

Araştırma Makalesi/Research Article (Original Paper)

## Kuraklık Stresinin Bazı Fasulye Genotiplerinde Oluşturduğu Enzim, Klorofil ve İyon Değişimleri

Turgay KABAY<sup>1\*</sup>, Suat ŞENSOY<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Erciş Meslek Yüksekokulu, Van

<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Van

\*e-posta: turgaykabay@yyu.edu.tr

**Özet:** Son yıllarda kuraklığın artışı sonucunda tarımsal ürünlerde verim ve kalitede büyük düşüşler oluşmaktadır. Kuraklığın bitkilere verdiği zarar şeklini tanımlamak çözüm yollarını daha da kolaylaştıracaktır. Kuraklık nedeniyle ürünlerdeki verim ve kalitede düşüşlerin en aza indirgenmesi amacıyla bilimsel araştırmalar yürütülmektedir. Bu çalışmada dünyada ve ülkemizde sevilerek tüketilen ve önemli bir ürün olan fasulyede kuraklığın bitkilerde oluşturduğu enzim ve iyon değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. 2:1 oranında torf + perlit karışımı içeren saksılarda yetiştirilen fasulye bitkilerinde sulama suyu, kademeli olarak kesilerek stres oluşturulmuştur. Kuraklık stresine tolerant (Yakutiye ve V-a1) ve duyarlı (Zulbiye ve T7) fasulye genotiplerinde kuraklık stresinin beş farklı döneminde enzim ve iyon değişimlerine bakılmıştır. Kuraklık stresinin 0., 2., 4., 6. ve 8. günlerindeki fasulye genotiplerinde katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), malondialdehit (MDA), Klorofil-a, Klorofil-b, toplam klorofil, K, Ca ve Na iyon içeriklerindeki değişimler incelenmiştir. Kuraklık stresine tolerant ve duyarlı genotiplerde incelenen bu parametreler bazında bariz farklar oluştuğu gözlemlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Antioksidant, İyon, Klorofil, Kuraklık stresi, *Phaseolus vulgaris*

### Enzyme, Chlorophyl and Ion Changes in Some Common Bean Genotypes by Drought Stress

**Abstract:** In recent years, as a result of the increase in drought, one of the most important abiotic stress conditions, large declines have been observed in the yield and quality of agricultural products. The solution will be much easier if the drought damage in crops has to be defined well. Scientific studies have been carried out in order to minimize the decrease in yield and quality. The present study aimed to determine the enzyme and ion changes in common bean, an important product consumed and enjoyed a lot in the world and our country, during drought stress. Drought stress has been created by cutting irrigation water gradually for common bean plants grown in pots containing 2:1 peat + perlite mixture. The enzyme and ion level changes in the drought tolerant (Yakutiye and V-a1) and in drought sensitive (Zulbiye and T7) bean genotypes have been analyzed in five different periods of drought stress. The changes in the level of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), malondialdehyde (MDA), chlorophyll-a, chlorophyll-b, the total chlorophyll, K, Ca and Na were examined on the 0<sup>th</sup>, 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, 6<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> days of the drought stress. Obvious differences have been observed for these examined parameters in drought tolerant and susceptible genotypes.

**Keywords:** Antioxidant, Ion, Chlorophyll, Drought stress, *Phaseolus vulgaris*

### Giriş

Kuraklık nedeniyle birçok tarımsal üründe verim ve kalite kayıpları olmaktadır. Özellikle fasulye gibi birçok sebzenin üretiminde dünyada ilk beş ülke arasında bulunan ülkemizde kuraklık nedeniyle oluşan kayıplara bir önlem alınması gerekmektedir. Ülkemiz ve Van Gölü Havzası, diğer bazı sebze türlerinde olduğu gibi fasulyede de önemli bir genetik çeşitliliğe sahiptir (Ekincialp ve Sensoy 2013; Erdinç ve ark. 2013a,b). Bu genetik çeşitlilik içerisinde kuraklığa tolerant fasulye genotiplerinin tespiti, fasulyenin kuraklıktan dolayı verim ve kalite kaybının azalmasına yönelik bilimsel ve ıslah çalışmalarına katkıda bulunacaktır.

Bitkiler kuraklık stresine girdiklerinde dokuları arasında su dengesi bozulmaktadır. Stres durumunda turgor kaybı nedeniyle hücre büyümesi olumsuz olarak etkilendiğinden hücreler küçük kalmaktadır. Hücre büyümesindeki azalma çeper sentezini de etkilemektedir. Protein ve klorofil olumsuz olarak etkilenirken, tohumların çimlenme yeteneğini yitirdikleri görülmektedir (Lichtenthaler 1983; Zengin, 2007; Amira 2011). Fotosentez ve solunum yavaşlamakta ve durmaktadır. Hücre büyümesinde gerileme yaprakların küçülmesine ve fotosentez üretiminin daha da azalmasına yol açar (Özen ve Onay 2007). Su eksikliği süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikalleri ( $OH^-$ ) ve süperoksit radikali ( $O_2$ ) gibi çeşitli reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna neden olmaktadır (Güneri Bağcı 2010). ROT, hücrede membran lipitleri, nükleik asitler, proteinler, klorofiller ve makro moleküllere zarar vermektedir. Hücre membranı üzerine serbest oksijen radikallerinin etkisi, lipit peroksidasyonu ile olmaktadır. Hücre membranı tahribatına yol açan lipit peroksidasyonu, birkaç reaksiyon basamağı sonucunda malondialdehit (MDA) ürünü üretmektedir. Kuraklık stresi bitkilerde enzim aktivitesi ve enzim miktarı üzerine de önemli bir etki yapmaktadır. Ayrıca absisik asit miktarı yapraklarda 40 kat artarken, kök dahil diğer organlarda bu artış daha azdır. Absisik asit stomaların kapanmasını sağlayarak, suyun transpirasyonunu önlemektedir (Kacar ve ark. 2006).

Stoma kapatma hücrelerinde K birikmesi sonucu su potansiyelinin düşmesi ve buna mukabil hücreye su girmesi ve yine bu hücrelerde K eksilmesi sonucu şeker ve nişasta birikmesi nedeniyle su potansiyelinin artmasına neden olmaktadır. Ancak ilave K sağlanması durumunda, bozulmuş olan hücre içi elektrolitik denge düzeltilmekte, aynı membran bağlama yörelerinde Na ile rekabet edecek K miktarı artmakta ve bozulmuş olan hücre içi Na/K dengesi yeniden ayarlanarak metabolik faaliyetler düzene girebilmektedir. Büyüme ve gelişme için gerekli temel elementler den biri K diğeri de Ca iyonudur. Abiyotik stres, K gibi Ca alımını da olumsuz etkilemektedir. Na hücre zarındaki Ca ile yer değiştirerek apoplast kısmında Na/Ca iyon oranlarının artmasını sağlamaktadır. Bu durumda, zarın fizyolojik ve fonksiyonel yapısı bozulur ve hücrenin Ca dengesi bozulmaktadır. Yüksek Na konsantrasyonu; hücrenin iç zar yapılarında bağlı halde bulunan Ca iyonlarının serbest hale geçerek içsel Ca depolarının boşalmasına ve hücrede serbest Ca iyonların artışına neden olmaktadır (Kaya ve Tuna 2010). Kuraklık stresi uygulanan fasulyelerden Kuraklığa tolerant Yakutiye ve hassas Zulbiye fasulye çeşitlerinin kuraklık stresi her iki çeşitte de yaprak su potansiyeli ve stoma iletkenliğini düşürdüğü, simplastta K içeriği düşük çıkarken apoplastta arttığı belirtilmektedir. Kurağa tolerant çeşitte simplastik Na içeriği azalırken apoplastik Na içeriği arttığı, Kurağa duyarlı Ca içeriği kuraklık stresi boyunca her ikisinde de düştüğü belirtilmiştir. Tolerant çeşitte Ca oranı simplastta arttığı ve apoplastta düştüğü, Na apoplastta ve simplastta değişime uğramadığı belirtilmektedir. Kurağa tolerant çeşitte simplastta ve apoplastta ozmotik dengeyi sağlamak amacıyla çok yüksek kapasite gösterdiği vurgulanmaktadır (Güler ve ark. 2012). Fasulye bitkisinde kuraklığın lipit (MDA) ve antioksidant enzim aktivitelerinde artış ve dokularda da zararlanmalara yol açtığı belirtilmektedir (Türkan ve ark. 2005). Aşırı kuraklık altında fasulye bitkisinin stoma iletkenliği, oksidatif ve antioksidatif aktivitelerinin arttığı belirtilmektedir (Rosales ve ark. 2005). Domateste uygulanan su stresi verim ve meyve kalitesinin düşmesine neden olurken, yaprak oransal su içeriği dayanıklı çeşitlerde iyi ve antioksidant içeriği ise duyarlı çeşitlerde yüksek çıktığı vurgulanmıştır (Sanchez ve ark. 2010).

Kuraklık şartlarında bitkiler K, Ca, Na iyon içeriklerinde farklı duyarlılık sistemi ve savunma sistemi gösterdikleri belirtilmiştir. Bitkide sodyum iyonunun, yaşlı yapraklardan başlayarak sürgün ve yapraklarda nekrotik lekeler gibi semptomlar oluşturmaktadır (Aktaş 2002; Daşgan ve ark. 2006). Kavunlarda yeşil aksam ve köklerde K ve Ca iyonu fazla olan genotiplerin stres koşullarına dayanımları daha da arttığı, ayrıca kuraklık stresindeki genotiplerde oksidatif ve antioksidatif enzim aktivitelerinde artışa neden olduğu belirtilmektedir (Kuşvuran 2010). Tuzluluk sonucunda bitkilerde kuraklık belirtileri görülmektedir. Fasulye genotiplerine tuz stresi uygulanan çalışmada, bazı genotipler bünyelerine bol miktarda Na iyonu alarak yüksek doku toleransı gösterip “Na-kabullenen- inclusion” bir mekanizma ile tuzdan zararlanmaz iken, diğer bazı genotipler ise Na iyonunu oldukça az alarak kendilerini korumayı başarmışlar ve “Na-sakınan-exclusion” tepki vermişlerdir. “Na-sakınan” (excluder) genotipler için düşük Na/K, Na/Ca oranları, düşük Na konsantrasyonu, yüksek K ve Ca konsantrasyonları tarama (screening) parametresi olabilirken; “Na-kabullenen” (includer) genotipler için ise yüksek Na/K, Na/Ca oranları, yüksek Na ve düşük K ile Ca konsantrasyonlarının tarama (screening) parametresi olabileceği belirlenmiştir (Koç 2005).

