

Tuz Stresi Altındaki Buğday Genotiplerinde Büyüme, Pigment İçeriği ve Çözünür Madde Kompozisyonunda Değişmeler

I. ÖNCEL* Y. KELEŞ**

*Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06100 Tandoğan-ANKARA
E-posta: oncel@science.ankara.edu.tr

**Mersin Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Biyoloji Eğitimi Bölümü, 33169 Yenişehir Kampüsü, MERSİN
E-posta: ykeles@mersin.edu.tr

Received;25.03.2003, Accepted;05.05.2003

Özet: İki buğday türüne ait 6 genotipin (*Triticum aestivum* L. cv. Bezostaya-1, cv. Seri-82, cv. Kıraç-66 ve *Triticum durum* Desf. cv. Kızıltan-91, cv. Kunderu 414-44, cv. Ç.1252) tuz stresine tepkileri incelendi. Bitki yetiştirme dolabında 7 gün süreyle büyütülen fideler, 7. günün sonunda Arnon-Hoagland besin çözeltisi içeren kavanozlara alındı. Tuz stresi uygulaması besin çözeltisine 200 mM NaCl eklenmesi ile gerçekleştirildi.

Deneme sonunda tuz stresi altındaki bitkilerde bitki büyümesi ve oransal su içeriğinin (OSİ) önemli ölçüde azaldığı tespit edildi. Klorofil a, b ve toplam klorofil içeriği önemli ölçüde azalırken, klorofil a/b oranı çeşitlere göre değişiklik gösterdi. Prolin miktarının tuz stresi altındaki fidelerde çarpıcı bir şekilde arttığı bulundu. Çözünür protein ve çözünür fenolikler hafifçe artış gösterirken, çözünür karbonhidrat miktarı Seri-82 ve Ç-1252 çeşitleri hariç azaldı. Sonuçlar, incelenen genotipler arasında tuzluluğa tepkide önemli farklılıklar olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Fenolik, karbonhidrat, klorofil, prolin, protein

Changes of Growth, Chlorophyll Content and Solute Composition in Wheat Genotypes Under Salt Stress

Abstract: Responses to salt stress of six genotypes belonging to two wheat species (*Triticum aestivum* L. cv. Bezostaya-1, cv. Seri-82, cv. Kır a -66 and *Triticum durum* Desf. cv. Kızıltan-91, cv. Kunduru 414-44, cv.  .1252) were investigated. Seedlings were grown in growth chamber for 7 days. At the end of 7th day, seedlings were transferred to jars which filled Arnon-Hoagland nutrient solution. The salt stress treatments were carried out with addition of 200 mM NaCl in nutrient solution.

It was determined that plant growth and relative water content (RWC) decreased in seedlings under salt stress. Total chlorophyll content and chlorophyll a, b contents decreased but chlorophyll a/b ratio changed differently in genotypes. Proline amount significantly increased in seedlings under salt stress. Soluble proteins and phenolics slightly increased while soluble carbohydrates decreasing, with the exception of Seri-82 and  -1252. The results indicated that there were significant differences at these responses to salt stress among genotypes.

Key words: Carbohydrate, Chlorophyll, Phenolic, Proline, Protein

Giriş

Yüksek tuz konsantrasyonuna sahip toprakların doğal florası halofitler olarak adlandırılır [1]. 200 mM'ın altındaki tuz konsantrasyonunda zarar gören bitkiler ise halofit olmayan bitkilerdir. Halofit olmayan bitkilerin bir kısmı 200 mM NaCl konsantrasyonunda büyümeye devam edebilir. Bu bitkiler tuza toleranslı olarak kabul edilirler [2].

