

Turgay KABAY¹
Suat ŞENSOY²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Erciş Meslek Yüksekokulu, 65400, Van / Türkiye
²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 65040, Van / Türkiye
sorumlu yazar: turgaykabay@gmail.com

Yüksek Sıcaklığın Fasulyede Enzim, Klorofil ve İyon Değişimine Etkisi

Enzyme, Chlorophyll and Ion Changes in Some Common Bean Genotypes by High Temperature Stress

Alınış (Received): 30.01.2017

Kabul tarihi (Accepted): 02.05.2017

Anahtar Sözcükler:

Phaseolus vulgaris, yüksek sıcaklık stresi, antioksidant, enzim, klorofil

Key Words:

Antioxidant, chlorophyll, enzyme, high temperature, *Phaseolus vulgaris*

ÖZET

Fasulye yetiştiriciliğinde yüksek sıcaklık birim alan verimini ve kaliteyi olumsuz etkileyen stres faktörlerinin başında gelmektedir. Bu çalışmada üretim dönemindeki yüksek sıcaklık nedeniyle fasulyede oluşacak verim ve kalite düşüşlerini aza indirmek amacıyla tolerant ve duyarlı genotiplerin enzim, klorofil ve iyon içeriklerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Çalışmada yüksek sıcaklık stresine tolerant (Yakutiye ve V-a1) ve duyarlı (Zulbiye ve T7) fasulye genotiplerinde beş ayrı dönemdeki yüksek sıcaklık stresinin değişimleri incelenmiştir. Fasulye tohumları, 2:1 oranında torf:perlit karışımı içeren 2 litrelik saksılarda her birinde üç bitki olacak şekilde ekilmiştir. Bitkiler 3 gerçek yapraklı aşamaya ulaştığında yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılmak amacıyla sera içindeki yüksek tünele nakledilmişlerdir. Bitkilerin tünele aktarıldığı gün sıfırinci (0.) gün kabul edilmiştir. Söz konusu genotiplerin katalaz (CAT), süper oksid dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), malondialdehit (MDA), Klorofil-a, Klorofil-b ve toplam klorofil, K, Ca ve Na iyon içeriklerinin yüksek sıcaklık stresinin 0., 2., 4., 6. ve 8. günlerindeki değişimleri incelenmiştir. İncelenen parametrelerin yüksek sıcaklık stresi sonucunda fasulye genotiplerinde klorofil ve iyon seviyeleri kontrol grubundaki genotiplere nazaran düşerken enzim seviyelerinde ise artışlar olmuştur.

ABSTRACT

High temperature in bean growing is one of the stress factors that negatively affects the unit area yield and crop quality. In this study, it is important to determine the enzyme, chlorophyll and ion contents of tolerant and susceptible bean genotypes in order to reduce the yield and quality reductions due to the high temperature during production period. Changes in high-temperature stress in five different periods in high temperature stress tolerant (Yakutiye and V-a1) and susceptible (Zulbiye and T7) bean genotypes were investigated in the study. Bean seeds were planted in a 2 liter pot containing peat: perlite mixture in a 2:1 ratio as each pot contains three plants. When the plants reached 3 true leaf stages, they were transferred to the high tunnel in the greenhouse to expose them to high temperature stress. The day the plants were transferred to the tunnel was taken to be the zeroth (0.) day. 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 of the mentioned bean genotypes were examined on the 0th, 2nd, 4th, 6th and 8th days of the high temperature stress. High temperature stress caused significant decrease in the chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll amount of susceptible genotypes. In addition, the susceptible bean genotypes were found to have a higher MDA ratio than the tolerant genotypes. The amounts of CAT, SOD and APX in tolerant genotypes were increased with respect to susceptible genotypes.

GİRİŞ

Son yıllarda küresel ısınma sonucunda sıcaklık ve kuraklığın aşırı artışı bitkisel üretimi olumsuz etkilemektedir. Örtüaltı yetiştiriciliğinin son yıllarda yaygınlaşması sebze üretiminde yüksek sıcaklık zararının artışına neden olmuştur (Ekincialp ve Sensoy,

2013; Erdiç ve ark. 2013; Çerçioğlu ve ark., 2017). Yüksek sıcaklık, bitkilerde büyüme üzerine olumsuz etki yapar ve özellikle gövdede nekrotik berelenmelere neden olur. Yüksek sıcaklık, moleküllerin hareketlerini hızlandırırken, makro moleküller arasındaki bağların gevşemesine, biyo membranların daha fazla akışkan

olmasına neden olmaktadır (Kacar ve ark., 2006; Özen ve Onay, 2007; Wahid ve ark., 2007). Düşük sıcaklık koşullarında yetişen serin iklim bitkilerinde fotosentez miktarının sıcak iklim bitkilerindeki fotosentez miktarından yaklaşık üç kat daha fazla olduğu; buna karşın yüksek sıcaklıkta yetişen sıcak iklim bitkilerinde ise fotosentez miktarının serin iklim bitkilerine göre yaklaşık beş kat daha fazla olduğu saptanmıştır (Lichtenthaler, 1983; Zengin, 2007; Amira, 2011). Bezelye bitkileri 45 °C' de 24 saat tutulduğunda fotosentezde azalma olurken, klorofil oranının ise düştüğü vurgulanmaktadır (Georgieva ve ark., 2007). Soya fasulyesinde yapılan çalışmada 28 °C' de bırakılan soya fasulyesi tohumlarında fide oluşumunun normal olduğu saptanırken doğrudan 45 °C' de bırakılan tohumlardan fide oluşumunun yok denecek düzeyde kaldığı belirtilmektedir (Kacar ve ark., 2006; Yıldız ve Terzi, 2007). Yüksek sıcaklık stresi koşulundaki bitkisel üretimde besin alımının da olumsuz yönde etkilendiği bildirilmektedir. Bu konuda yapılan birçok çalışmada yüksek sıcaklık stresi altında bitkilerin mineral madde alımlarının azaldığı bildirilmektedir (Nam, 2010).