Bu çalışma ile kuraklığa tolerans bakımından taranan fasulye genotipleri içinde tespit edilen kuraklığa tolerant (Yakutiye ve V-a1) ve duyarlı (Zulbiye ve T7) fasulye genotiplerinde kuraklık stresinin enzim, klorofil ve iyon miktarında oluşturduğu değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

Kuraklık stresine maruz kalan fasulye genotiplerinden kuraklık stresine tolerant Yakutiye ve V-a1 ile kuraklık stresine duyarlı Zulbiye ve T7 genotiplerinde katalaz (CAT), süper oksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), malondialdehit (MDA), Klorofil-a, Klorofil-b ve toplam klorofil, K, Ca ve Na iyon içeriklerinin kuraklık stresinin 0., 2., 4., 6. ve 8. günlerindeki değişimleri incelenmiştir. Fasulye tohumları 2:1 oranında torf + perlit karışımı içeren 2 lt' lik saksılarda her saksıda üç bitki oluşacak şekilde ekilmiştir. Fasulye tohumları çimlenene kadar musluk suyu ile sulanmıştır. Gerçek yapraklar çıktuktan sonra Hogland besin çözeltisi saf suya karıştırılıp sulama yapılmıştır. Sulama suyu kademeli olarak kesilerek, stres oluşması sağlanmaya çalışılmıştır. Kademeli olarak yapılan uygulamada drenaj miktarı esas alınarak % 100 doymuş hale getirilmiş saksıların % 75'i, % 50'si ve % 25'ine kadar nem koşulu sağlandıktan sonra sulama tamamen kesilmiştir. Kontrol bitkileri ise % 30 düzeyinde drenaj sağlanacak şekilde standart besin çözeltisi ile sulanmıştır (Kuşvuran 2010). Tohum ekiminden itibaren 24. gün kuraklık stresinin sıfıncı günü olarak kabul edildikten sonra ilk örnekler analizler için alınırken, son örnekler 32. günde (stresin 8. gününde) alınarak deneme sonlandırılmıştır.

### Mineral element analizleri

Seçilen fasulye genotipleri dört tekerrürlü ve her tekerrürde üç saksı ve her saksıda üç bitki olacak şekilde kurulmuştur. Her beş dönemde (stresin sıfıncı günü: tohum ekiminden itibaren 24. gün, stresin sekizinci günü ise 32. gün) tekerrürü temsil eden bitkinin durumuna göre bir veya iki bitki alınıp bitkinin tümü önce açıkta daha sonra 65 °C'de 48 saat etüvde kurutulduktan sonra 200 mg yeşil aksamdan 200 mg da kök kısmından alınıp mineral madde tayini için kullanılmıştır. 200 mg tartılan kurutulmuş ve öğütülmüş bitki örnekleri etil alkolle ön yakma yapıldıktan sonra 550 °C kül fırınında kül oluşuncaya kadar yakılmıştır. Elde edilen kül, % 3,3'lük HCl'de çözünmüş ve mavi bantlı filtre kağıdında süzülükten sonra Na, K, Ca okumaları Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Uygulama Merkezinde atomik absorpsiyon cihazında yapılmıştır (Kuşvuran 2010; Güneri Bağcı 2010). Na iyonunun bitki yetiştirme ortamında bulunması ile birlikte K ve Ca' un Na ile oranları bitkilerin strese dayanma süresini ve zararlanma üzerine etkisi olmaktadır. Bitkisel üretimde kullanılan gübre ve besin çözeltileri yetiştirme ortamını tuzlulaştırmaya neden olabileceği gibi kuraklık stresi sonucu toprakta bulunan Na miktarında etkili olabileceği göz önüne alınarak Na iyonu miktarında bakılmıştır.

### Klorofil miktarı

Fasulye bitkilerinde alttan üçüncü yapraktan alınan 0.25 g örnekler, doğrudan ışık gelmeyen loş bir yerde % 80'lik aseton içerisinde homojenize edilip filtre edildikten sonra ekstrakt, aseton ile 25 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanmış örnekler 663 nm ve 645 nm dalga boyunda okunup aşağıda verilen formül yardımıyla hesaplanmıştır (Lichtenthaler 1983; Zengin 2007; Amira 2011).

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = (12,7 * 663 \text{ nm}) - (2,69 * 645 \text{ nm}) * V / W * 10000$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = (22,91 * 645 \text{ nm}) - (4,68 * 663 \text{ nm}) * V / W * 10000$$

$$\text{Toplam Klorofil} = \text{Klorofil a} + \text{Klorofil b}$$

### Lipit peroksidasyonu

Bitkilerde lipit peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) içeriği olarak ifade edilmektedir. Bitkilerin alttan 3. yaprağından alınan 0.5 g yaprak örneği 10 ml % 0.1'lik trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edildikten sonra homojenat 15000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneğin berrak kısmından 1 ml alınıp, üzerine 4 ml % 20'lik TCA içerisinde çözülmüş % 0.5'lik tiobarbiturik asit (TBA) katılmıştır. Karışım 95 °C'de 30 dakika bekletildikten sonra hızla buz banyosunda soğutulup 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj yapıldıktan sonra berrak kısımda 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbansları belirlenmiş ve aşağıdaki eşitlik ile malondialdehit (MDA) içeriği hesaplanmıştır (Jebara ve ark. 2010):

$$\text{MDA (nmol ml}^{-1}\text{)} = [(A_{532}-A_{600})/155\ 000] 10^6$$

### *Antioksidatif enzim analizleri*

Dondurulmuş 1 g yaprak örneği (bitkilerin alttan üçüncü yaprağı) 5 ml soğuk 0.1 M Na-fosfat, 0.5 mM Na-EDTA ve 1 mM askorbik asit karışımı (pH: 7.5) ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4 °C'de 30 dakika 18000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan homojenatta hemen askorbat peroksidaz (AP) aktivitesi belirlenmiştir. Katalaz (KAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin belirlenmesi için, 1 g dondurulmuş yaprak örneği 5 ml soğuk 0.1 M Na-fosfat, 0.5 mM Na-EDTA karışımı (pH: 7.5) ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4 °C'de 30 dakika 18000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Homojenatın bir kısmında hemen KAT aktivitesi belirlenmiş ve SOD belirlemesi için ekstrakt -20 °C' de bekletilmiştir (Jebara ve ark. 2010; Güneri Bağcı 2010).

#### *Katalaz (CAT) aktivitesi*

Katalaz aktivitesi, 240 nm dalga boyunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin kaybolmasının izlenmesi ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi olarak 0.05 M fosfat tamponu (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 1.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> karışımı kullanılmıştır (pH: 7.0). 2.5 ml reaksiyon çözeltisi ile 0.2 ml bitki ekstraktı karıştırılmıştır. Spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 0. ve 60. saniye okumaları alınmıştır. Reaksiyon 0.1 ml enzim ekstraktının ilavesi ile başlatılmıştır. Değerlendirme 1 dakika içinde absorbansdaki değişim dikkate alınarak yapılmıştır (Jebara ve ark. 2010; Güneri Bağcı 2010).

#### *Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi*

Nitroblue tetrazolium'un (NBT) 560 nm dalga boyunda inhibisyonu ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi olarak 50 mM Na-fosfat tamponu (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 0.1 mM Na- EDTA, 33 µM NBT, 5 µM riboflavin, 13 mM methionin karışımı kullanılmıştır (pH: 7.0). 2.5 ml reaksiyon çözeltisi ile 0. 1 veya 0.2 ml bitki ekstraktı karıştırılmıştır. Reaksiyon 25 °C'de 75 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (40 W) ışık altında 10 dakika bekletilerek sağlanmıştır. Kontrol çözeltisi enzimsiz olarak karanlıkta aynı süre bekletilmiştir. Kontrol ve Reaksiyon çözeltisi 560 nm'de okunmuştur. SOD aktivitesi ünite olarak NBT' un % 50'sini indirgeyen aktivite olarak belirlenmiştir (Jebara ve ark. 2010; Güneri Bağcı 2010).

#### *Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi*

Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm dalga boyunda askorbik aside bağlı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin indirgenmesi ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisi olarak 50 mM fosfat tamponu (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), 0.5 mM askorbik asit, 0.1 mM EDTA, 1.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> karışımı kullanılmıştır (pH: 7.0). 3 ml reaksiyon çözeltisi ile 0.1 ml bitki ekstraktı karıştırılmıştır. Spektrofotometrede 290 nm dalga boyunda 0. ve 60. saniye okumaları alınmıştır. Reaksiyon 0.1 ml enzim ekstraktının ilavesi ile başlatılmıştır. Değerlendirme 1 dakika içinde absorbansdaki değişim dikkate alınarak yapılmıştır (Jebara ve ark. 2010; Güneri Bağcı 2010).

### *İstatistik analiz*

Denemelerde dört tekerrürlü tesadüf parselleri deneme deseni kullanılmıştır. Kuraklık ve kontrol bitkilerinde beş ayrı dönemdeki stresin etkisinin belirlenmesi amacı ile elde edilen verilerin istatistiksel analizleri kullanılan deneme desenine göre (SAS 9.0) paket programında varyans analizine tabi tutulmuştur.

