

Su Kıtlığına Maruz Bırakılmış C3 ve C4 Bitkilerinin Fotosentetik Aktivitelerinin Belirlenmesi*

Özlem ARSLAN¹

ÖZET: Su kıtlığı koşulları, tarımsal alanların kullanılabilirliğini azaltmakta ve tarımsal ürünlerde verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu araştırmanın amacı, tüm dünyada tarımsal üretim için önemli bir problem olan su kıtlığının buğday (*Triticum aestivum* L.) ve mısır (*Zea mays* L.) bitkileri üzerindeki etkisini fotosentetik açıdan incelemektir. Buğday ve mısır bitkileri fotosentezi iki farklı metabolik yolla gerçekleştirdiğinden, su kıtlığında C3 ve C4 bitkilerinin fizyolojik ve metabolik davranışları arasındaki farklar gerçek su içeriği, lipid peroksidasyonu, klorofil *a* floresansı, fotosentetik pigment içeriği, RuBisCo aktivitesi ve toplam çözünür şeker içeriği parametrelerince ortaya konulmaktadır. Bu amaçla C3 bitkisi olan buğday ve C4 bitkisi olan mısır bitkilerine ait iki çeşit (Gelibolu ve Ada-9516, sırasıyla) 8 gün boyunca kontrollü iklim kabiniinde 25°C'de, % 40-50 nemde, 16 saat ışık/ 8 saat karanlık fotoperiyodunda, 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğunda $\frac{1}{2}$ kuvvet Hoagland çözeltisi kullanılarak perlit ortamında büyütülmüşlerdir. Ardından stres grupları 7 gün boyunca -0.6 MPa PEG 6000 çözeltisi ile sulanmış ve su kıtlığı koşulları oluşturulmuştur. Su kıtlığı incelenen tüm parametrelerce tahılları olumsuz yönde etkilemiştir. Tüm çeşitlerin su içerikleri azalmış, zar hasarları artmış, fotosentetik aktiviteler azalmıştır. Bununla beraber, toplam çözünür şeker oranındaki artış su kıtlığına karşı koruyucu bir mekanizma olarak değerlendirilmiştir. Bu araştırma sonucunda mısırın buğday bitkisine göre tüm parametrelerce su kıtlığı koşullarına daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: C3 ve C4 bitkileri, PSII aktivitesi, RuBisCo, su kıtlığı.

Determination of Photosynthetic Activities of C3 and C4 Plants Exposed to Water Deficit

ABSTRACT: The water deficit conditions reduces the usability of agricultural lands and induces loss of production of agricultural products. The aim of this study was to investigate the effect of water deficit which is an important problem for the agricultural productivity on wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.) plants by photosynthetically. Though wheat and maize plants carry out photosynthesis through two different metabolic pathways, the differences between the physiological and metabolic behaviors of C3 and C4 plants at water deficit conditions was presented by the parameters of actual water content, lipid peroxidation, chlorophyll *a* fluorescence, photosynthetic pigment content, RuBisCo activity and total soluble sugar content. According to this purpose, wheat cultivar as C3 plant and maize cultivar as C4 plant (Gelibolu and Ada-9516, respectively) were grown in controlled growth chamber at 25°C, 40-50% humidity, 16 h photoperiod and 250 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ light intensity with $\frac{1}{2}$ strain Hoagland solution in perlite medium for 8 days. Then, the stress groups exposed to -0.6 MPa PEG 6000 solution to occur water deficit condition. Stress conditions adversely effected all investigated parameters of cereals. Actual water content and photosynthetic activities were decreased, membrane injury was increased of all cultivars. However, increased total soluble sugar ratio evaluated as defence mechanism to water deficit. In the conclusion of this study, maize is more tolerant to water deficit conditions with all parameter than wheat.

Keywords: C3 and C4 plants, PSII activity, RuBisCo, water deficit.

¹ Özlem ARSLAN (0000-0001-7574-4811), Giresun Üniversitesi, Espiye Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Giresun, Türkiye
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Özlem ARSLAN, turanzlm@gmail.com

* Bu çalışma 31 Ağustos-3 Eylül 2016 tarihinde Giresun'da düzenlenen 1. Uluslararası Karadeniz Çevre Bilimleri Kongresinde sözlü sunum olarak sunulmuştur.