Yüksek tuz içeren ortamlardaki bitkiler aldıkları fazla tuzu vakuollerinde biriktirerek sitoplazmanın elektrolit dengesini sağlarken, nötral organik çözüner maddelerle sitoplazmanın su potansiyelini korurlar. Sitoplazmada organik çözüner maddelerin birikimi için iki fonksiyon öne sürülmüştür. 1) Elektrolitler sitoplazmada vakuolden daha düşük düzeyde olduğunda ozmotik dengeye yardımcı olurlar, 2) Sitoplazmada yüksek elektrolit varlığında enzimleri korurlar [3, 4].

Buğday genotiplerinin tuz toleransındaki farklılıkların belirlenmesi tuzlu alanlar için genotip seçiminde önemlidir. Bu çalışmada, *Triticum aestivum* ve *Triticum durum* türlerine ait 3'er genotipin tuzluluğa tepkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, büyüme ölçümleri yapılmış ve biyokimyasal değişiklikler test edilmiştir.

Materyal ve Metodlar

Bu çalışmada iki buğday türüne ait 6 genotip kullanılmıştır. Bunlar *Triticum aestivum* L. cv. Bezostaya-1, cv. Seri-82, cv. Kır a -66 ve *Triticum durum* Desf. cv.

Kızıltan-91, cv. Kunduru 414-44, cv. Ç.1252'dir. Buğday tohumları kum - perlit (1:1 v/v) karışımı bulunan saksılara ekilmiş ve 24/16°C de (14 saat gündüz 10 saat gece) 7 gün süreyle Arnon-Hoagland çözeltisi ile sulanarak büyütülmüşlerdir. Yedinci günün sonunda fideler iki gruba ayrılmış ve kontrol grubu fideler, içinde Arnon-Hoagland çözeltisi bulunan kavanozlara alınmıştır. Uygulama grubu ise besin çözeltisine ek olarak 200 mM NaCl içeren kavanozlara alınmıştır. Bu koşullarda fideler hergün havalandırılmak üzere 5 gün süreyle kavanozlarda tutulmuşlardır. Bu sürenin sonunda kavanozlardan alınan fidelerde kök ve sürgün boyu ölçümleri yapılmıştır.

Fidelerden rastgele alınan 3 cm uzunluğundaki 9 yaprak şeridinin kullanılması ile oransal su içeriği belirlenmiştir [5]. Klorofil ekstraksiyonu %80 lik aseton kullanılarak taze yaprak materyalinden yapılmıştır. Klorofil-a, klorofil-b ve toplam klorofil ölçümleri 750 nm'ye sıfırlanmış Cecil 5000 spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Klorofil miktarları Porra ve ark. [6] tarafından verilen eşitliklerin kullanılması ile hesaplanmıştır.

Çözünür karbonhidrat miktarları taze materyalden Halhoul ve Kleinberg'e [7] göre antron yöntemi ile belirlenmiştir. Prolin miktarı liyofilize edilmiş kuru örnekten Bates ve ark.'na [8] göre belirlenmiştir.

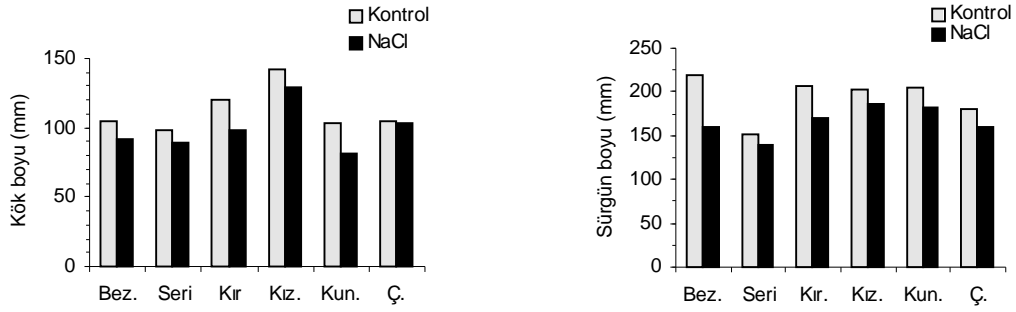
Çözünür protein Jordan ve ark. [9] tarafından belirtilen yöntem ile taze materyalden ekstrakte edilmiş ve Lowry ve ark. [10] 'a göre analiz edilmiştir. Çözünür fenoliklerin ekstraksiyonu ve analizi Ferraris ve ark. [11] 'a göre gerçekleştirilmiştir.