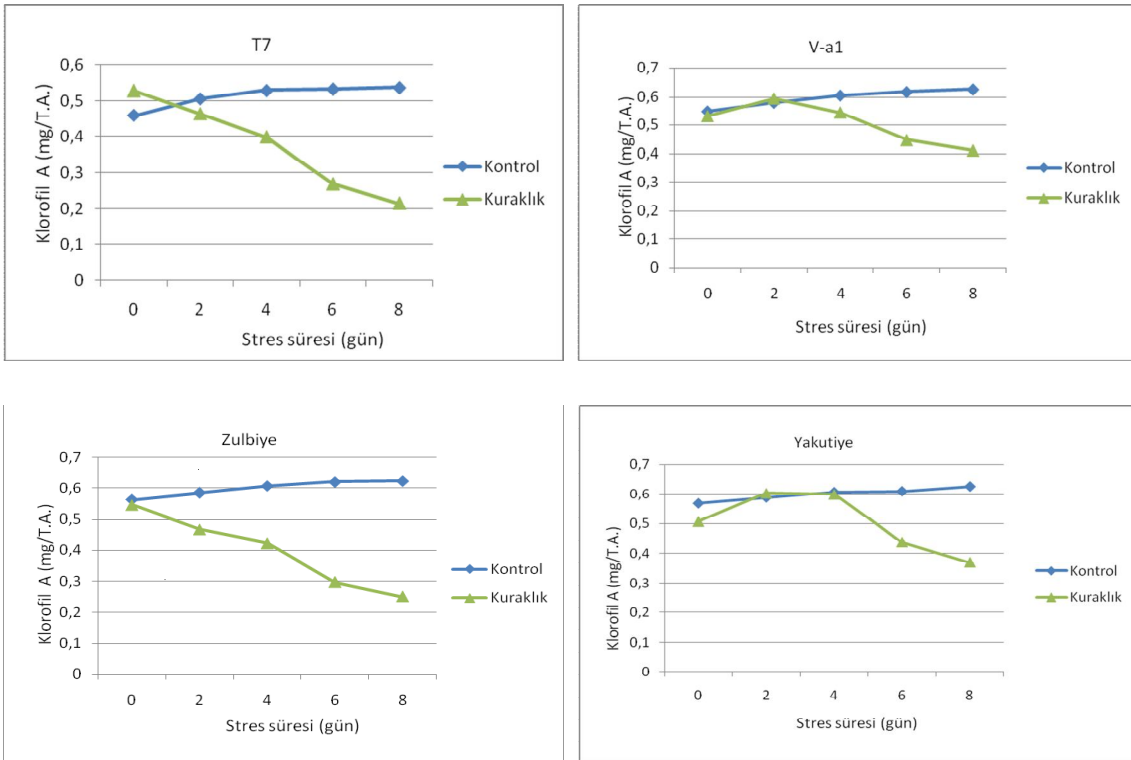
## **Bulgular ve Tartışma**

Kuraklık stresi, bitkiler üzerinde belirli nekrotik semptomlar oluşturur. Bu semptomların yoğunluğu, çoğu zaman bitkilerin tolerant veya hassas olduğu fikrini verebilmektedir. Abiyotik stres bitkilerin su alımını azalttığı veya engellediği için çoğu zaman stresin ileriki aşamalarında kuraklık zarar belirtileride görülmektedir. Kontrol grubu ile kuraklık streslerinin uygulandığı fasulye genotipleri arasında oldukça farklılık arz eden sonuçlara ulaşılmıştır. Kuraklığa dayanıklı çeşitlerin seçiminde, klorofil, membran geçirgenliği, prolin birikimi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikimi, lipid peroksidasyonu, bitki örtüsü sıcaklığı, enzimatik olmayan antioksidanlar ve antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), askorbat peroksidaz (APX) enzim aktiviteleri gibi parametreler incelenen çalışmada yer alan nohut çeşitlerinin (Menemen-92, Akçin, Aydın-92, İzmir-92, Küsmen, Camitez-87, Gökçe, Sarı, Uzunlu-99, Er-99 ve ILC-195) kuraklık stresine farklı tepkiler gösterdikleri bildirilmiştir. Bütün nohut çeşitlerinde kuraklık stresine

bağlı olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikimi ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunda artış gerçekleştiği bildirilmiştir. Kuraklığa bağlı olarak enzimatik antioksidanlardan SOD azalırken, KAT ve APX artış göstermiştir çalışma sonucunda, sera ve tarla koşullarında Gökçe, Sarı ve Uzunlu-99 çeşitlerinin diğer çeşitlerde göre kuraklığa toleransının yüksek olduğu bildirilmiştir (Güneri Bağcı 2010).

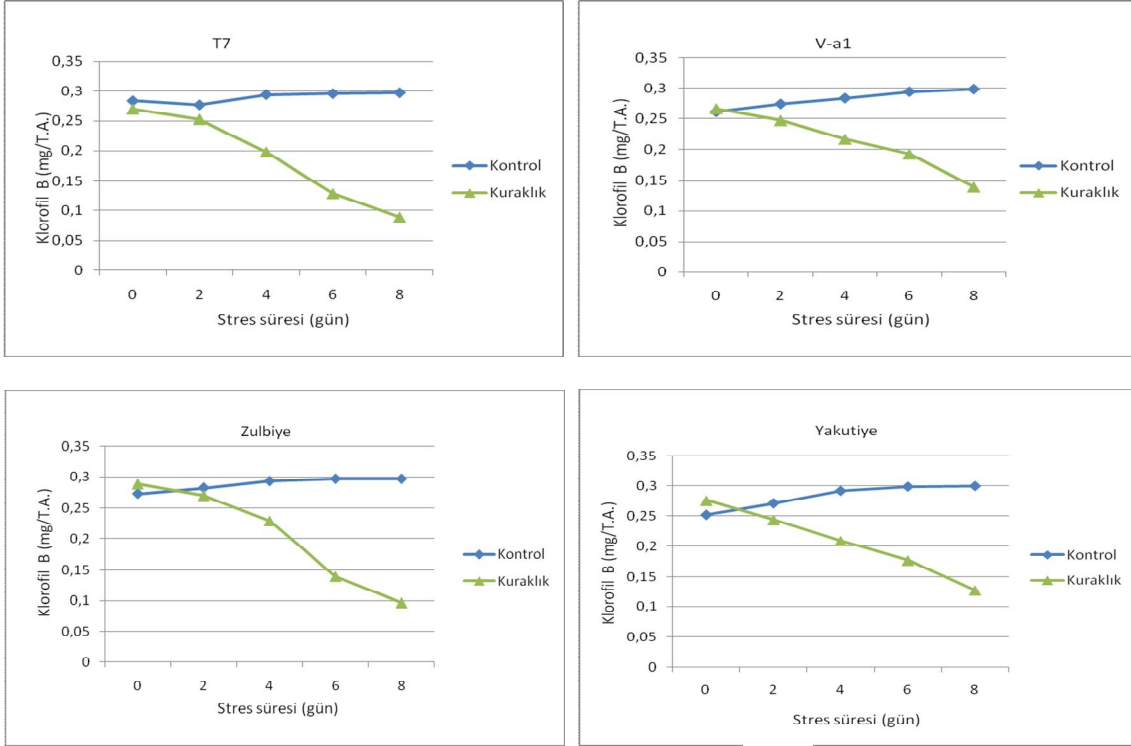
Bazı fasulye çeşitlerinin (Göynük 98, Karacaşehir 90, Şehirli 90, ES855 ve Yunus 90) büyüme parametreleri, klorofil içeriği ve lipid (MDA) peroksidasyonuna kuraklık tolerans seviyelerinin belirlenmesiyle ilgili yapılmış bir çalışmada, Yunus 90 çeşidinde katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) aktivitelerindeki artışın diğer çeşitler ile kıyaslandığında daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Terzi ve ark. 2010).

Kuraklık stres koşullarının klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil de düşümlere neden olduğu; bununla birlikte, bu düşümlerin duyarlı genotiplerde tolerant olan genotiplere nazaran daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 1-3). Kuraklık stresinde en yüksek klorofil a değeri Yakutiye fasulye çeşidinin 2. stres gününde ve en düşük değer ise T7 genotipinde stresin 8. günü gerçekleşmiştir. Klorofil b değerleri 0.0887 değeri (8. stres günü T7 genotipi) ile 0.2892 değeri (0. gün Zulbiye fasulye çeşidi) arasında değişmiştir. Kuraklık stresinde stres uzadıkça, toplam klorofil değerinde düşümler gerçekleşmektedir. En yüksek toplam klorofil değeri, stresin başlangıcında (stresin 0. gününde) V-a1 genotipinde elde edilirken, en düşük değerlere T7 genotipin ise 8. stres gününde rastlanmıştır (Şekil 1-3). Klorofil miktarının stres etkisi süresince olumsuz etkilendiği vurgulanmaktadır ( Güneri Bağcı 2010; Zengin 2007; Amira 2011). Bitkiler herhangi biyotik, abiyotik veya farklı bir olumsuz çevre şartlarından olumsuz yönde etkilendiğinde bitkilerde gerek klorofil gerekse verim ve kalitede azalmalar meydana gelmektedir.



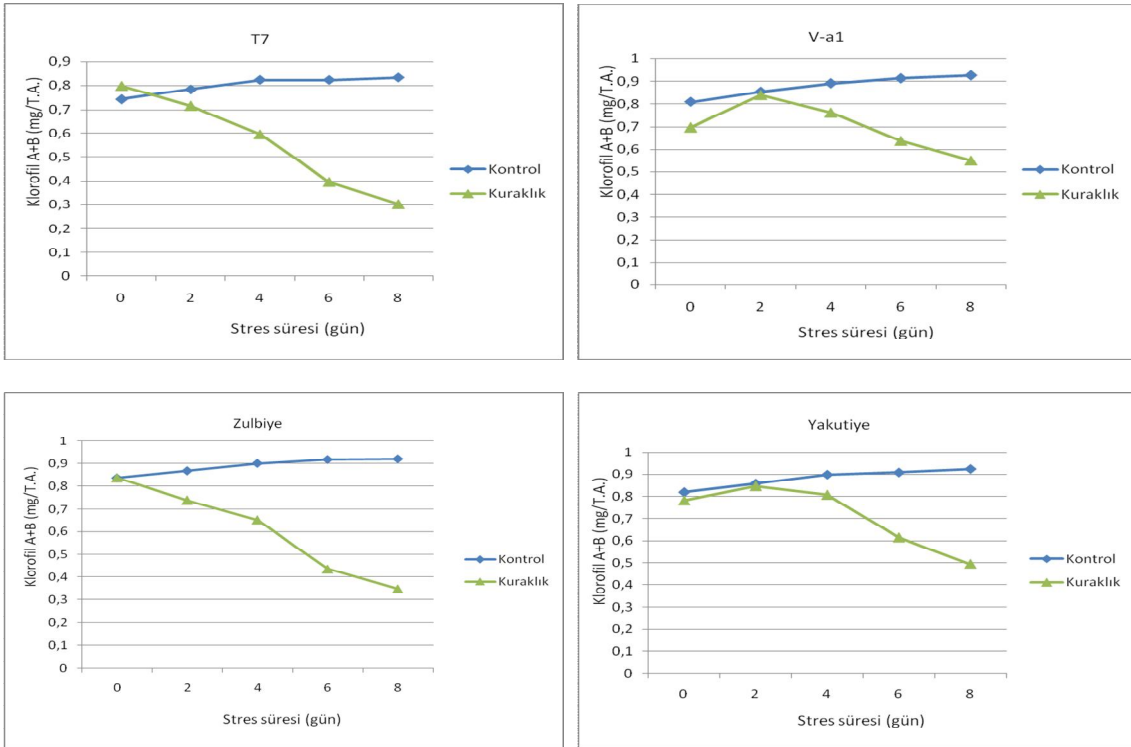
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 1. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) klorofil A düzeyinde meydana gelen değişimler.