GİRİŞ

Fotosentez bitki büyümesini ve ürün verimliliğini sağlayan en önemli fizyolojik olaydır. Bu kadar önemli olmasına rağmen fotosentez çevresel streslerden oldukça etkilenir. Son yıllarda küresel iklim değişikliklerine bağlı olarak ortaya çıkan su kıtlığı koşulları, tarımsal alanların kullanılabilirliğini azaltmakta ve tarımsal ürünlerde verim kayıplarına neden olmaktadır. Su kıtlığı bitki büyümesini engelleyen en önemli çevresel kısıtlayıcıdır. Su kıtlığı stresinde bitkiler ilk olarak stomalarını kapatarak su kaybını önlemeye çalışmaktadırlar. Fakat, yapraklardan su kaybını önlemek aynı zamanda gaz değişimini engellemek anlamına da gelmektedir ve bu durum fotosentetik kapasitenin azalmasına neden olmaktadır (Uzilday ve ark., 2014). C3 fotosentezini kullanan bitkilerde CO₂ difüzyonu azaldığından, fotosolunum artar, devamında ise bitkinin asimilasyon kapasitesi azalır (Bauwe ve ark., 2010). Bazı bitkiler azalan CO₂ difüzyonunun fotosentez üzerine etkilerini hafifletmek için ek tedbirler geliştirmektedirler. Bu adaptasyonlardan biri de C4 karboksilasyon metabolik yoludur. C4 bitkileri CO₂'i mezofil hücrelerinde fosfoenolpiruvat karboksilaz (PEPC) yardımı ile fikse ederler ve daha sonra bu CO₂ demet kımı hücrelerine salınır. Ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz (RuBisCo) bu hücrelerde CO₂'i sıkıca fikse eder. Bu mekanizma ile CO₂'in RuBisCO etrafındaki bulunabilirliği artırılır ve fotosolunum hızı en aza indirilir (Gowik ve Westhoff, 2011). CO₂'i konsantre edebildiklerinden, C4 bitkileri C3 bitkilerine göre daha düşük stomatal açıklığa sahip olma eğilimindedirler. Böylece C4 bitkileri su kullanma etkinliklerini artırmış olurlar (Way, 2012). C3 ve C4 bitkileri arasındaki bu karakteristik ayırım diğer metabolik işlemlerin düzenlenmesinde de farklılıklara neden olmaktadır. Özellikle Calvin döngüsü için gerekli CO₂ kaynağının azalmasına bağlı olarak aşırı eksitasyon enerjisi fotokimyasal olarak kullanılamayacağından bu enerji O₂'e aktarılacak ve dolayısıyla reaktif oksijen türleri (ROT) artacaktır. Fotosentetik elektron taşıma zincirinin aşırı indirgenmesi ROT oluşumunu indükler. Bu ROT'lar singlet oksijen (¹O₂), süperoksit (O^{2•-}), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali (•OH)'dir (Hodgs, 2003). Su kıtlığına bağlı olarak büyüme ve verimlilikte azalma hücre yapılara ve makromoleküllere zarar veren artan ROT seviyeleriyle ilişkilidir (Ceylan ve ark., 2013).

Mısır (*Zea mays* L.), ılıman ve tropik bölgelerde tarımı yapılan bir bitkidir. Sahip olduğu uyum

yeteneği sayesinde farklı iklim ve toprak koşullarında yetiştirebilmektedir. Ayrıca mısır, dünyada buğday ve çeltikten sonra en çok ekimi yapılan ve en çok üretilen üçüncü tahıl bitkisidir. Tahıl bitkileri içerisinde buğday (*Triticum aestivum* L.), Dünya'da kültür bitkileri içerisinde en çok yetiştiriciliği yapılan tahıl türlerinden birisidir. Günümüzde oldukça önemli besin kaynağı olan buğday ve mısır bitkilerinin, su kıtlığı stresinden olumsuz etkilendiklerini bildiren birçok araştırma bulunmaktadır. Bitkilerde kuraklık stresinin büyüme ve gelişmeyi (Alexieva ve ark., 2001), zar yapısını (Vassilev, 2004) ve fotosentetik aktiviteyi (Kerepesi ve Galiba, 2000) olumsuz yönde etkiledikleri belirtilmiştir.

Küresel ısınma ve diğer faktörler nedeniyle ülkemizde de pek çok tarım alanı su kıtlığına maruz kalma tehlikesi içinde olduğundan, su kıtlığı ülkemizde yetiştirilen tahıllar üzerindeki etkileri ve su kıtlığına karşı oluşan fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerin anlaşılması için araştırılmasına olan gereksinim artmıştır. Bu gereksinimden yola çıkarak, bu çalışmada tüm dünyada tarımsal üretim için önemli bir problem olan su kıtlığının buğday (*Triticum aestivum* L.) ve mısır (*Zea mays* L.) bitkileri üzerindeki etkisi fotosentetik açıdan incelenmektedir. Buğday ve mısır bitkileri fotosentezi iki farklı metabolik yolla gerçekleştirdiğinden, su kıtlığında C3 ve C4 bitkilerinin fizyolojik ve metabolik davranışları arasındaki farklar gerçek su içeriği (GSİ), lipid peroksidasyonu, klorofil a fluoresansı, fotosentetik pigment içeriği, RuBisCo aktivitesi ve toplam çözünür şeker içeriği parametrelerince ortaya konulmaktadır. Böylece, C3 ve C4 bitkilerinin su kıtlığı koşullarına verdikleri fotosentetik yanıtların gerek ışık reaksiyonları gerekse karbon asimilasyonu basamaklarının ayrı ayrı incelenmesi ve son ürün olan toplam çözünür şeker miktarının belirlenmesi ile bir bütün olarak ele alınmış ve her iki fotosentetik mekanizma birbirleriyle karşılaştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan buğday (*Triticum aestivum* L.) ve mısır (*Zea mays* L.) türlerinin çeşitlerine ait (Gelibolu ve Ada-9516, sırasıyla) tohumlar Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden elde edilmiştir. Tohumlar kabuk sterilizasyonunun (% 20'lik teknik sodyum hipoklorit, 20 dak) ardından yıkanmış ve 12 saat distile suda şişmeye bırakılmıştır. Benzer morfolojiye ve büyüklüğe sahip 2 türe ait 5'er tohum her uygulamaya üçer saksı olacak şekilde perlit içeren plastik saksılara ekilmiştir.