Potasyum (K) bitkiler için zorunlu bir besin elementi olup çoğunlukla bitkilerde en fazla bulunan katyondur. Ancak sodyum (Na) ise bitkiler için minimum düzeyde bile toksik olabilmektedir. Bitkide sodyum miktarı, yaşlı yapraklardan başlayarak sürgün ve yapraklarda nekrotik lekeler gibi semptomlar oluşturduğu bildirilmektedir (Aktaş, 2002). Bitkide Na miktarının varlığı, K gibi Ca alımını da olumsuz etkilemektedir. Na hücre zarındaki Ca ile yer değiştirerek apoplast kısmında Na/Ca iyon oranlarının artmasını sağlar. Bu durumda, hücre zarının fizyolojik ve fonksiyonel yapısı bozulur ve hücrenin Ca dengesi değişir (Kaya ve Tuna, 2010).

Abiyotik streslerin sonucunda bitkilerde su alımında problemler ortaya çıkmaktadır. Ozmotik etkiler sonucunda su eksikliği oluşmakta ve su eksikliği süperoksit (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikalleri (OH⁻) gibi çeşitli reaktif oksijen türevleri' nin (ROT) oluşumuna neden olmaktadır (Güneri Bağcı 2010). Fasulye bitkisinde kuraklığın lipid (MDA) ve antioksidant enzim aktivitelerinde artış oluşturduğu ve dokularda da zararlanmalara yol açtığı belirtilmektedir (Türkan ve ark., 2005; Rosales ve ark., 2005; Kabay ve Şensoy, 2016). Fasulye çeşitlerinin kuraklık stresine tolerans seviyelerinin belirlenmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada klorofil içeriği hassas çeşitlerde ki oranları duyarlı çeşitlere nazaran azaldığı belirtilirken MDA, CAT ve APX aktivitelerin ise hem tolerant ve hem de hassas çeşitlerde arttığı belirtilmektedir (Terzi ve ark., 2010). Domateste yapılan su stresi çalışmasında su stresinin verim ve meyve kalitesinin düşmesine neden olduğu belirtilmektedir. Ayrıca yaprak oransal su içeriği dayanıklı çeşitlerde iyi hassas çeşitlerde ise düşük çıktığı

belirtirken antioksidant içeriği ise duyarlı çeşitlerde dayanıklı çeşitlere nazaran daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Sanchez ve ark., 2010).

Fasulyelerde su ve yüksek sıcaklık stresi arasındaki olası çapraz direnci belirleme çalışmasında, 38 °C ve su stresine duyarlı fasulye çeşidinin (Arroz Tuscola) yapraklardaki fizyolojik veriler olumsuz etkilenirken, dayanıklı çeşitteki (Orfeo Inia) yaprakların fizyolojik verileri kontrol grubundaki bitkilere (normal fasulye yetiştiriciliği kriterlerine uygun şekilde yapılan yetiştiricilik) yakın çıktığı bildirilmiştir (Gonzalez ve Pastenes, 2012). Domates bitkileri gündüz 31 – 32 °C ve gece ise 25 – 26 °C' de ve kontrol grubu bitkilerin ise gündüz 28 °C ve gece ise 22 °C sıcaklıklarda tutulduğu çalışma sonucunda; polen sayısı ve canlılığında, tohum çimlenmesinde, meyve tutumu ve meyvede tohum sayısında azalma olduğu bildirilmektedir (Zushi ve ark., 2012). Beş buğday genotipinde antioksidant enzim aktivitesine yüksek sıcaklık etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da, geç ekim ve çok geç ekim uygulamalarında klorofil içeriği, bitki büyümesinin tüm aşamalarında azalma veya yavaşlama göstermiştir (Almeselmani, 2006). Buğday çeşitlerinde geç ve çok geç tohum ekim döneminde yüksek sıcaklığın enzim ve klorofil oranlarında düşümlere neden olduğu belirtilmektedir (Barnabas ve ark., 2008). Bu bulgulardan hareketle planlanan bu çalışmada yüksek sıcaklığa tolerans bakımından taranan fasulye genotipleri içinde tespit edilen yüksek sıcaklığa tolerant (Yakutiye ve V-a1) ve duyarlı (Zulbiye ve T7) fasulye genotiplerindeki yüksek sıcaklık stresinin enzim, klorofil ve iyon miktarında oluşturduğu değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada kullanılan fasulye genotipleri tarafımızca yürütülen ön çalışmada belirlenen genotiplerden seçilmiştir. Bu amaçla yüksek sıcaklık ve kuraklık stresine tolerant Yakutiye ve V-a1 genotipleri ile ve duyarlı Zulbiye ve T7 genotipleri bu çalışmanın bitkisel materyallerini oluşturmuştur. Seçilen fasulye genotiplerinde yüksek sıcaklık stresinin beş ayrı dönemdeki değişimlerine bakılmıştır. Fasulye tohumları 2:1 oranında torf ve perlit karışımı içeren 2 litrelik saksıların her birine üç bitki olacak şekilde ekilmiştir. Tohum ekiminden itibaren 24. gün stresin sıfıncı günü kabul edildikten sonra 26. gün 2., 28. gün 4., 30. gün 6. ve tohum ekiminden itibaren 32. gün stresin 8. günü olup, bitkilerdeki değişimler incelenmiştir. Deneme dört tekerrürlü ve her tekerrürde üç saksı ve her saksıda üç bitki olacak şekilde kurulmuş olup saf su ile hazırlanmış Hogland besin çözeltisi kullanılarak sulama yapılmıştır. Çalışma, tesadüf parsellerine göre yapılan faktöriyel deneme desenine