\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

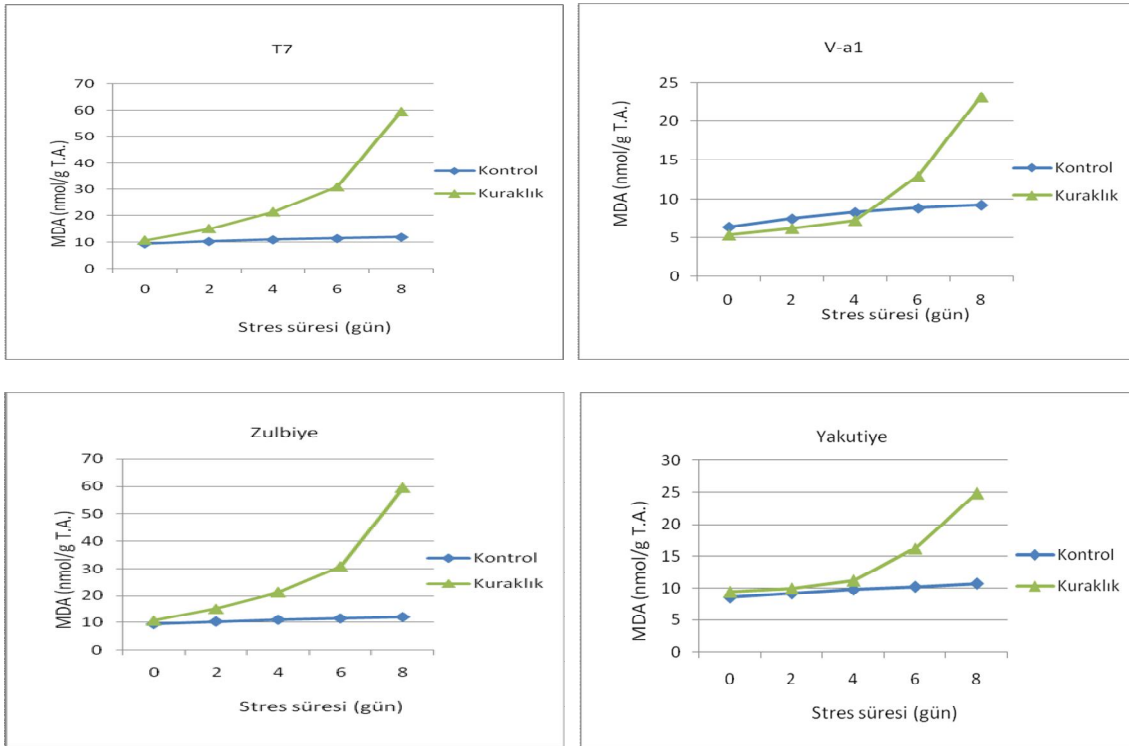
Şekil 2. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) klorofil B düzeyinde meydana gelen değişimler.



\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

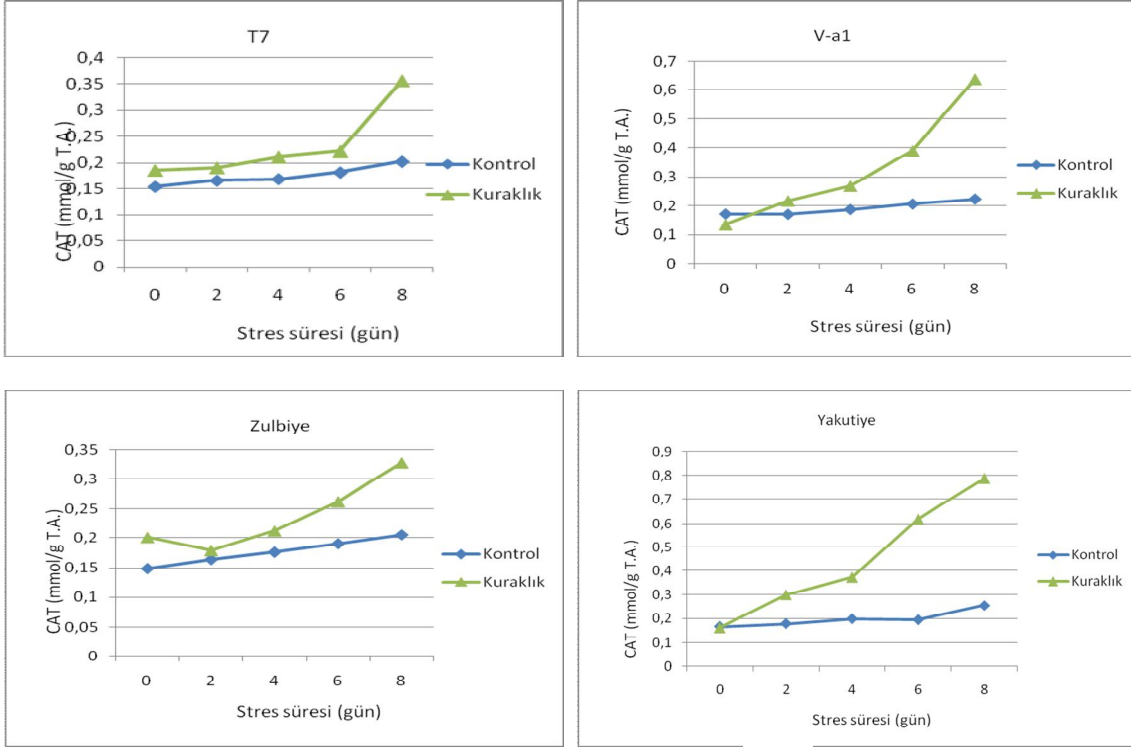
Şekil 3. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) klorofil A+B düzeyinde meydana gelen değişimler.

Kuraklık stresinin ilerleyen aşamalarında duyarlı olan fasulye genotiplerinin yapraklarındaki MDA oranı, tolerant olan genotiplere oranla daha yüksek çıkmıştır. Kuraklığa tolerant genotiplerde 8. stres gününde MDA oranı fazla artarken duyarlı genotiplerde ise 6. stres gününde MDA oranları daha fazla artmıştır (Şekil 4). Hücre membranı tahribatına yol açan lipid peroksidasyonu, birkaç reaksiyon basamağı sonucunda malondialdehit (MDA) ürünü üretmektedir (Kuşvuran 2010; Güneri Bağcı 2010; Kacar ve ark., Terzi ve ark 2010). Fasulye bitkisinde kuraklığın lipid (MDA) ve antioksidant enzim aktivitelerinde artış ve dokularda da zararlanmalara yol açtığı belirtilmektedir (Türkan ve ark. 2005). Kuraklık stresinin ilerleyen aşamalarında antioksidatif enzim olan CAT, SOD ve APX içerikleri tolerant genotip olan Yakutiye ve V-a1 genotiplerinde, stres sonucunda hassas genotiplere nazaran oldukça belirgin bir artış göstermiştir. V-a1, Yakutiye ve T7, Zulbiye çeşitleri 8. stres gününde ki CAT içerikleri 2. stres gününe nazaran daha fazla artış göstermiştir (Şekil 5). SOD içeriği açısından duyarlı ve özellikle tolerant genotiplerde daha fazla artış olmuştur (Şekil 6). APX içeriğine bakıldığında Zulbiye çeşidinde 2. stres gününde düşüş ve 4. stres gününde yükselme belirlenirken, 8. stres gününde Yakutiye ve V-a1 çeşitlerindeki daha fazla artış olmakla beraber T7 ve Zulbiye çeşitlerinde de belirlenmiştir (Şekil 7). Antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), askorbat peroksidaz (APX) enzim aktiviteleri gibi parametreler incelenen bir nohut çalışmasında yer alan çeşitlerin kuraklık stresine farklı tepkiler gösterdikleri bildirilmiştir. Bütün nohut çeşitlerinde kuraklık stresine bağlı olarak  $H_2O_2$  birikimi ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunda artış gerçekleştiği bildirilmiştir. Kuraklığa bağlı olarak enzimatik antioksidanlardan SOD azalırken, CAT ve APX artış göstermiştir çalışma sonucunda, sera ve tarla koşullarındaki çeşitlerinin diğer çeşitlere göre kuraklığa toleransının yüksek olduğu bildirilmiştir (Güneri Bağcı 2010). Fasulye çeşitlerinin klorofil içeriği ve lipid (MDA) peroksidasyonuna kuraklık tolerans seviyelerinin belirlenmesiyle ilgili çalışmada, katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) aktivitelerindeki artışın diğer çeşitler ile kıyaslandığında daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Terzi ve ark 2010).