Tüm veriler, Minitab yazılımı ile varyans analizi yapılarak istatistik olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular

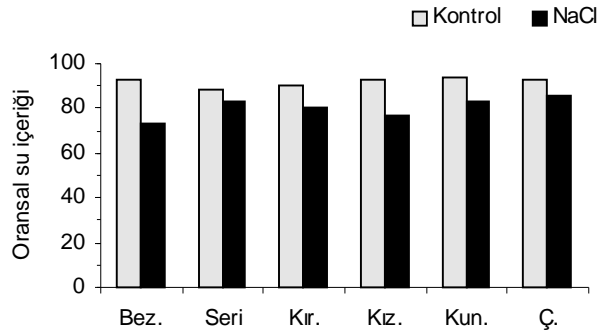
Kontrol ve uygulama grubunda yer alan örneklerin karşılaştırılması ile NaCl tuzluluğunun bitki büyümesi ve metabolizması üzerine etkileri incelenmiştir.

Kök ve sürgün büyümesi 200 mM NaCl uygulaması altında 5 gün gibi kısa bir süre kalmasına rağmen önemli ölçüde engellenmiştir ($P<0.01$, Şekil 1). Kök büyümesinde inhibisyon Ç.1252 genotipinde en düşük düzeydedir ($P<0.01$, Şekil 1). Sürgün büyümesi ise uygulama süresince kontrol fidelerinin %27'si ile %10'u arasında azalma göstermiştir ($P<0.05$, Şekil 1).



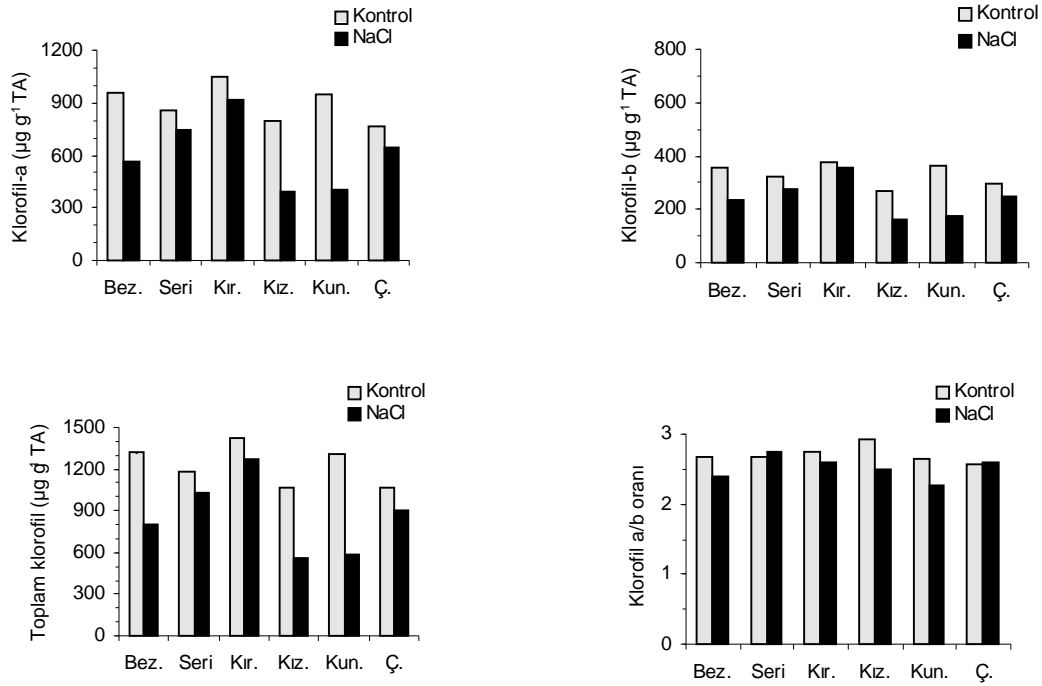
Şekil 1. Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinin (*T. aestivum*, Bezostaya-1 (Bez.), Seri-82 (Seri), Kırac (Kır.) ve *T. durum*, Kızıltan-91 (Kız.), Kunduru 414-44 (Kun.), Ç-1252 (Ç.) bitki büyümesinde değişimler. Kök boyu (genotip P=0.004, tuz P=0.008), sürgün boyu (tuz P=0.013).