göre düzenlenmiş olup 2 grup (kontrol ve yüksek sıcaklık stresi) 4 çeşit ve 4 tekrardan oluşan toplam 32 parselden oluşturulmuştur. Tohum ekiminden çalışmanın sonuna kadar kontrol çalışmasında ortalama gündüz sıcaklığı 30.43 °C gece sıcaklığı ise 17.72 °C kaydedilmiştir. Buna karşılık, yüksek sıcaklık çalışmasında ise gündüz ortalama sıcaklığı 37.03 °C gece sıcaklığı da 22.35 °C olarak Hobo sıcaklık ve nem ölçer cihazıyla ölçülmüştür. Tohum ekiminden çalışmanın sonuna kadar kontrol çalışmasında ortalama gündüz nem miktarı %27.77 gece nem miktarı %53.52, yüksek sıcaklık çalışmasında gündüz ortalama nem miktarı %29.36 gece nem miktarı da %50.37 olarak kaydedilmiştir.

Mineral element analizleri

Çalışmada tohum ekiminden itibaren 24. gün stresin sıfırıncı günü kabul edildikten sonra 26. gün 2., 28. gün 4., 30. gün 6. ve tohum ekiminden itibaren 32. gün stresin 8. günü olarak analiz için bitki örnekleri alınmıştır. Bitki örnekleri alınırken tekrarı temsil eden bitkinin durumuna göre bir veya iki bitki alınıp bitkinin tümü önce açıkta daha sonra 65 °C'de 48 saat etüvde kurutulmuştur. Kurutulan örneklerden 200 mg yeşil aksamdan ve 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 (Kacar ve ark., 2006; Kuşvuran, 2010; Güneri Bağcı, 2010).

Klorofil miktarı

Bitkiler asıl yerlerindeyken yapraktan alınan 0.25 g örnekleri 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 hesaplanmıştır (Lichtenthaler, 1983; Zengin, 2007; Amira, 2011). Hesaplama aşağıda belirtilen eşitliklere göre yapılmıştır.

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

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

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

Lipit peroksidasyonu

Bitkilerde lipit peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) içeriği olarak ifade edilmektedir. Bitki 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 kısımdan 532 ve 600 nm dalga boyunda absorpsiyon belirlenmiş ve aşağıdaki eşitlik ile malondialdehit (MDA) içeriği belirlenmiştir (Güneri Bağcı, 2010).

$$\text{MDA (nmol ml}^{-1}\text{)} = [(A532-A600)/155000] 10^6$$

Antioksidatif enzim analizleri

Dondurulmuş 1 g yaprak örneği 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., 2005; Güneri Bağcı, 2010).

Katalaz (CAT) aktivitesi

Katalaz aktivitesi, 240 nm dalga boyunda H₂O₂'nin kaybolmasının izlenmesi ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi olarak 0.05 M fosfat tamponu (KH₂PO₄), 1.5 mM H₂O₂ 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 absorpsiyondaki değişim dikkate alınarak yapılmıştır (Jebara ve ark., 2005; 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 (Na₂HPO₄ x H₂O₂), 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⁻² s⁻¹ (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., 2005; Güneri Bağcı, 2010).

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi

Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm dalga boyunda askorbik aside bağlı H₂O₂'nin indirgenmesi ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisi olarak 50 mM fosfat tamponu (KH₂PO₄), 0.5 mM askorbik asit, 0.1 mM EDTA,

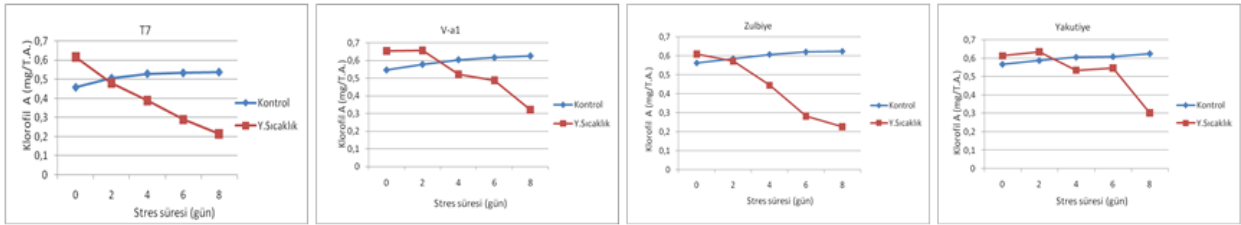
1.5 mM H₂O₂ karışımı kullanılmıştır (pH: 7.0). 3 ml reaksiyon çözeltisi ile 0.1 ml bitki ekstraktı karıştırılmıştır. Spektrofotometrede 290 nm dalga boyunda 0. ve 60. saniye okumaları alınmıştır. Reaksiyon 0.1 ml enzim ekstraktının ilavesi ile başlatılmıştır. Değerlendirme 1 dakika içinde absorbansdaki değişim dikkate alınarak yapılmıştır (Jebara ve ark., 2005; Güneri Bağcı, 2010).

Denemelerde kullanılan istatistik analizi

Fasulye genotiplerinde yüksek sıcaklık stresinin beş ayrı dönemindeki değişimlerine bakılmıştır. Tohumlar kontrol ve yüksek sıcaklık gruplarında 4 çeşit 4 tekerrürlü olarak 32 parselde ekilmiştir. Tohum ekiminden itibaren 24. gün stresin sıfırncı günü kabul edildikten sonra 26. gün 2., 28. gün 4., 30. gün 6. ve tohum ekiminden itibaren 32. gün stresin 8. günü olup, bitkilerdeki değişimler incelenmiştir. Çalışmada, tesadüf parsellerine göre yapılan faktöriyel (çeşit – stres – stres süresi) deneme deseni kullanılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri kullanılan deneme desenine göre SAS (9.0) paket programında varyans analizine tabii tutulmuştur.