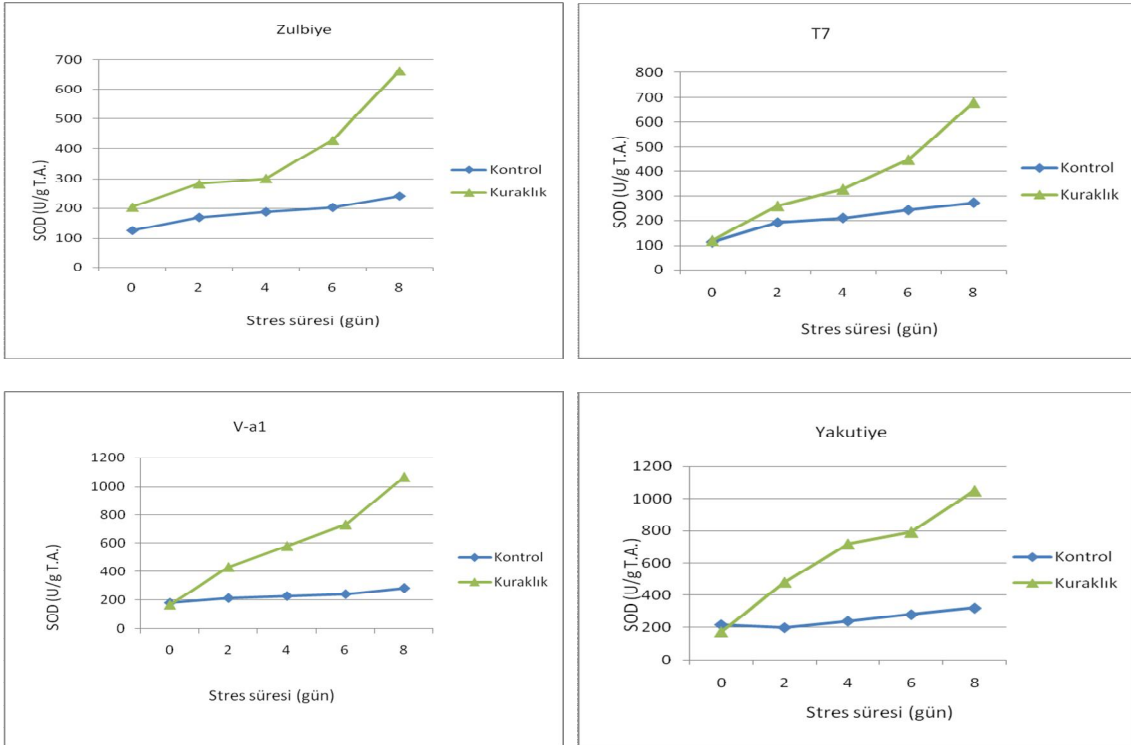
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 4. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) MDA miktarında (nmol/g T.A) meydana gelen değişimler.



\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p<0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

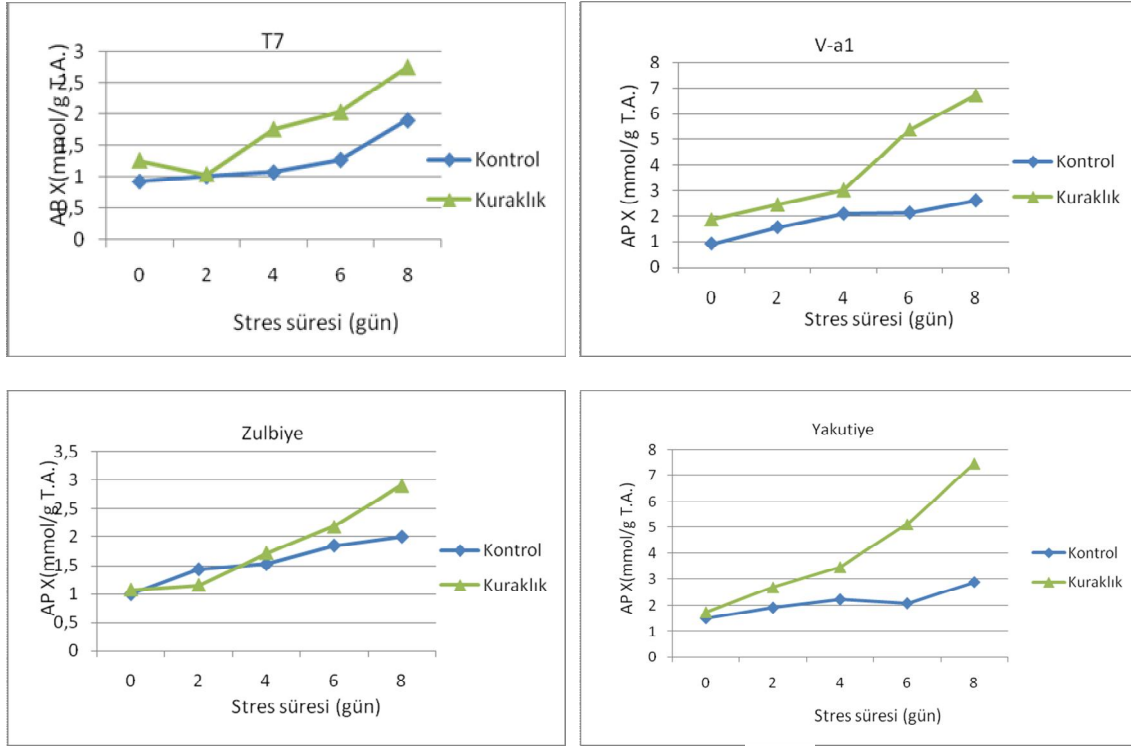
Şekil 5. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) CAT miktarında (mmol/g TA) meydana gelen değişimler.



\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p<0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 6. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) SOD enzim aktivitesinde (ünite/g TA) meydana gelen değişimler.

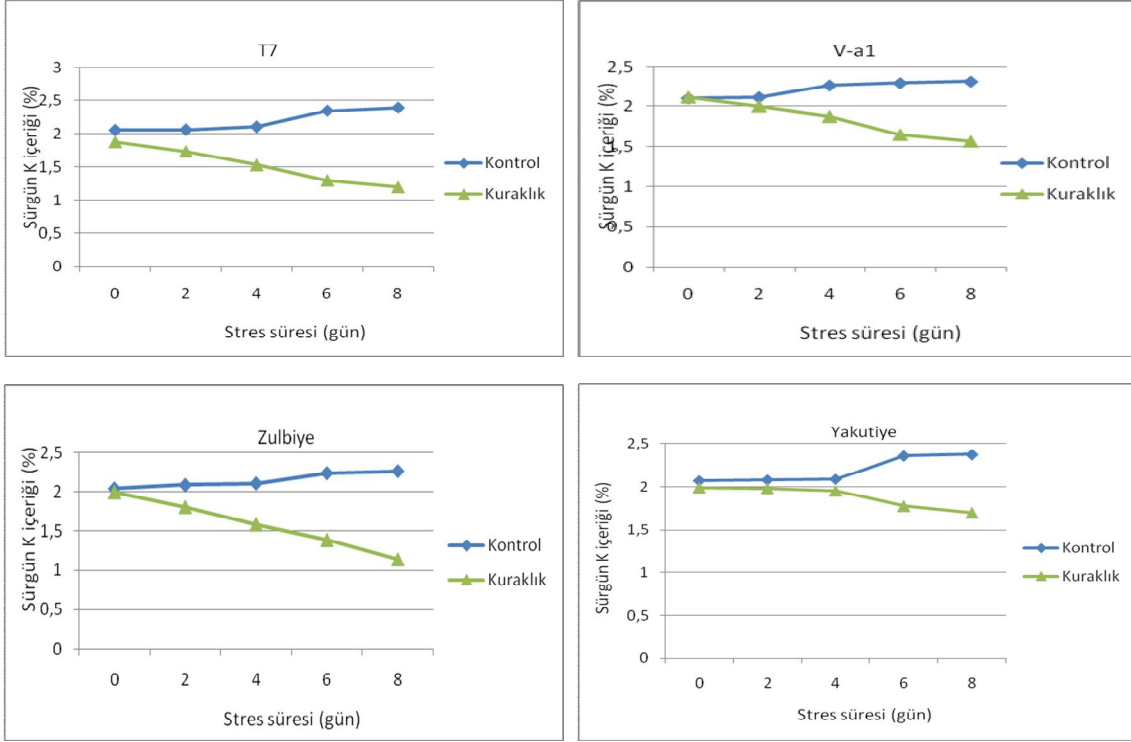




\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

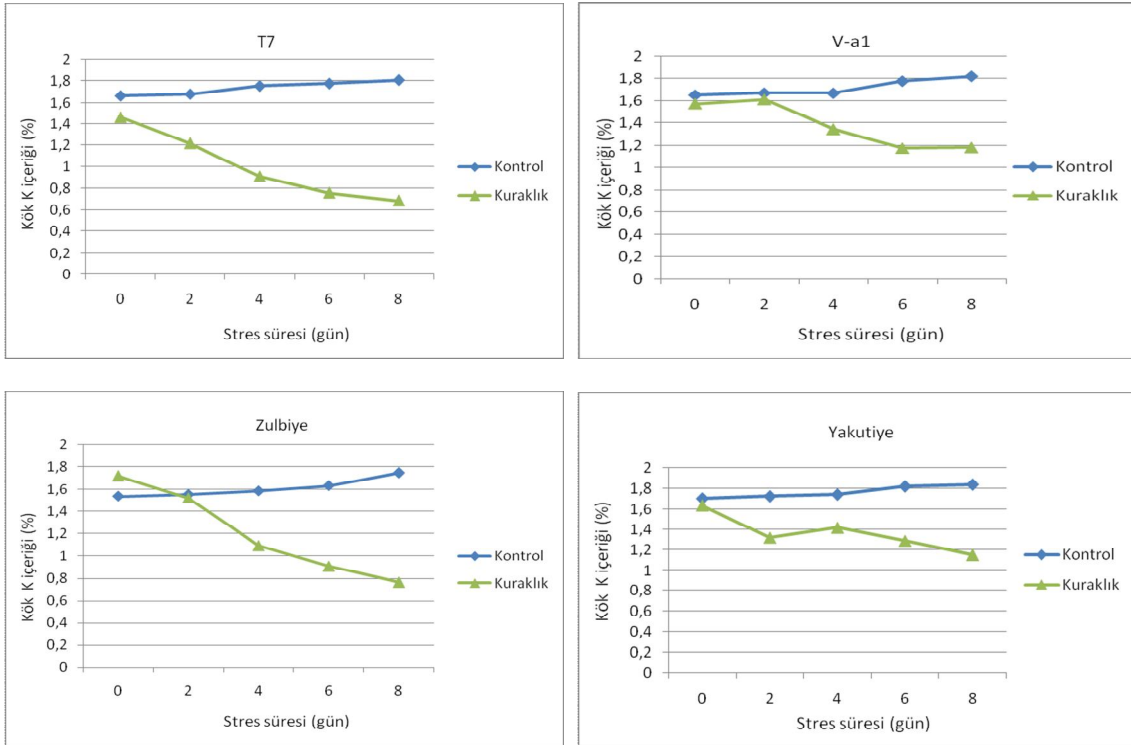
Şekil 7. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) APX enzim aktivitesinde (mmol/g T.A.) meydana gelen değişimler