Tuzlu koşullarda yetişen fidelerde önemli ölçüde turgor kaybı gözlenmiştir (P<0.01). Tuz uygulaması altındaki fidelerin oransal su içeriği Bezostaya-1’de %93 ten %73’e, Kızıltan-91’de %93’ten %77’ye azalmıştır (Şekil 2). Diğer genotiplerde ise tuz uygulamasını takiben oransal su içeriği değerleri %80-86 arasında değişmektedir (Şekil 2). Ölçülen değerler genotipler arasında istatistik bakımdan önemli bir farklılık göstermemektedir.



Şekil 2. Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinin (*T. aestivum*, Bezostaya-1 (Bez.), Seri-82 (Seri), Kırac (Kır.) ve *T. durum*, Kızıltan-91 (Kız.), Kunduru 414-44 (Kun.), Ç-1252 (Ç.) oransal su içeriğinde değişimler. Oransal su içeriği (tuz P=0.004).

Tuz stresi altında toplam klorofil içeriği önemli ölçüde azalmıştır (P<0.05). Klorofil miktarındaki azalma hem klorofil-a’da (P<0.05) hem de klorofil-b’de (P<0.05) gözlenmektedir (Şekil 3). Toplam klorofil miktarı *T. aestivum* genotiplerinden Bezostaya-1’de kontrol’e göre %41, *T. durum* genotiplerinden Kızıltan-91’de %50, Kunduru’da % 58 azalmıştır. Diğer genotiplerde klorofil



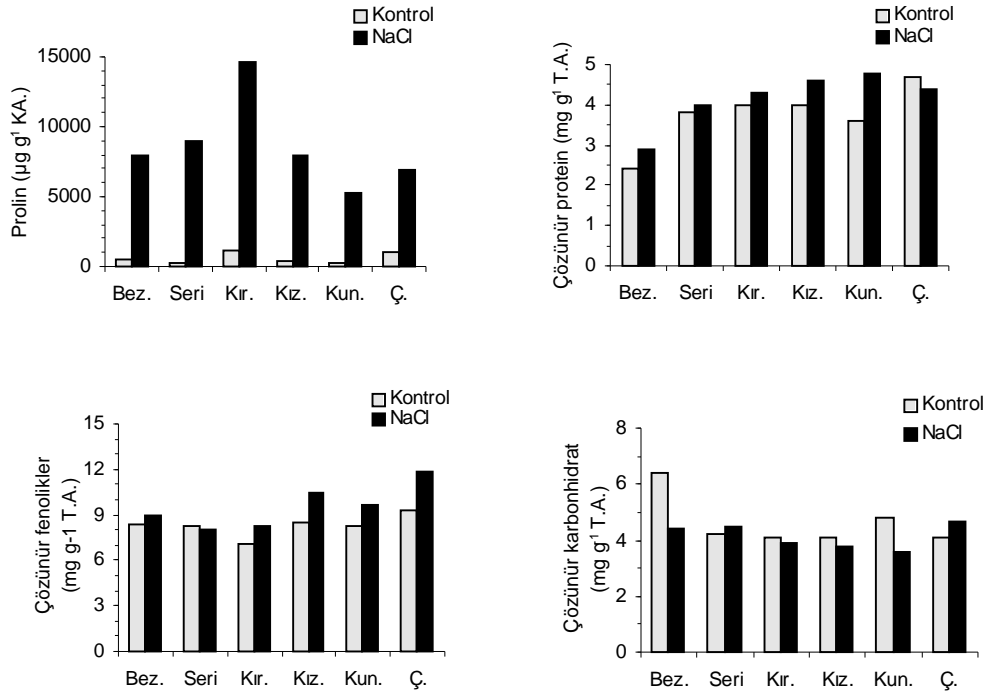
Şekil 3. Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinin (*T. aestivum*, Bezostaya-1 (Bez.), Seri-82 (Seri), Kıraç (Kir.) ve *T. durum*, Kızıltan-91 (Kız.), Kunduru 414-44 (Kun.), Ç-1252 (Ç.) klorofil içeriğinde değişimler. Klorofil-a (tür P=0.033, tuz P=0.036), klorofil-b (tür P=0.032, tuz P=0.013), toplam klorofil (tür P=0.032, tuz P=0.005).