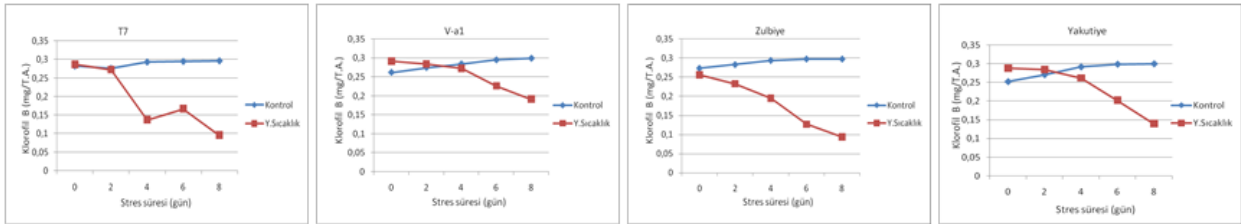
ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çalışmada K, Ca miktarları ve Na ile oranları stres süresince olumsuz etkilenmiştir. Stres süresince kontrol grubundaki bitkilerin K ve Ca miktarları artış göstermiştir. Ancak stres süresince duyarlı genotiplerdeki K ve Ca miktarları tolerant genotiplerdeki K ve Ca miktarından daha fazla azalmıştır. Yüksek sıcaklık stres şartlarında özellikle K iyonu bitkilerde dayanıklılığı arttırmaktadır. Potasyum (K) ve kalsiyum (Ca) bitkiler için zorunlu bir besin elementi olup çoğunlukla bitkilerde en fazla bulunması gereken iyonlardır. Na ise üretimin yapıldığı alanda veya bitkilerde iz miktarda bulunsun bile K ve Ca'nın yetersiz bulunduğu durumlarda bitkilerde özellikle abiyotik ve biyotik strese zararlanmalarını arttırmaktadır (Özen ve Onay, 2007; Kacar ve ark., 2010; Zushi ve ark., 2012). Yüksek sıcaklığın oluşturduğu stres koşullarının klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil de düşümlere neden olduğu; bununla birlikte, bu düşüşlerin duyarlı genotiplerde tolerant olan genotiplere nazaran daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 1, 2 ve 3).



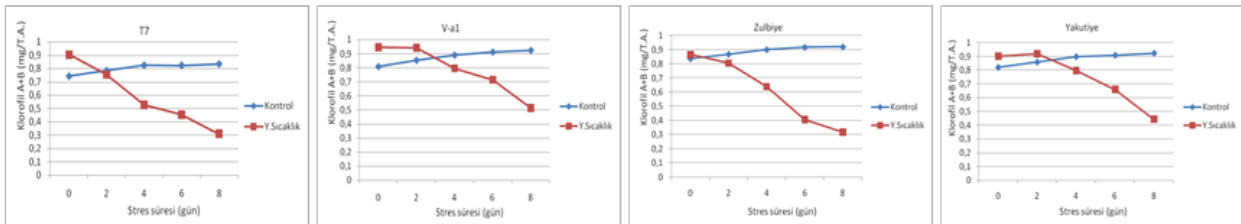
*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ($p < 0.05$) düzeyinde önemli bulunmuştur.

Şekil 1. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) klorofil a düzeyinde meydana gelen değişimler
Figure 1. Changes in the chlorophyll a level of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 2. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) klorofil b düzeyinde meydana gelen değişimler
Figure 2. Changes in the chlorophyll b level of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



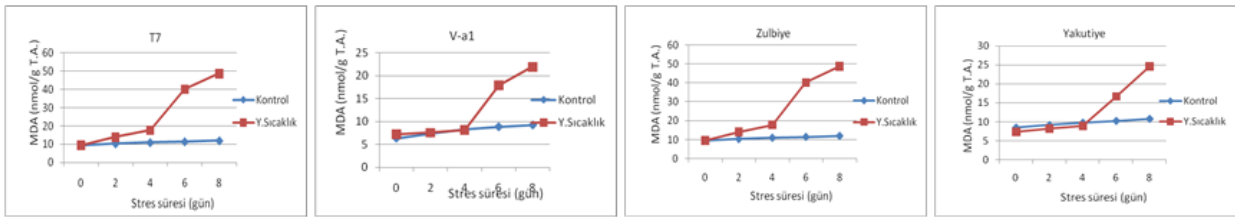
*Stres dönemleri ile genotiplerin verileri arasındaki fark istatistiksel olarak ($p < 0.05$) düzeyinde önemli

Şekil 3. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) klorofil a+b düzeyinde meydana gelen değişimler
Figure 3. Changes in the chlorophyll a+b level of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress

Yüksek sıcaklık stresinde en yüksek klorofil a değeri V-a1 fasulye genotipinin 2. stres gününde ve en düşük değer ise T7 genotipinde stresin 8. gününde gerçekleşmiştir. Klorofil b değerleri 0. stres günü V-a1 genotipinde en yüksek çıkarken, en düşük değer 8. stres günü Zulbiye fasulye genotipinde belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresinde stres uzadıkça, toplam klorofil değerinde düşüşler gerçekleşmektedir. En yüksek toplam klorofil değeri, stresin başlangıcında (stresin 0. gününde) V-a1 genotipinde elde edilirken, en düşük değerlere T7 genotipinin ise 8. stres gününde rastlanmıştır (Şekil 1, 2 ve 3). Klorofil miktarının stres etkisi süresince olumsuz etkilendiği vurgulanmaktadır (Georgieva ve ark., 2007; Zengin, 2007; Barnabas ve ark., 2008; Güneri Bağcı, 2010; Amira, 2011).