Saksılar kontrollü iklim kabininde rasgele deneme desenine göre yerleştirilmiştir. Her bir saksının gün aşırı olarak ağırlıkları (dara+perlit) alınmış ve saksılar son ağırlıkları tarla kapasitesine gelecek şekilde ½ kuvvet Hoagland çözeltisi (Hoagland, 1920) ile sulanmışlardır. Ekim yapılan saksılar, 25°C’de, % 40-50 nemde, 16 saat ışık/ 8 saat karanlık fotoperiyodunda, 250 µmol m⁻²s⁻¹ ışık yoğunluğunda, kontrollü iklim kabininde 8 gün büyütülmüşlerdir. Bitkilerden su kıtlığına maruz bırakılacakların besin çözeltilerine ön çalışma ile belirlenmiş olan -0.6 MPa değerinde polietilen glikol (PEG 6000) eklenmiştir ve bitkilere 7 gün süre ile su kıtlığı uygulanmıştır. Kontrol grubu bitkileri ise ½ kuvvet Hoagland çözeltisi ile sulanmaya devam edilmiştir. Çalışma 15. günde sonlandırılmış ve bütün bitkiler perlit yüzeyinden kesilerek hasat edilmiştir.

Bitkilerin yaprak dokularındaki GSİ tayini için, 6 adet bitkiden alınan 1 cm’lik yaprak segmentlerin taze ağırlıkları (TA) (n=6) tartılarak 5 ml distile su içeren falkon tüplerde 24 saat bekletilmiştir. Daha sonra bu segmentler 80°C’lik etüvde 48 saat kurutularak tekrar tartılmış ve kuru ağırlıkları (KA) saptanmıştır. Yaprak dokularındaki GSİ (%)=(TA-KA)/TA x 100 formülüne göre hesaplanmıştır.

Klorofil a floresans ölçümleri için, bir saniye boyunca her 10 µs’de ölçüm yapan Portatif Floresans Ölçüm Cihazı (HandyPEA, Hansatech Ltd.) kullanılmıştır. Bitkilerin yaprakları 6 tekrarlı olarak özel yaprak klipsleri ile üstten tutturularak 30 dakika karanlık ile adapte edilmiştir. Fluorometre floresansı kırmızı ışıkla (maximum 650 nm’de emisyon) uyarır ve 700 nm üzerindeki floresansı algılar. Hızlı floresans kinetikleri (minimum floresans, Fo - maksimum floresans, FM) 10 µs’den 1 s’ye kadar kaydedilecek ve 50 µs’de kaydedilen floresans şiddeti minimum floresans (Fo) olarak kabul edilmektedir (Strasser ve Strasser, 1995).

F_v/F_M = Absorblanan bir fotonun PSII reaksiyon merkezi tarafından yakalanma etkinliğini ifade eden, potansiyel fotokimyasal etkinliktir [$\Phi P_o = F_v/F_M = (F_M -$

$F_o)/F_M$] (Schreiber ve ark., 1994).

PI_{top}: Performans indeksi (PI_{top}) [$\gamma RC/(1-\gamma RC)$] X [$\varphi P_o/(1 - \varphi P_o)$] X [$\psi o/(1 - \psi o)$]* [($\delta R_o/(1-\delta R_o)$)] bitkilerin durumu ve canlılığı hakkında yararlı ve kantitatif bilgi veren ve fotokimyasal olayları ifade eden bir klorofil floresans parametresidir.

ABS/RC= Aktif reaksiyon merkezinin verimli anten büyüklüğü olarak ifade edilen ABS/RC, tüm reaksiyon merkezlerinin klorofil molekülleri tarafından absorblanan fotonların tümünün aktif reaksiyon merkezlerine (RC) bölünmesiyle elde edilir ve böylece ortalama anten büyüklüğü hakkında bilgi verir (Strasser ve ark., 2000).

DIo/RC= Bir aktif reaksiyon merkezinin enerji dağılımı (kayıbı) olarak ifade edilen DIo/RC, tüm RC’lerdeki yakalanmamış eksitasyon enerjisi dağılımının aktif RC’lerindeki dağılıma oranıdır. Dağılım diğer sistemlere ısı, floresans ve enerji transferi olarak meydana gelir (Strasser ve ark., 2000).