kayıbı nisbeten daha düşük düzeydedir (Şekil 3). Toplam klorofil içeriğindeki değişimler *T. aestivum* ve *T. durum* türleri arasında önemli ölçüde farklıdır (P<0.05). Klorofil a/b oranı Seri-82 ve Ç.1252 genotiplerinde hafifçe artarken diğer genotiplerde azalmıştır. Ancak bu değişim istatistik bakımdan önemli görülmemektedir (Şekil 3).

İncelenen tüm buğday genotipleri tuz stresi altında önemli miktarda prolin biriktirmiştir (P<0.01). Genotiplere göre değişmekle birlikte 200 mM NaCl konsantrasyonu fidelerin prolin içeriğini 10-20 katına kadar artırmıştır. *T. aestivum* genotipleri *T. durum* genotiplerinden daha yüksek prolin içeriğine sahiptir (Şekil 4).

Çözünür protein miktarı, Ç.1252 genotipi dışında tüm genotiplerde tuz uygulaması ile artış göstermiştir. Ancak bu artış istatistik değerlendirmede önemli görülmemektedir. Kızıltan-91 ve Kunduru gibi tuza nisbeten duyarlı görünen genotiplerde çözünür protein içeriğindeki artış daha fazladır (P<0.05, Şekil 4).

Çözünür fenolik miktarı tuz uygulaması ile *T. durum* genotiplerinde *T. aestivum* genotiplerine göre önemli ölçüde artış göstermiştir (P<0.01). Tuz uygulaması altında çözünür fenolik düzeyindeki artış P<0.05 düzeyinde önemlidir (Şekil 4).



Şekil 4. Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinin (*T. aestivum*, Bezostaya-1 (Bez.), Seri-82 (Seri), Kıraç (Kır.) ve *T. durum*, Kızıltan-91 (Kız.), Kunduru 414-44 (Kun.), Ç-1252 (Ç.) çözümlü madde kompozisyonunda değişimler. prolin (tuz P=0.000), çözümlü protein (genotip P=0.023), çözümlü fenolikler (tür P=0.008, tuz P=0.023).

Çözümlü karbonhidrat miktarı Seri-82 ve Ç.1252 genotiplerinde hafifçe artış gösterirken diğer genotiplerde azalmıştır. Bezostaya-1 ve Kunduru genotiplerinde çözümlü karbonhidrat miktarındaki azalma daha belirgindir. Bununla birlikte çözümlü karbonhidrat değerlerinde gözlenen farklılıklar istatistiksel bakımdan önemli değildir (Şekil 4).