Yüksek sıcaklık stresinin ilerleyen aşamalarında duyarlı olan fasulye genotiplerinin yapraklarındaki MDA oranı, tolerant olan genotiplere oranla daha yüksek çıkmıştır. Stresin ilk döneminden (0. gün) itibaren duyarlı fasulye genotiplerindeki artış tolerant

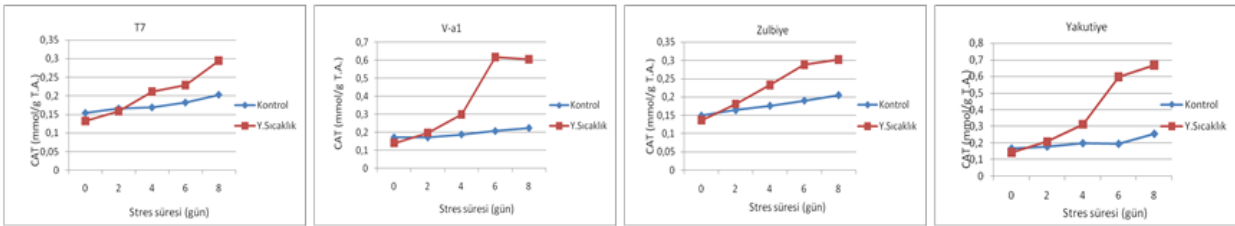
fasulye genotiplerine oranla daha fazla artış göstermiştir (Şekil 4). Hücre membranı tahribatına yol açan lipid peroksidasyonu, birkaç reaksiyon basamağı sonucunda malondialdehit (MDA) ürünü üretmektedir (Özen ve Onay, 2007; Güneri Bağcı, 2010; Kacar ve ark., 2010; Kuşvuran, 2010; Sanchez ve ark., 2010; Terzi ve ark., 2010). Fasulye bitkisinde yüksek sıcaklığın lipid (MDA) ve antioksidant enzim aktivitelerinde artış ve dokularda da zararlanmalara yol açtığı belirtilmektedir (Türkan ve ark., 2005). Yüksek sıcaklık 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 olmakla beraber 8. stres gününde genotiplerde artışlar görülmüştür (Şekil 6).



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

Şekil 4. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) MDA miktarında (nmol/g T.A) meydana gelen değişimler

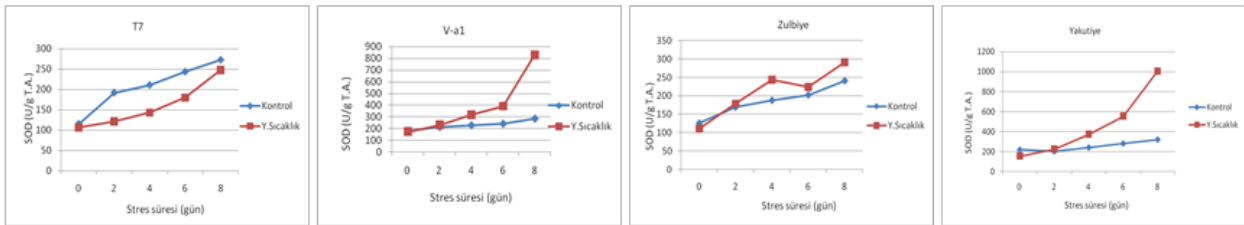
Figure 4. Changes in the MDA amount of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 5. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) CAT miktarında (mmol/g TA) meydana gelen değişimler

Figure 5. Changes in the CAT amount of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

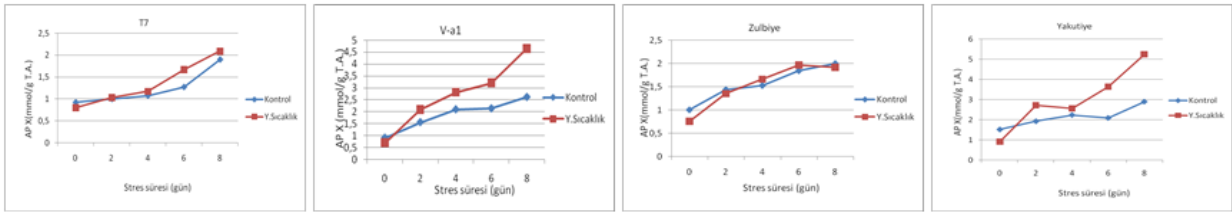
Şekil 6. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) SOD enzim aktivitesinde (ünite/g TA) meydana gelen değişimler.

Figure 6. Changes in the SOD enzyme amount of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress

APX içeriğine bakıldığında, yüksek sıcaklığa tolerans gösteren genotiplerdeki APX içeriği hassas olan genotiplere nazaran daha yüksek çıkmıştır (Şekil 7). Antioksidan enzimlerden süperoksit dismütaz (SOD), katalaz (KAT), askorbat peroksidaz (APX) enzim aktiviteleri gibi parametreler incelenen nohut çalışmasında yer alan çeşitlerin kuraklık stresine farklı tepkiler gösterdikleri bildirilmiştir (Güneri Bağcı, 2010). Fasulye çeşitlerinin klorofil içeriği ve lipit (MDA) peroksidasyonuna kuraklık tolerans seviyelerinin belirlenmesiyle ilgili çalışmada, katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) aktivitelerindeki artışın diğer çeşitlerden yüksek olduğu belirtilmektedir (Terzi ve ark., 2010).