Potasyum eksikliği ve Na toksisitesi dünyada ve bitkisel üretim sınırlayan başlıca sorunlar arasındadır. Potasyum (K) bitkiler için önemli bir besin maddesidir ve genellikle bitkilerde en bol katyondur. Bununla birlikte sodyum (Na) bitkiler için minimum seviyede bile sorun yaratabilmektedir (Aktaş 2002; Daşgan ve ark. 2006). Fasulye genotiplerinin yeşil aksam ve kök bölgesindeki K ile Ca içerikleri kuraklık stresinin başlangıcı kabul edilen sıfırıncı gün içeriği 8. gün içeriğinden fazla çıkmıştır (Şekil 8-13). Bu ise stresten etkilenmenin kalsiyum ve potasyumun azlığına bağlı olduğunu göstermektedir. Sodyum oranı ise istatistiksel olarak önemli çıkmasına karşın stresin 8. günü sonunda az miktarda artış göstermiştir. Yeşil aksam ve kök bölgesindeki K/Na ve Ca/Na oranlarında da görüleceği üzere Na miktarının fazla K ve Ca miktarının az olduğu genotiplerde zararlanmaların daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 14-17). Yapılan çalışmalarda kuraklık sonucunda ortamda tuzlulaşma meydana gelmekte ve Na birikimine neden olmaktadır. Stoma kapatma hücrelerinde K birikmesi sonucu su potansiyelinin düşmesi ve buna mukabil hücreye su girmesi ve yine bu hücrelerde K eksilmesi sonucu şeker ve nişasta birikmesi nedeniyle su potansiyelinin artmasına neden olur. Ancak ilave K sağlanması durumunda, bozulmuş olan hücre içi elektrolitik denge düzelmekte, aynı membran bağlama yörelerinde Na ile rekabet edecek K miktarı artmakta ve bozulmuş olan hücre içi Na/K dengesi yeniden ayarlanarak metabolik faaliyetler düzene girebilmektedir. Abiyotik stres, K gibi Ca alımını da olumsuz etkilemektedir. Na hücre zarındaki Ca ile yer değiştirerek apoplast kısmında Na/Ca iyon oranlarının artmasını sağlar. Bu durumda, zarın fizyolojik ve fonksiyonel yapısı bozulur ve hücrenin Ca dengesi bozulur. Yüksek Na konsantrasyonu; hücrenin iç zar yapılarında bağlı halde bulunan Ca'ların serbest hale geçerek içsel Ca depolarının boşalmasına ve hücrede serbest Ca'ların artışına neden olmaktadır (Kaya ve Tuna 2010). Kuraklık stresi uygulanan fasulyelerden Kuraklığa tolerant Yakutiye-98 ve hassas Zulbiye fasulye çeşitlerinin kuraklık stresine tepkileri incelendiğinde her iki çeşitte de yaprak su potansiyeli ve stoma iletkenliğini düşürdüğü, simplastta K içeriği düşük çıkarken apoplastta arttığı belirtilmektedir. Kurağa tolerant çeşitte simplastik Na içeriği azalırken, apoplastik Na içeriği arttığı, Kurağa duyarlı Ca içeriği kuraklık stresi boyunca her ikisinde de düştüğü belirtilmiştir. Tolerant çeşitte Ca oranının simplastta arttığı ve apoplastta düştüğü, Na oranının apoplastta ve simplastta değişime uğramadığı belirtilmektedir. Kurağa toleran çeşitte simplastta ve apoplastta ozmotik dengeyi sağlamak amacıyla çok yüksek kapasite gösterdiği vurgulanmaktadır (Güler ve ark. 2012).



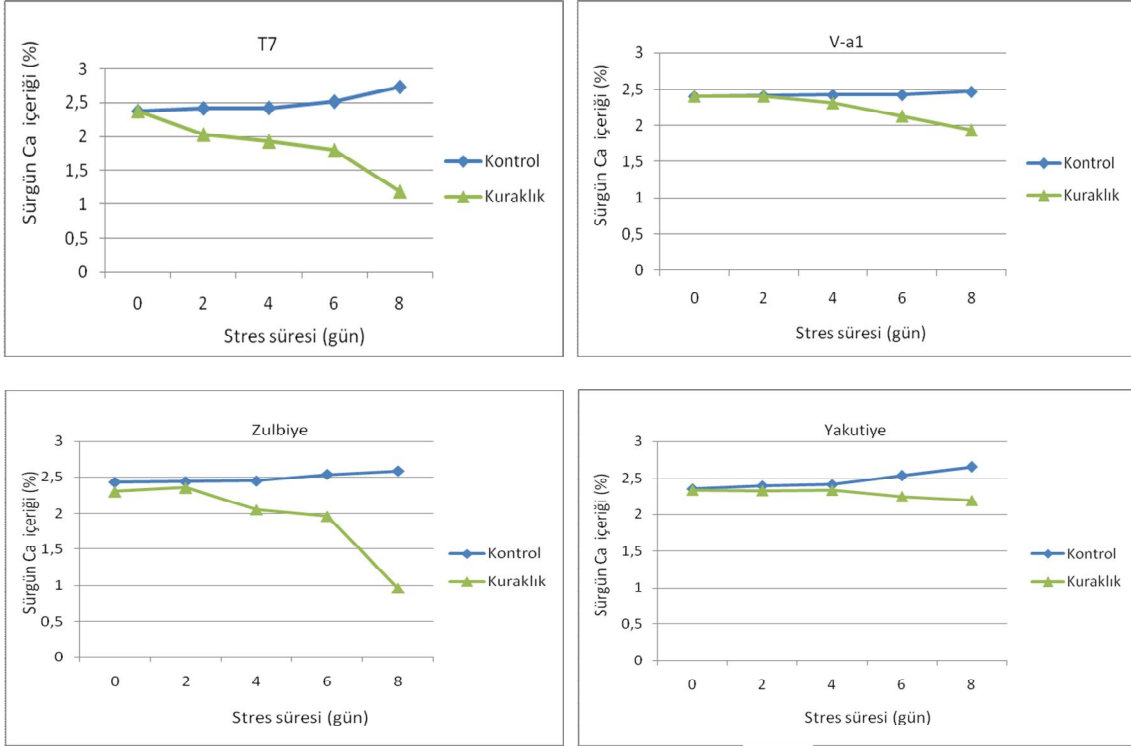
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 8. Fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerdeki K iyonunda (%) meydana gelen değişimler.



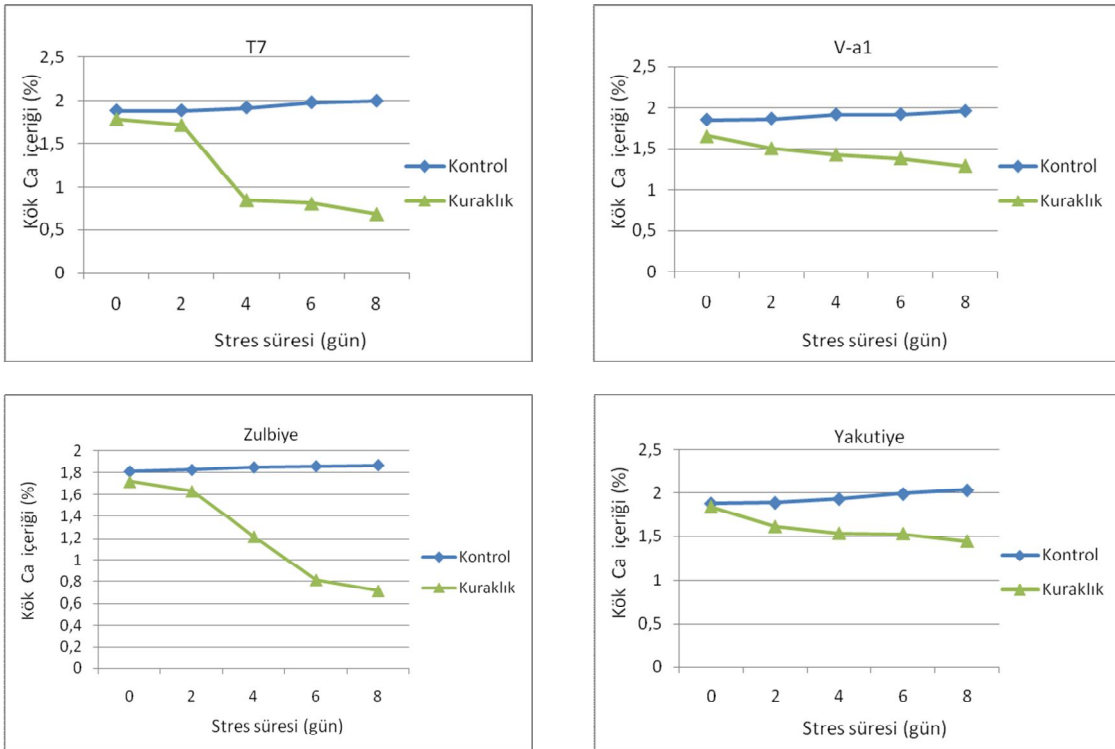
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 9. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerin K iyonunda (%) meydana gelen değişimler.