Bitkilerin yaprak dokularındaki membran zararı, Hodges ve ark. (1999)’un metodu kullanılarak lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarı ile 3 tekrarlı olarak belirlenmiştir. Örneklerin absorbanları spektrofotometrede 440 nm, 532 nm ve 600 nm dalga boylarında okunmuştur ve hesaplamaları yapılmıştır.

Toplam klorofil (a+b) ve karotenoid (ksantofil+β-karoten) miktarları (mg ml⁻¹ gTA⁻¹) Lichtenthaler (1987)’a göre belirlenmesi için yapraklardan 0.1 g örnek 3 tekrarlı olmak üzere tartılmıştır. Örnekler 5 ml, %100’lük asetonda homojenize edilmiştir ve homojenatlar 4°C’de 3000 g’de (≈5340 rpm), 10 dak santrifüjlenmiştir. Örneklerin absorbanları spektrofotometrede 470, 644.8 ve 661.6 nm dalga boylarında okunmuştur ve aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır:

$$\text{Toplam klorofil (klo a+b)} = (7.05 \times A_{661.6}) + (18.09 \times A_{644.8}) \quad (1)$$

$$\text{Karotenoid (x+c)} = [(1000 \times A_{470}) - (1.9 \times \text{klo a}) - (63.14 \times \text{klo b})] / 214 \quad (2)$$

RuBisCo (EC 4.1.139) enzim aktivitesi Vandoorne ve ark. (2012)'ye göre belirlenmiştir. Tartılan taze yapraklar 3 tekrarlı olarak tartılıp sıvı azotta havanda ezildikten sonra 4 ml ekstraksiyon tamponunda homojenize edilmiştir [Ekstraksiyon tamponu; 0.4 mM ATP, 10 mM MgCl₂, 1 mM ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA), % 0.1 (v/v) Triton X-100, % 12.5 (w/v) gliserol, 15 mM mercaptoethanol, 30 mg polivinyl polypyrrolidon içeren 100 mM Tris/HCl, pH 7.8]. Başlangıç aktivitesini ve total aktiviteyi ölçüldükten sonra aktivasyon oranı başlangıç aktivitesini total aktiviteye bölerek Du ve ark. (1996)'ya göre hesaplanmıştır.

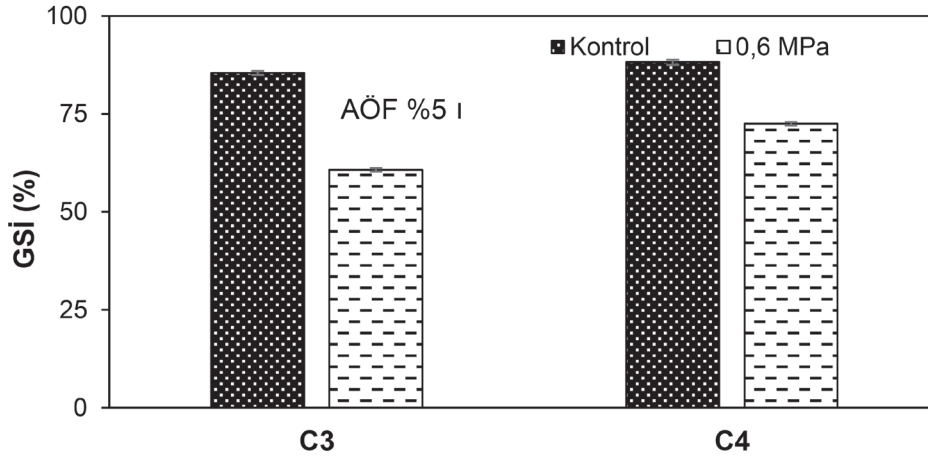
Toplam çözünür şeker miktarını belirlemek için taze yapraklar (300 mg) sıvı azotta havanda ezildikten sonra 7 ml % 70'lik etanol (w/v) ile karıştırılıp 5 dakika buz üzerinde bekletilmiş ve 6700 g'de +4 °C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. 200 µl süpernatant 1 ml antrone çözeltisi (0.5 g anthrone ve 250 ml % 95 H₂SO₄ ve 12.5 ml distile su) ile karıştırıldıktan sonra 625 nm'de absorbans okunmuştur. Yemm ve Willis (1954)'e göre total çözünür şeker yüzde olarak hesaplanmıştır.