Fasulye genotiplerinin yeşil aksam ve kök bölgesindeki K, Ca içerikleri yüksek sıcaklık stresinin başlangıcı olan sıfırıncı gün içeriği 8. gün içeriğinden fazla çıkmıştır (Şekil 8–13). Bu ise stresten etkilenmenin kalsiyum ve potasyumun azlığına bağlı olduğunu

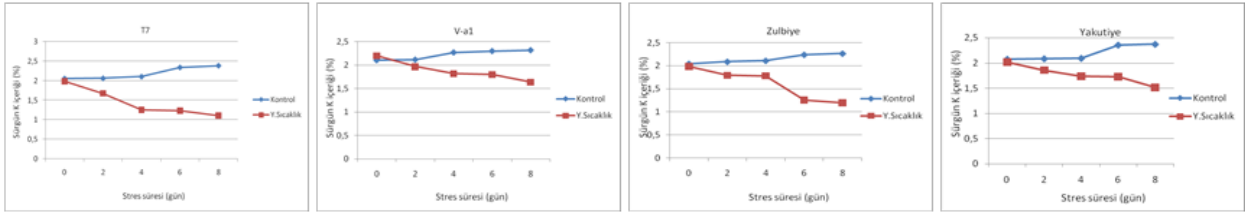
göstermektedir. Sodyum oranı ise istatistiksel olarak önemli çıkmasına karşın stresin 8. günü sonunda az miktarda artış göstermiştir. Yeşil aksam ve kök bölgesindeki K/Na ve Ca/Na oranlarında da görüleceği üzere Na miktarının fazla K ve Ca miktarının az olduğu genotiplerde zararlanmaların daha fazla olduğu görülmektedir (Şekil 14–17). Yapılan çalışmalarda ilave K ve Ca 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, Na/Ca dengesi yeniden ayarlanarak metabolik faaliyetler düzene girebilmektedir (Aktaş, 2002; Daşgan ve ark., 2006; Özen ve Onay, 2007; Nam, 2010; Kaya ve Tuna, 2010; Zushi ve ark., 2012). Kuraklık stresi uygulanan fasulyelerden kuraklığa tolerat Yakutiye ve kuraklığa hassas Zulbiye fasulye çeşitlerinin yaprak su potansiyeli, stoma iletkenliği ve iyon miktarının düştüğü belirtilmiştir (Güler ve ark., 2012).



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

Şekil 7. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerat; T7 ve Zulbiye duyarlı) APX enzim aktivitesinde (mmol/g T.A.) meydana gelen değişimler

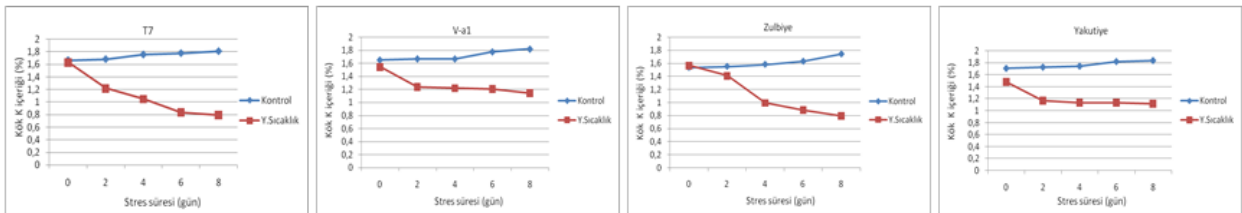
Figure 7. Changes in the APX enzyme amount of bean genotypes (tolerat V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 8. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerat; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerdeki K iyonunda (%) meydana gelen değişimler

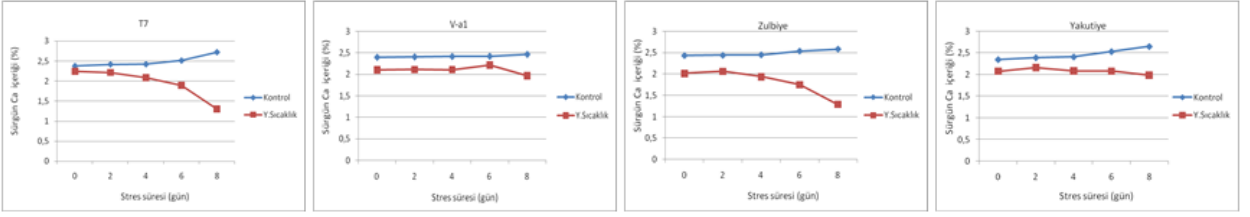
Figure 8. Changes in the shoot K amount of bean genotypes (tolerat V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 9. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerat; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerin K iyonunda (%) meydana gelen değişimler

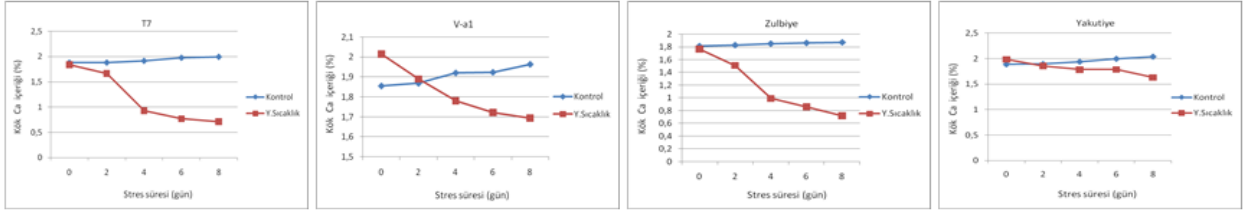
Figure 9. Changes in the root K amount of bean genotypes (tolerat V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 10. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerdeki Ca iyonunda (%) meydana gelen değişimler

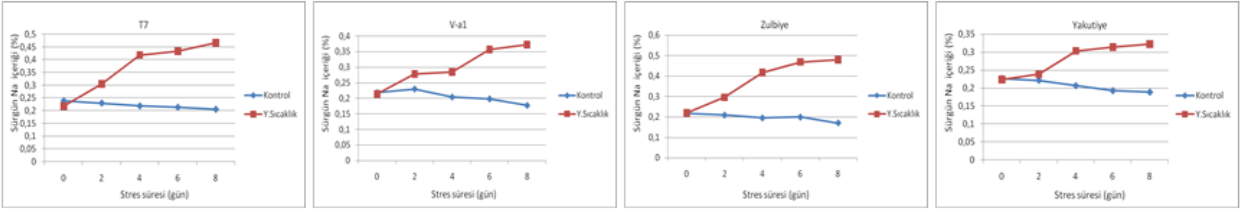
Figure 10. Changes in the shoot Ca amount of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 11. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerin Ca iyonlarında (%) meydana gelen değişimler