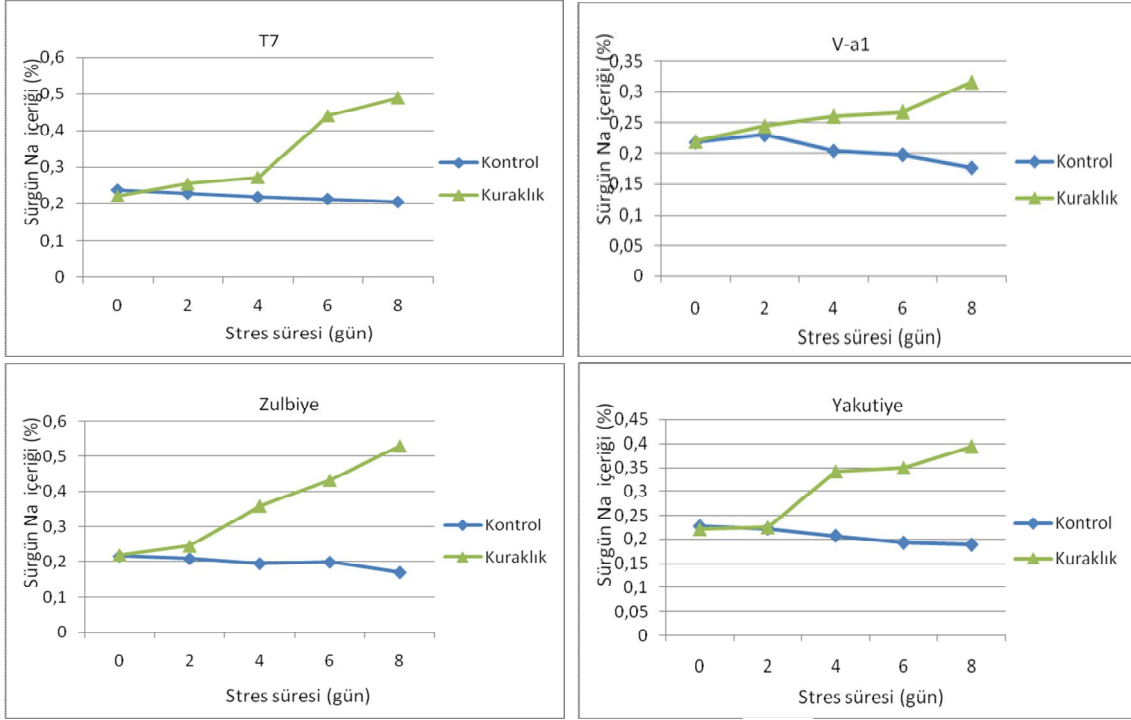
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 10. Fasulye genotiplerinde (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerdeki Ca iyonunda (%) meydana gelen değişimler.



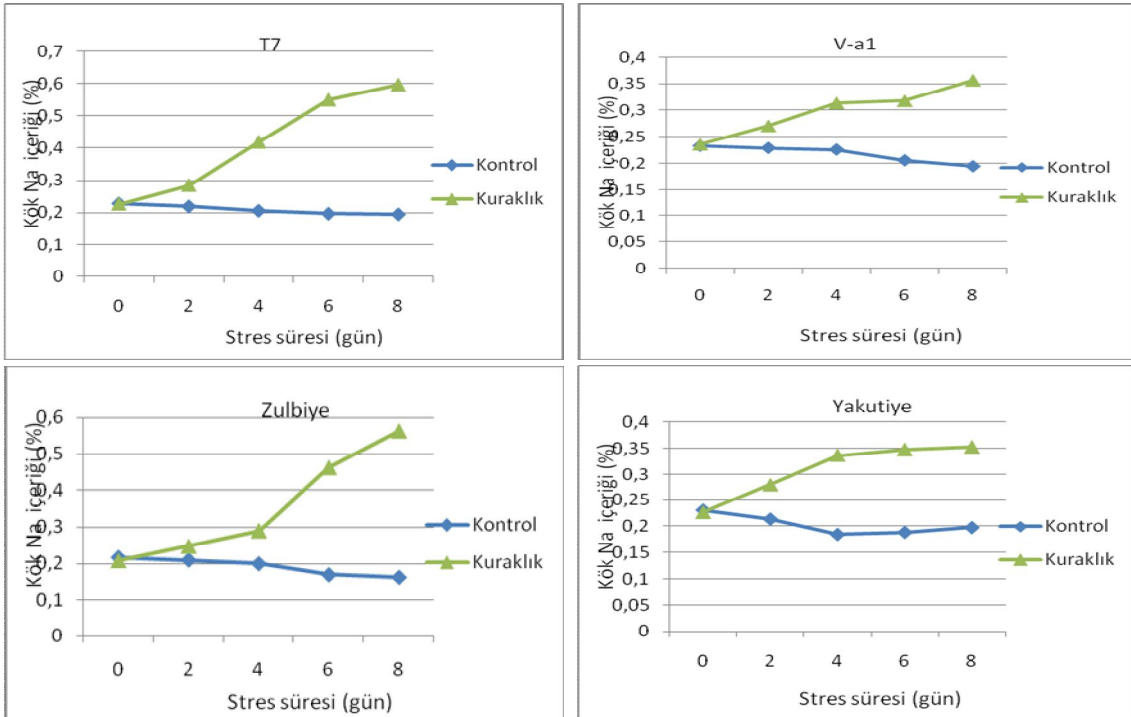
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 11. Fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerinde Ca iyonlarında (%) meydana gelen değişimler.



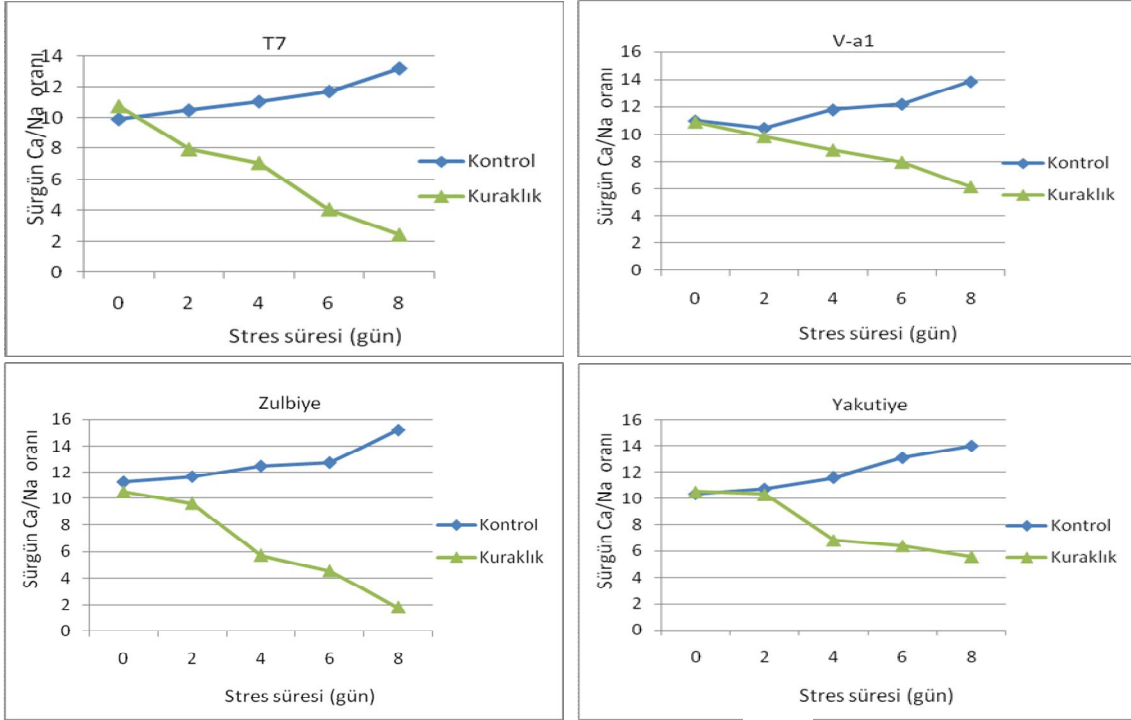
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 12. Fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerinde Na iyonunda (%) meydana gelen değişimler.



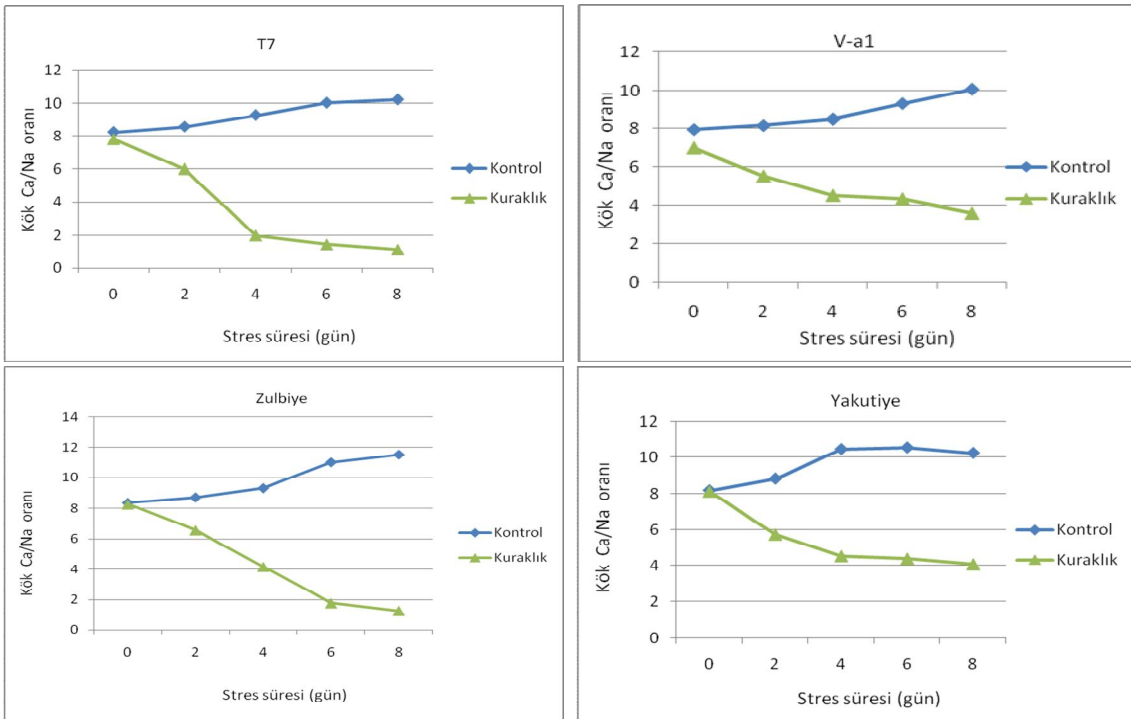
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 13. Fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerinde Na iyonunda (%) meydana gelen değişimler.