Denemeler, rasgele deneme deseninde, 3 tekrarlı ve her bir tekrarda da 5 bitki (n=15) olmak üzere düzenlenmiştir. Denemelerden elde edilen verilere,

istatistik paket programı (SPSS) kullanılarak istatistik varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Her bir değişken için uygulamalar ile türler arasındaki farkın önem kontrolü Anlamlı Önemli Fark (AÖF) % 5 düzeyinde hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

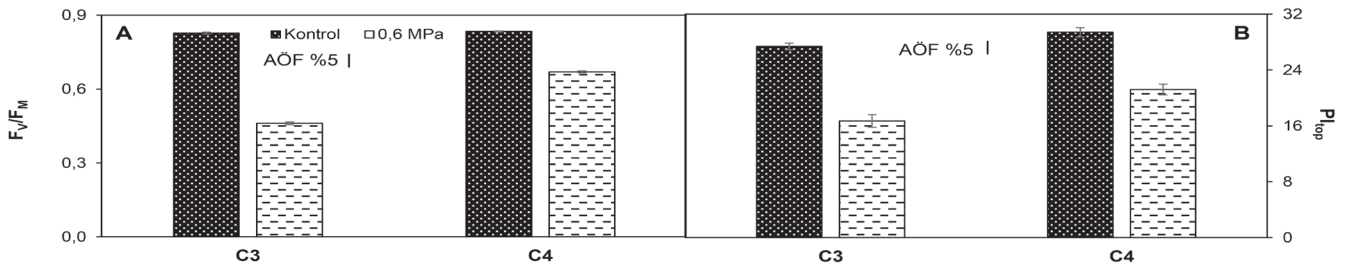
Su kıtlığı, temelde bitkilerde su kaybına neden olmakta ve stomalar transpirasyonla daha çok su kaybını önlemek amacıyla kapanmaktadır (Flexas ve Medrano, 2002). PEG 6000 kullanılarak uygulanan -0.6 MPa düzeyindeki su kıtlığı hem C3 hem de C4 bitkilerinde olumsuz etkilerin meydana gelmesine sebep olmuştur. Çeşitlerin gerçek su içeriği miktarlarında oldukça önemli azalmalar meydana gelmiştir (Şekil 1.). Bu azalma C3 bitkilerini temsil eden buğdayda % 28 iken, C4 bitkilerini temsil eden mısır bitkisinde % 18'dir. GSI'deki azalmanın stomaların kapanmasını ve böylece fotosentez hızında paralel bir azalmayı indüklediği bilinmektedir (Cornic, 2000). Stomaların kapanması, kloroplast seviyesindeki CO₂ alınabilirliğini de azaltmakta ve net fotosentezin olumsuz yönde etkilenmesi kaçınılmaz hale gelmektedir (Cornic, 2000).



Şekil 1. Su kıtlığı uygulamalarının buğday (C3) ve mısır (C4) bitkilerinin GSI üzerine etkisi

Canlı yapraklarda, klorofil a fluoresansı PSII'nin fotokimyasal aktivitesini ölçmek için kullanılan kolay ve güvenilir bir yöntemdir (Rizza ve ark., 2001). Karanlıkla adapte edilmiş yapraklardaki PSII reaksiyon merkezinin potansiyel fotokimyasal etkinliğini veya

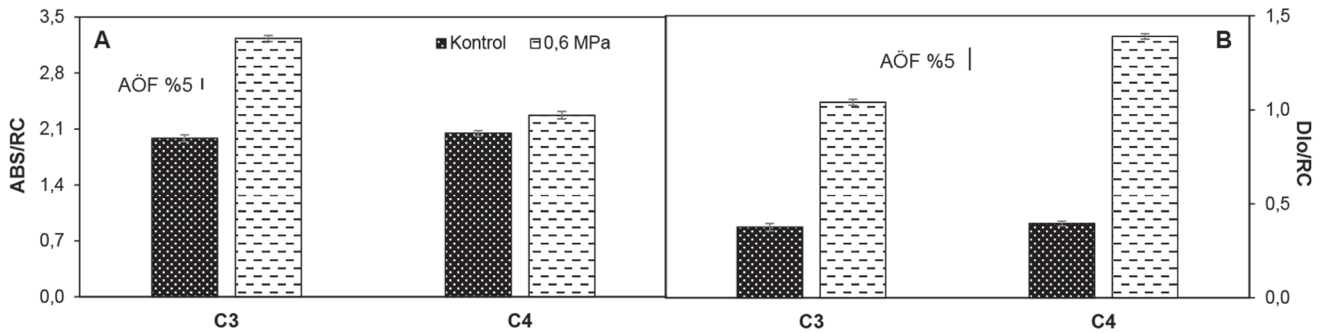
maksimum kuantum verimini ifade eden F_v/F_M oranının su kıtlığı koşullarında azaldığı bildirilmiştir (Miyashita ve ark., 2005). Bu araştırmada da F_v/F_M oranının tüm bitkilerde azaldığı en çok azalmanın ise %45 ile C3 bitkisinde meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 2A.).