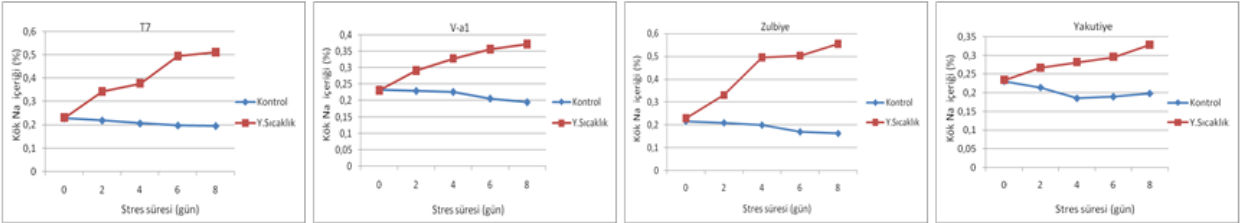
Figure 11. Changes in the root Ca amount of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 12. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerinde Na iyonunda (%) meydana gelen değişimler

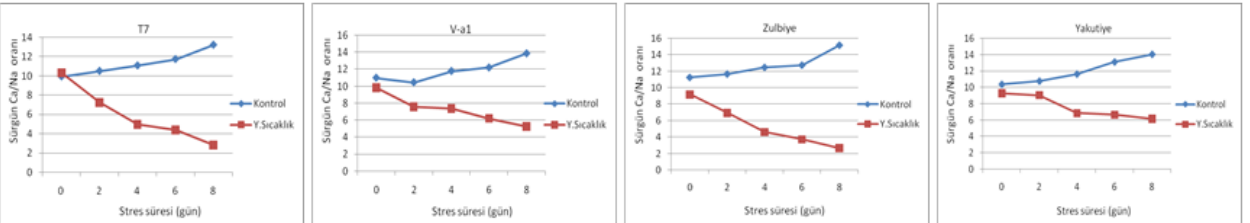
Figure 12. Changes in the shoot Na amount of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 13. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerinde Na iyonunda (%) meydana gelen değişimler

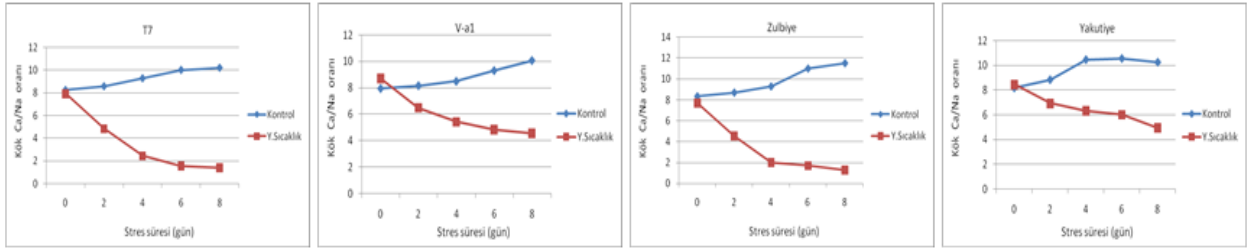
Figure 13. Changes in the root Na amount of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 14. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerinde Ca/Na oranındaki (%) meydana gelen değişimler

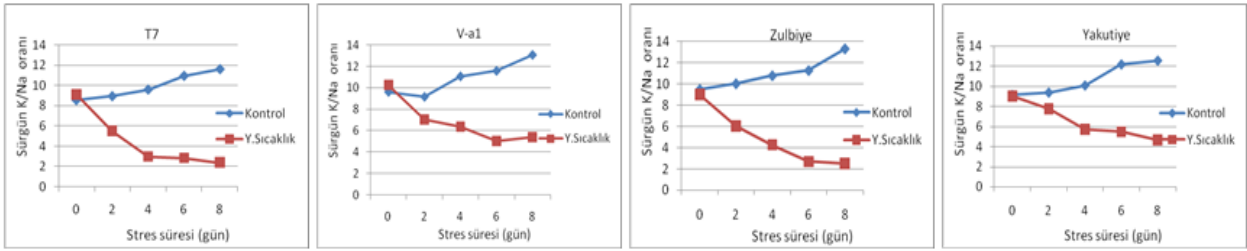
Figure 14. Changes in the shoot Ca/Na ratio of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 15. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) /köklerdeki Ca/Na oranında (%) meydana gelen değişimler

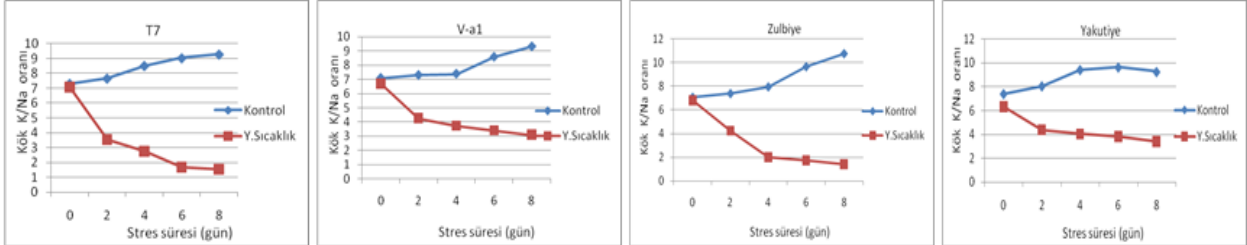
Figure 15. Changes in the root Ca/Na ratio of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 16. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) sürgünlerinde K/Na oranındaki (%) meydana gelen değişimler