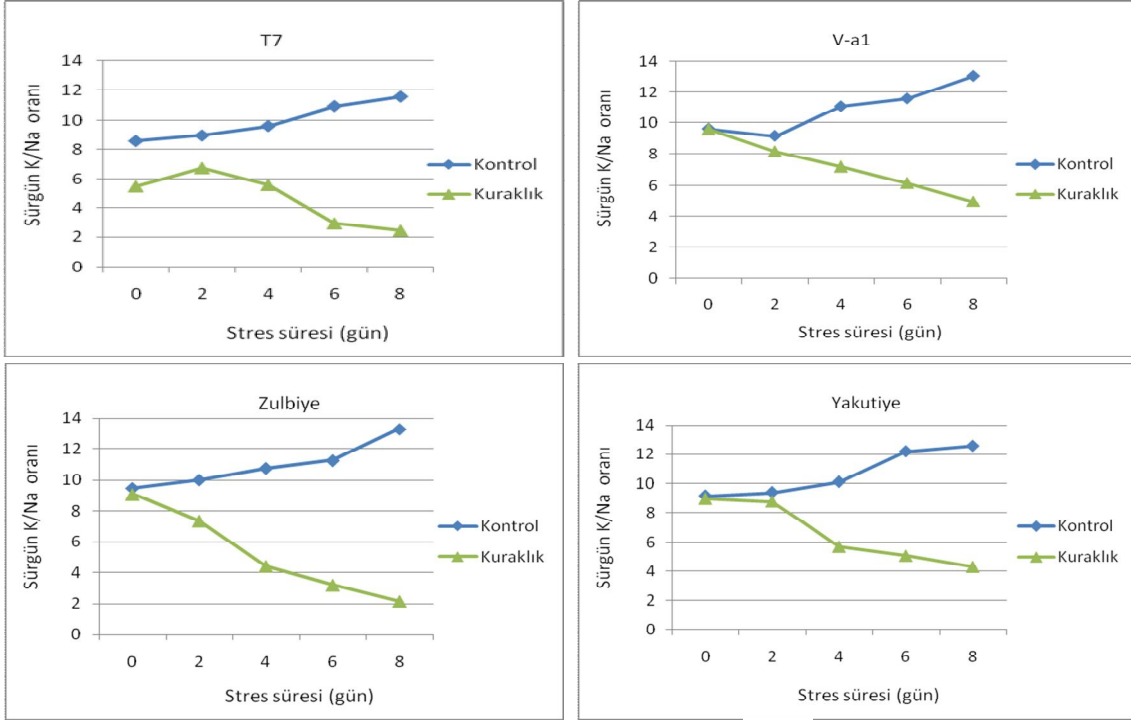
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 14. Fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerinde Ca/Na oranındaki (%) meydana gelen değişimler.



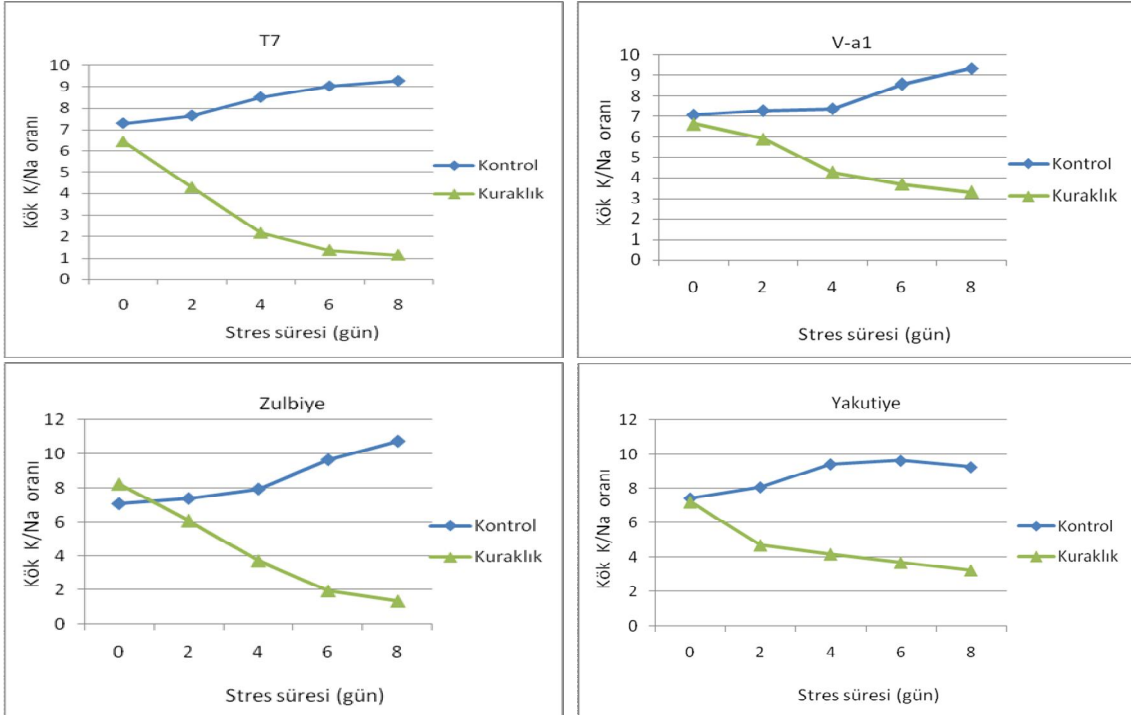
\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 15. Fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerindeki Ca/Na oranında (%) meydana gelen değişimler.



\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 16. Fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürğünlerinde K/Na oranındaki (%) meydana gelen değişimler.



\*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ( $p < 0.05$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 17. Fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerinde K/Na oranındaki (%) meydana gelen değişimler.

## Sonuç

Fasulyede kuraklığa duyarlı ve tolerant genotiplerin kuraklık stresleri süresince klorofil, enzim, MDA ve iyon içeriklerinin incelendiği çalışmada tolerant ve duyarlı çeşitler arasında ciddi farklar görülmüştür. Kuraklık stres koşullarının klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarında azalma duyarlı genotiplerde daha fazla olmuştur. Fasulye genotiplerinin MDA miktarı incelendiğinde kuraklık stresinin ilerleyen aşamasında duyarlı olan fasulye genotiplerinin yapraklarındaki MDA oranı, tolerant olan genotiplere oranla daha yüksek çıkmıştır. CAT, SOD ve APX'in tolerant genotiplerindeki miktarları, duyarlı genotiplere göre artmıştır. Fasulye genotiplerinin yeşil aksam ve kök bölgesindeki K ile Ca içerikleri kuraklık stresi sonunda düşmesine karşın Na içeriğinde ise çok az miktarda artış olmuştur. Çalışmamızın sonunda, fasulye genotiplerinde kuraklık stresinin etkilerini belirlemek amacıyla uyguladığımız parametrelerin, kuraklık stresine tolerant genotiplerin seçiminde uygun kriterler olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır.

## Teşekkür

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2013-FBE-D011). Zulbiye tohum örneği, Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden ve Yakutiye tohum örneği Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

## Kaynaklar

- Aktaş H (2002). Biberde Tuza Dayanıklılığın Fizyolojik Karakterizasyonu ve Kalıtımı. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, Adana, 105 sayfa
- Amira MS, Qados A (2011). Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). Journal of The Saudi Society of Agricultural Sciences. 10:7-15
- Daşgan HY, Koç S, Ekici B (2006). Bazı fasulye ve börülce tiplerinin tuz stresine tepkileri. Alatarım Dergisi 5(1): 23 – 31
- Güler NS, Sağlam A, Demiralay M, Kadioğlu A (2012). Apoplastic and symplastic solute concentrations contribute to osmotic adjustment in bean genotypes during drought stress. Turk J Biol, 36: 151-160.
- Güneri Bağcı E (2010). Nohut Çeşitlerinde Kuraklığa Bağlı Oksidatif Stresin Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerle Belirlenmesi (Doktora tezi). Ankara üniversitesi Fen Bilimleri. Ankara.403s.
- Ekinci alp A, Sensoy S (2013). Van Gölü Havzası fasulye genotiplerinin bazı bitkisel özelliklerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 23(2): 102-111.
- Erdinç Ç, Türkmen Ö, Şensoy S (2013a) Türkiye'nin bazı fasulye genotiplerinin çeşitli bitkisel özelliklerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 23(2): 112-125.
- Erdinç Ç, Yıldız M, Kabay T, Türkmen Ö, Şensoy S (2013b). Molecular genetic diversity in Lake Van Basin melons based on RAPD and ISSR markers. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 23(3): 264-270.
- Jebara S, Jebara M, Limam F, Aouani ME (2005). Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. Journal of Plant Physiology, 162(8): 929-936.
- Kacar B, Katkat B, Öztürk Ş (2006). Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayım Dağıtım.
- Kaya C, Tuna AL (2010). Potasyumun Tuz Stresinde Yetişen Bitkilerde Rolü ve Önemi. <http://www.ipipotash.org>
- Kuşvuran Ş (2010). Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleranslı Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar (Doktora tezi, basılmamış). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana. 356s.
- Koç S (2005). Fasulyelerde Tuzluluğa Tolerans Bakımından Genotipsel Farklılıkların Erken Bitki Gelişimi Aşamasında Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. - Yüksek Lisans tezi s. 87.
- Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biomchem. Soc. Transac., 11:591-592.
- Özen HÇ, Onay A (2007). Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayım Dağıtım,.

- Rosales Serna R, Shibata JK, Acosta Gallegos JA, Trejo Lopez C, Ortiz Cereceres J, Kelly JD (2005). Carbohydrate content in plant organs and seed yield in common bean under drought stress..Agricultura Técnica en México, 31(2):139-151.
- Sanchez-Rodriguez E, Rubio-Wilhelmi M, Cervilla LM, Blasco B, Rios JJ, Rosales MA, Ruiz JM (2010). Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants. Plant science, 178(1):30-40.
- Terzi R, Sağlam A, Kutlu N, Nar H, Kadioğlu A (2010). Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars. Turkish Journal of Botany, 34(1): 1-10.
- Türkan İ, Bor M, Özdemir F, Koca H (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* gray and drought sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediates water stress. Plant Science, 168; 223-231.
- Zengin FK (2007). Fasulye fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) pigment içeriği üzerine bazı ağır metallerin etkileri. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi (10-2): 164-172.