Şekil 2. Su kıtlığı uygulamalarının buğday (C3) ve mısır (C4) bitkilerinin F_v/F_M (A) ve PI_{top} (B) üzerine etkisi

PI_{top} , ışık enerjisi absorpsiyonu, eksitasyon enerjisinin yakalanması ve eksitasyon enerjisinin elektron taşınımına dönüşümü ile bu enerjinin PSI alıcılarına iletimi hakkında bilgi verir (Strasser ve ark., 2010). Fotosistemlerdeki enerji akışı ile ilgili olan birçok parametrenin hesaba katılmasıyla elde edilen PI_{top} bitkinin fotosentetik verimliliğinin algılanmasında önemli ipuçları sağlamaktadır. F_v/F_M parametresine benzer olarak PI_{top} verileri de su kıtlığı koşullarında istatistiksel olarak önemli oranda azalmıştır (Şekil 2B.). Tüm reaksiyon merkezlerindeki klorofil molekülleri tarafından absorblanan fotonların aktif reaksiyon merkezlerine oranı olan ve ortalama anten büyüklüğü hakkında

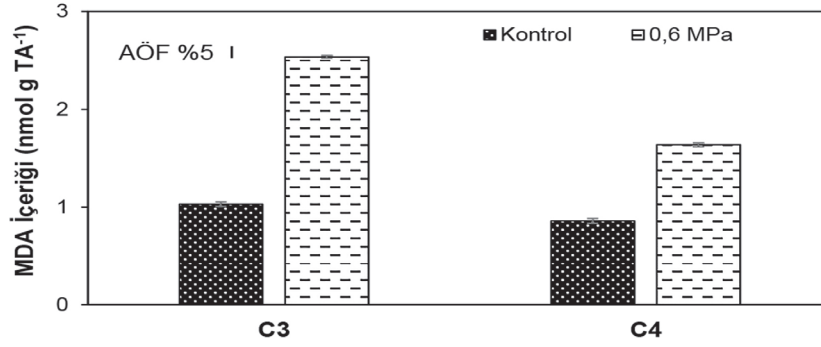
bilgi veren ABS/RC, aktif reaksiyon merkezlerinin sayısı azaldıkça artmaktadır (Strasser ve ark., 2000). Su kıtlığı koşullarında ABS/RC parametresi C3 bitkisinde C4 bitkisine göre daha fazla oranda artmıştır (Şekil 3A.). DIo/RC , tüm reaksiyon merkezlerindeki yakalanmamış eksitasyon enerjisi dağılımının aktif reaksiyon merkezlerindeki dağılıma oranıdır ve inaktif reaksiyon merkezlerindeki yüksek enerji dağılımına bağlı olarak artmaktadır. Bununla beraber, DIo/RC 'de artış PSII birimleri arasında bağlantı kaybını yansıtmaktadır (Strasser ve ark., 2000). C4 bitkisinde bu parametreye göre inaktif reaksiyon merkezlerindeki enerji dağılımı C3 bitkisine göre daha yüksektir (Şekil 3B.).



Şekil 3. Su kıtlığı uygulamalarının buğday (C3) ve mısır (C4) bitkilerinin ABS/RC (A) ve DIo/RC (B) üzerine etkisi

Lipid zarların serbest radikalle indüklenen peroksidasyonunun, hücresele düzeyde stresten kaynaklanan hasarın hem ölçütü hem de yansıması olduğu bilinmektedir (de Azevedo Neto ve ark., 2006). Lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA içeriği, kuraklık stresinden kaynaklanan oksidatif hasarın

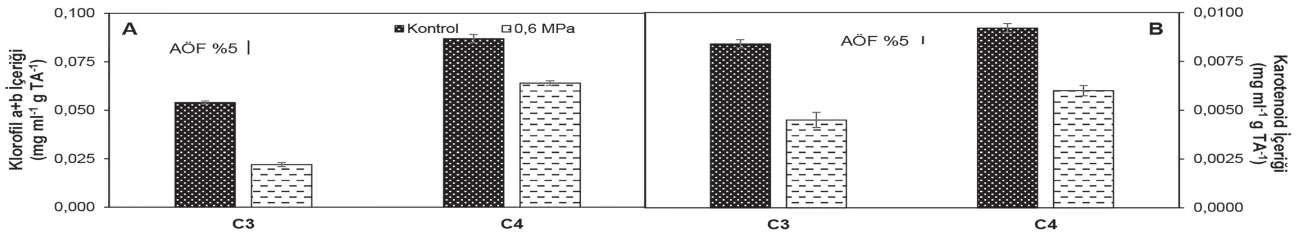
bir göstergesi olarak, su kıtlığı koşullarında tüm bitkilerde önemli derecede artış göstermiştir (Şekil 4.). Su kıtlığının bitki dokularında MDA ile ölçülen lipid peroksidasyonuna yol açtığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Fu ve Huang, 2001; Türkan ve ark., 2005; Ge ve ark., 2006).