Figure 16. Changes in the shoot K/Na ratio of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress



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

Şekil 17. Yüksek sıcaklık fasulye genotiplerinin (V-a1 ve Yakutiye-98 tolerant; T7 ve Zulbiye duyarlı) köklerde K/Na oranındaki (%) meydana gelen değişimler

Figure 17. Changes in the root K/Na ratio of bean genotypes (tolerant V-a1 and Yakutiye-98; sensitive T7 and Zulbiye) at high temperature stress

SONUÇ

Fasulyede yüksek sıcaklığa duyarlı ve tolerant genotiplerin yüksek sıcaklık stresleri süresince klorofil, enzim, iyon içeriklerinin incelendiği çalışmada tolerant ve duyarlı çeşitler arasında önemli farklar görülmüştür. Duyarlı genotiplerde yüksek sıcaklık stres koşulları klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarında önemli oranlarda azalmaya neden olmuştur. Yüksek sıcaklık stresinin ilerleyen aşamasında duyarlı olan fasulye genotiplerinin yapraklarındaki MDA oranı, tolerant olan genotiplere oranla daha yüksek bulunmuştur. Yani yüksek sıcaklık stres duyarlı çeşitlerde MDA oranını artırmıştır. CAT, SOD ve APX'in

tolerant genotiplerindeki miktarları ise, duyarlı genotiplere göre artmıştır. Fasulye genotiplerinin yeşil aksam ve kök bölgesindeki K, Ca içerikleri yüksek sıcaklık stresi sonunda düşmesine karşın Na içeriğinde ise çok az miktarda artış olmuştur. Sonuç olarak yüksek sıcaklık stresi uygulanan parametreler yüksek sıcaklık stresine tolerant genotiplerin seçiminde uygun metotlar olduğu kanısındayız.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'nca desteklenen doktora tez projesinin (Proje No: 2013-FBE-D011) bir parçasıdır.

KAYNAKLAR

- Aktaş, H., 2002. Biberde Tuza Dayanıklılığın Fizyolojik Karakterizasyonu ve Kalıtımı. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, Adana, 105 sayfa
- Almeselmani, M., Deshmukh, P. S., Sairam, R. K., Kushwaha, S. R., Singh, T. P., 2006. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. *Plant Science*, 171(3), 382-388.
- Amira, M.S., 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.
- Barnabás, B., Jäger, K., & Fehér, A. (2008). The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant, cell & environment*, 31(1), 11-38.
- Çerçioğlu, M., Yağmur, B., Kara, R. S., Okur, B., 2017. Agro-Endüstriyel Kompost ve Ahır Gübresinin Biber (*Capsicum annuum* L.) Yetiştiriciliğinde Toprağın Bazı Kimyasal Özellikleri ile Verim Üzerine Etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* (1) 71-77 ISSN 1018 - 8851
- Georgieva, K., Szigeti, Z., Sarvari, E., Gaspar, L., Maslenkova, L., Peeva, V., Tuba, Z., 2007. Photosynthetic activity of homoiochlorophyllous desiccation tolerant plant *Haberlea rhodopensis* during dehydration and rehydration. *Planta*, 225(4): 955-964.
- Gonzalez, C. J., Pastenes, C., 2012. Water-stress-induced thermotolerance of photosynthesis in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants: The possible involvement of lipid composition and xanthophyll cycle pigments. *Environmental and Experimental Botany*, 77, 127-140.
- Güler, N. S., 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 basılmamış). Ankara üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi, s. 403 Ankara.
- Ekincialp A. Sensoy S. 2013. Van Gölü Havzası fasulye genotiplerinin bazı bitkisel özelliklerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 23(2), 102-111.
- Erdoğan, Ç., Türkmen, Ö., Sensoy, S. 2013. Türkiye'nin bazı fasulye genotiplerinin çeşitli bitkisel özelliklerinin belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 23(2), 112-125.
- Jebara, S., Jebara, M., Limam, F., Aouani, M. E., 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.
- Kabay, T., Sensoy S., 2016. Kuraklık stresinin bazı fasulye genotiplerinde oluşturduğu enzim, klorofil ve iyon değişimleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(3), 380-395.
- Kacar, B., Katkat, B., Öztürk, Ş., 2006. Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayın Dağıtım. 2.493-533
- Kaya, C., Tuna, A. L., 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 s. 356, Adana.
- Lichtenthaler. H.K.; Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biomchem. Soc. Transac.*, 11:591-592.
- Nam, M., 2010. Patates Çeşitlerinin Yüksek Sıcaklık Stresine Toleranslarının Büyüme ve Verim Parametreleri ile Hücre Zarı Stabilitesi Yöntemine Göre Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi, Basılmamış). Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Hatay.
- Özen, H.Ç., Onay, A., 2007. Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayın Dağıtım, 275-2871.
- Rosales Serna, R., Shibata, J. K., Acosta Gallegos, J. A., Trejo Lopez, C., Ortiz Cereceres, J., ve Kelly, J. D., 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, L. M., Blasco, B., Rios, J. J., Rosales, M. A., Ruiz, J. M., 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.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. R., 2007. Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61(3), 199-223.
- Yıldız, M., Terzi, H., 2007. Bitkilerin yüksek sıcaklık stresine toleransının hücre canlılığı ve fotosentetik pigmentasyon testleri ile belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 23 (1-2) 47-60.
- Zengin, F. K., 2007. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) pigment içeriği üzerine bazı ağır metallerin etkileri. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi* 10(2), 6-12.
- Zushi, K., Kajiwar, S., Matsuzoe, N., 2012. Chlorophyll A Fluorescence OJIP transient as a tool to characterize and evaluate response to heat and chilling stress in tomato leaf and fruit. *Scientia Horticulturae*, 148, 39-46.