin alkaloidler, glikozidler, fenoller, terpenoidler, taninler ve saponinler olduğunu belirtilmiştir. Tarımda bu maddeler, zararlılara karşı yüzyıllardan beri doğrudan veya dolaylı olarak da kullanılmaktadır [41].

HR ile birlikte, hücre duvarlarında değişmeler, kalloz, fenolik polimerler, lignin, suberin, hidroksi prolince zengin glikoproteinler ve en önemlisi antimikrobiyal bileşikler, fitoaleksiner sentezlenmekte ve

enfeksiyon noktalarında lokazile olmaktadır. Bitki patojene karşı oluşturduğu böyle bir tepkiyle, patojenin besin alımını engelleyerek gelişmesini durdurduğu gibi bundan sonra olabilecek ikincil enfeksiyonlardan da kendini korumaktadır [42]. Bunun dışında JA, ABA, SA ve etilen de gibi hormonlar da savunma da görev almaktadırlar.

Görüldüğü gibi bitkiler, içerisinde buldukları ortamı diğer canlılarla (patojen ve simbiyontlar gibi) paylaşmak ve hatta onlarla zaman zaman rekabet etmek zorundadırlar. Bunun içinde yaşadıkları alan ve şartlar ne olursa olsun, içinde buldukları çevreyi tanıma ve o ortama adapte olma işlevini çeşitli moleküler ve fizyolojik olaylar sayesinde gerçekleştirmektedirler [42].

KAYNAKLAR

1. A. Płazek, *Acta Physiologicae Plantarum*, 25(3) (2003) 37.
2. S. Özcan, E. GüreL M. Babaoğlu, M. Genetik mühendisliği ve uygulamaları, Bitki Biyoteknolojisi II, Bölüm 20 (2001) 261.
3. C. Baron, P. C. Zambryski, *Rev. Genetics*, 29 (1995) 107.
4. O. Kodame, W. X. Li, S. Tamogami, T. Akatsuka, S. Oryzalexin *Biosci Biotech Biochem*, 56 (1992) 1002.
5. JW. Mansfield, Slusarenko AJ, Fraser RSS and VanLoon LC (Ed), Kluwer, Amsterdam, (1999).
6. V. L. Lonn, V. Streien, V. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55 (1999) 85.
7. M. Legrand, S. Kauffmann P. Geoffroy B. Fritig, *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A*, 84 (1987) 6750.
8. E. Rojo, R. Solanao, *Journal of Plant Growth Regulation*, 22 (2003) 82 .
9. M. Heil, R. M. Bostock, *Annals of Botany*, 89 (2002) 503.
10. S.C. Mariana, F. Wagner, *Plant defense and Antimicrobial peptides protein and peptide letters*, 12 (2005) 11.
11. H. Poontariga, P. Darinee R. Kannarat R. Charoensataporn, *Science Asia*, 29 (2003) 109.
12. C. Çavdar, A. Sifil T. Çamsarı, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3-4 (1997) 92.
13. M. Mehdy, *Plant Physiol.*, 105 (1994) 467.
14. P. S. Low, J. R. Merida, *Physiol. Plant.*, 96 (1996) 533.
15. C. Lamb, R. A. Dixon, *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 48 (1997) 251.
16. G. P. Bolwell, *Plant Biol.*, 2 (1999) 287.
17. R. Mittler, *TRENDS in Plant Science.*, 7(9) (2002) 405.
18. Z. Chen, H. Silva, D. Klessig, *Science*, 262 (1994) 1883.

19. U. Neuenschwander, B. Vernolaji L. Friderich S. Uknes H. Kessman J. Ryals, *Plant Journal.*, 8 (1995) 227.
20. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.ppt>.
21. T. Xing, V. J. Higgins, E. Blumwald, *Plant Cell*, 9 (1997) 249.
22. E. Uranova, D. Inza F. Van, *Journal of Experimental Botany.*, 53(372) (2002) 1227 and *Plant Cell*, 9 (1997) 249.
23. L. M. Palma, *Journal of experimental Botany*, 53(372) (2002) 1255.
24. A. Levine, R. Tenhaken R. Dixon C. Lamb, *Cell*, 79 (1994) 583.
25. D. L. Gara, M. C. Pinto, F. Tommasi, *Plant Physiology and Biochemistry*, 41 (2003) 863.
26. O. Blokhina, *Academic Dissertation*, ISSN1239-9469, ISBN 951-45-9631-5, ISBN 951-45-9632-3, ISBN 951-45-9633 (PDF), (2000).
27. G. Noctor, *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 49 (1998) 249.
28. R. E. Beyer, *Biomembr.*, 26(4) (1994) 349.
29. S. Shigeoka, T. Ishikawa, M. Tamoi, V. Miyagawa, T. Takeda, Y. Yabuta, K. Yoshimura, *Journal of Experimental Botany*, 53(372) (2002) 1305.
30. A. Meister, *Journal of Biological Chemistry*, 263 (1988) 33 .
31. C. Bowler, Van, M. Montagu, D. Inze, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43 (1992) 83.
32. J. V. Bannister, W. H. Bannister, G. Rotilio, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 22 (1989) 111.
33. U. Takahama, T. Oniki, *Physiol. Plant.*, 101 (1997) 845.
34. R. Brigelius-Flohe, M. G. Traber, *The FASEB Journal*, 13 (1999) 1145.
35. D. P. Mascio, S. Kaiser, H. Sies, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 274(2) (1989) 532.
36. H. M. Kang, M. E. Saltveit, *Physiologia Plantarum*, 113 (2001) 58.
37. V. Arbona, J. Jacas, A. Garcia, A. G. Cadenas, *Plant Cell Physiol*, 44(4) (2003) 388.
38. E. Kuzniak, M. Sklodowska, *Planta*, 222(1) (2000) 192.
39. P. Harinasuf, D. Poonsopa, K. Roengmogkol, R. Charoensataporn, *Science Asia*, 29 (2003) 109.
40. M. Jiang, J. Zhang, *Plant Cell Physiol.*, 42(11) (2001) 1265.
41. A. Güncan, E. Durmuşoğlu, *HASAD*, 233 (2004) 26.
42. M. Tör, *Tr. J.of Biology*, 22 (1998) 271.