Şekil 4. Su kıtlığı uygulamalarının buğday (C3) ve mısır (C4) bitkilerinin MDA içerikleri üzerine etkisi

Su kıtlığı koşullarının fotosentetik pigment içeriği üzerine etkileri incelenecek olursa, çeşitlerin klorofil a+b içerikleri su kıtlığı uygulamasıyla birlikte azalmış olduğu belirlendi (Şekil 5A.). En çok klorofil yıkımının ve/veya üretiminin engellendiği bitki çeşidi ise C3 bitkisidir. Kurumaya bağlı olarak gerçekleşen klorofil kaybının oksidatif stresten kaynaklanan fotooksidasyon ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Fu ve Huang,

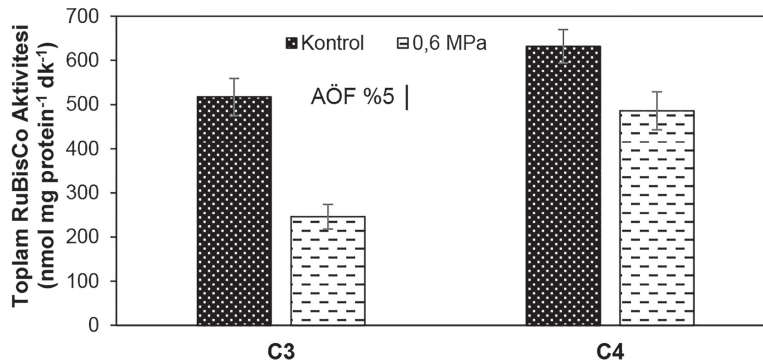
2001). Tüm fotosentetik organizmalarda, karotenoidler ya aşırı eksitasyon enerjisini ısı olarak dağıtarak ya da ROT'ları uzaklaştırıp lipid peroksidasyonunu azaltarak fotokoruyucu görev üstlenirler (Gill ve Tuteja, 2010). Hem C3 hem de C4 bitkilerinde karotenoid içeriklerinin su kıtlığı uygulamasıyla azalması (Şekil 5B.), fotokoruyucu mekanizmanın yetersiz kaldığının bir göstergesidir.



Şekil 5. Su kıtlığı uygulamalarının buğday (C3) ve mısır (C4) bitkilerinin klorofil (A) ve karotenoid (B) içeriği üzerine etkisi

Su kıtlığı stresi altında, CO₂ asimilasyon hızındaki ve klorofil içeriğindeki azalma, azalan RuBisCo miktar ve aktivitesindeki, fotosentetik elektron transportu ile fotofosforilasyondaki ve bu işlevlerle ilişkili metabolitlerin düzeylerindeki azalmadan

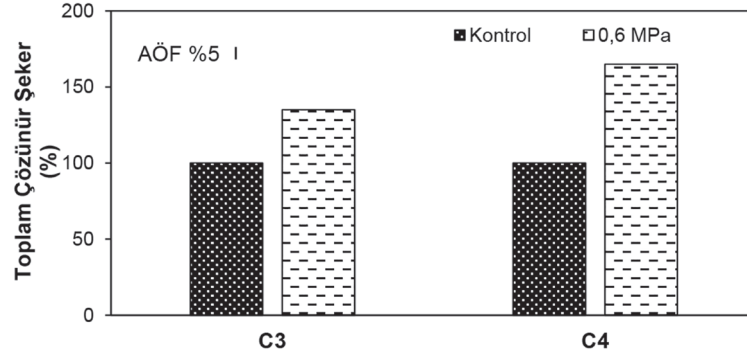
kaynaklanabilmektedir (Flexas ve Medrano, 2002; Parry ve ark., 2002). Benzer olarak, her iki bitkide de RuBisCo aktivitesinde belirgin azalmalar meydana gelmiştir (Şekil 6.).



Şekil 6. Su kıtlığı uygulamalarının buğday (C3) ve mısır (C4) bitkilerinin toplam RuBisCo aktivitesi üzerine etkisi

Bitkilerin su kıtlığına ve streslere karşı en önemli cevaplarından biri farklı tipteki osmotik koruyucuları büyük oranda biriktirmeleridir. Şekerler bu osmotik

koruyucuların başlıcalarındandır. Toplam çözünür şeker miktarı su kıtlığı uygulamasında C4 bitkisinde C3 bitkisine göre daha fazla oranda artmıştır (Şekil 7.).



Şekil 7. Su kıtlığı uygulamalarının buğday (C3) ve mısır (C4) bitkilerinin toplam çözünür şeker içeriği üzerine etkisi

SONUÇ

Su, biyokimyasal aktivitelerin gerçekleştiği ortam olması nedeni ile bilinen tüm yaşam formları için en önemli yaşam sıvısıdır. Bitkilerdeki büyüme, gelişme ve verim, topraktaki alınabilir suyun uygun düzeylerde bulunmasına bağlıdır. Yapılan çalışma ile in vitro koşullar altında osmotik çözelti kullanılarak bitkilerde oluşturulan su kıtlığı, bitkilerde büyüme ve gelişmeyi oldukça olumsuz yönde etkilemiştir. Yaprak dokularındaki su içeriğinin azalması, azalan fotosentetik aktivite, artan lipid peroksidasyonu, azalan fotosentetik pigment miktarı ve azalan RuBisCo aktivitesi araştırılan C3 ve C4 bitkilerinde su kıtlığının

fizyolojik etkilerinin göstergesidir. Ayrıca bu araştırma sonuçlarına göre, C3 bitkisini temsil eden buğday ile C4 bitkisini temsil eden mısır bitkilerinin uygulanan su kıtlığı koşullarına verdikleri tepkiler karşılaştırıldığında ise mısır bitkisinin incelenen tüm parametrelerce buğday bitkisine göre uygulanan 7 günlük -0.6 MPa düzeyindeki su kıtlığı uygulamasına karşı daha fazla dayanıklılık gösterdiği belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FEN-BAP-A-250414-41 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E, 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ.* 24: 1337-1344.
- Bauwe H, Hagemann M, Fernie AR, 2010. Photorespiration: players, partners and origin. *Trends Plant Sci.* 15: 330-336.
- Ceylan HA, Türkan İ, Sekemen AH, 2013. Effect of Coronatine on Antioxidant Enzyme Response of Chickpea Roots to Combination of PEG-Induced Osmotic Stress and Heat Stress. *J Plant Growth Regul.* 32: 72-82.
- Cornic G, 2000. Drought Stress Inhibits Photosynthesis by Decreasing Stomatal Aperture-Not by Affecting ATP Synthesis. *Trends Plant Sci.* 5: 187-188.
- de Azevedo Neto AD, Prisco JT, Enéas-Filho J, de Abreu CEB, Gomes-Filho E, 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environ. Exp. Bot.* 56: 87-94.

- Du YC, Nose A, Kawamitsu Y, Murayama S, Wasano K, Uchida Y, 1996. An improved spectrophotometric determination of the activity of Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase. *Japanese Journal of Crop Science.* 65: 714-721.
- Flexas J, Medrano H, 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Ann. Bot.* 83: 183-189.
- Fu J, Huang B, 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environ. Exp. Bot.* 45: 105-114.
- Ge T, Sui F, Bai L, Lu Y, Zhou G, 2006. Effects of water stress on the protective enzyme activities and lipid peroxidation in roots and leaves of summer maize. *ASC.* 5(4): 291-298.
- Gill SS, Tuteja N, 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 909-930.
- Gowik U, Westhoff P, 2011. The path from C3 to C4 photosynthesis. *Plant Physiol.* 155: 56-63.

- Hoagland DR, 1920. Optimum nutrient solutions for plants. *Science*. 52(1354): 562-564.
- Hodges DM, DeLong JM, Forney CF, Prange RK, 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*. 207: 604-611.
- Hodges M, 2003. Oxidative stress in postharvest produce. In: Hodges M (ed) *Postharvest of Oxidative Stress in Horticultural Crops*. Food Products Press, New York. 1-12 p.
- Kerepesi I, Galiba G, 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science*. 40: 482-487.
- Lichtenthaler HK, 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol*. 148: 350-382.
- Miyashita K, Tanakamaru S, Maitani T, Kimura K, 2005. Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. *Environ Exp Bot*. 53: 205-214.
- Parry MJ, Androlojc JP, Khan S, Lea PJ, Keys AJ, 2002. Rubisco activity: effects of drought stress. *Ann Bot*. 89: 833-839.
- Rizza F, Pagani D, Stanca AM, Cattivelli L, 2001. Use of chlorophyll fluorescence to evaluate the cold acclimation and freezing tolerance of winter and spring oats. *Plant Breed*. 120: 389-396.
- Schreiber U, Bilger W, Neubauer C, 1994. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. *Ecophysiology of Photosynthesis*. Schulze, E.D., Martyn, M., Caldwell, M.M. (Eds.), Springer-Verlag, Berlin.. 49-70 p.
- Strasser RJ, Srivastava A, Tsimilli-Michael M, 2000. The Fluorescent Transient as a Tool to Characterise and Screen Photosynthetic Samples. Ed: Yunus M, Pathre U, Mohanty P, *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation* Taylor and Francis, London. 445-483 p.
- Strasser BJ, Strasser RJ, 1995. Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test. In: Mathis, P. (Ed.), *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, vol. V. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands. 977-980 p.
- Strasser RJ, Tsimilli-Michael M, Qiang S, Goltsev V, 2010. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *Biochim. Biophys. Acta*. 1797 (6-7): 1313-1326.
- 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 mediated water stress. *Plant Sci*. 168: 223-231.
- Uzilday B, Türkan İ, Özgür R, Sekmen AH, 2014. Strategies of ROS regulation and antioxidant defense during transition from C3 to C4 photosynthesis in genus *Flaveria* under PEG-induced osmotic stress. *J Plant Physiol*. 171: 65-75.
- Vandoorne B, Mathieu AS, Van den Ende W, Vergauwen R, Perilleux C, Javaux M, Lutts S, 2012. Water stress drastically reduces root growth and inulin yield in *Cichorium intybus* (var. *sativum*) independently of photosynthesis. *J. Exp. Bot*. 63 (12): 4359-4373.
- Vassilev A, 2004. Cadmium-induced changes in chloroplasts lipids and photosystem activities in barley plants. *Biol Plantarum*. 48: 153-156.
- Way DA, 2012. What lies between: the evolution of stomatal traits on the road to C4 photosynthesis. *New Phytol*. 193: 291-293.
- Yemm EW, Willis J, 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal*. 57: 508-514.