Tartışma

Bitki türleri ve genotipleri arasında tuz toleransı bakımından önemli farklılıklar bulunmaktadır [2, 12]. Zhu ve Boyer'e [13] göre yüksek tuzluluktan kaynaklanan büyüme azalması turgor kaybından değil, enerji metabolizmasındaki ve hücre çeper polimerlerinin sentezindeki azalmadan kaynaklanmaktadır.

Kaiser ve ark.'na [14] göre tuzlu ortamda yetişen ıspanak bitkilerinde büyüme azalması fotosentezin inhibisyonundan çok stoma direncinin artışına bağlanmaktadır. Aynı araştırmacılar, büyüme azalmasının besin ve su alımının azalmasından kaynaklanabileceğini de bildirmişlerdir. Wang ve ark. [15] tuzluluğun zararlı etkilerini

su stresi, iyon toksisitesi ve iyon dengesizliği (K^+ alımında inhibisyon) ya da bu faktörlerin bir kombinasyonuna bağlamışlardır. Ayrıca Wang ve ark. [15], fotosentez oranlarındaki azalmanın stoma iletkenliğinin azalması ile ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

T. aestivum genotiplerinde su ve tuz stresi koşullarında oransal su içeriği değişimini inceleyen Tıprıdamaz ve Çakırlar [16] 150 mM NaCl konsantrasyonunda Gerek-79 genotipinde %83, Bezostaya-1 genotipinde ise %79 oransal su içeriği belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu durumu, dayanıklı genotiplerin osmotik uyum yeteneğine ve hücre çeper esnekliğindeki farklılığa bağlamışlardır. Moran ve ark. [17] bezelyede oransal su içeriğinin %80'e kadar azalması ile stoma direncinin 10 kat arttığını ve fotosentezin %80'e kadar azaldığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, 200 mM NaCl içeren su kültürü ortamında yetiştirilen buğday fidelerinde 5 günlük NaCl uygulaması sonucunda kök ve sürgün büyümesi önemli ölçüde azalmıştır (Şekil 1). Seri-82 ve Ç-1252 gibi yavaş büyüyen genotiplerde büyüme inhibisyonu nisbeten azdır. Bu iki genotip oransal su kaybı bakımından da diğer genotiplere göre tuzluluğa daha dayanıklı görülmektedir. Bezostaya-1 ve Kızıltan-91 genotipleri tuz stresi altında oransal su içeriği bakımından en düşük değerleri vermektedirler (Şekil 2).

Tuzluluk, bitkilerin klorofil içeriğinde ve fotosistem-II aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır [18]. Tuz stresi altında büyütölen mısır fidelerinde toplam klorofil, klorofil-a ve klorofil-b içeriği önemli ölçüde azalmaktadır [19]. Aynı araştırmada yeşermenin ilk 12 saatinde artış gösteren klorofil a/b oranı 48 saat içinde önemli ölçüde düşüş göstermiştir. Ganieva ve ark. [19] tuz stresi altında fotosistem-I in fotosistem-II ye göre daha stabil kaldığını göstermişlerdir. Araştırmacılar tuzun olası zararlarını ışık toplama kompleksinin ve tilakoid membranların azalmasına ve fotosistemler arasındaki koordinasyonun bozulmasına bağlamışlardır.

Bu çalışmada, klorofil-a, klorofil-b ve toplam klorofil tüm buğday genotiplerinde önemli ölçüde azalırken klorofil-a kaybına Seri-82 ve Ç-1252 genotiplerinin daha dirençli oldukları gözlenmiştir (Şekil 3). Bu durum, Seri-82 ve Ç-1252 genotiplerinde klorofil a/b oranının artmasına, diğer genotiplerde ise azalmasına neden olmuştur. Klorofil a/b oranı tuz dayanıklılığının belirlenmesinde önemli bir parametre olabilir.

Prolin, glisinbetain ve çözümlür karbonhidratlar gibi osmotik etkiye sahip organik maddeler çoğu bitkilerde yüksek tuzlulukla artar [2]. Prolin için önerilen koruyucu rollerden biri proteinlerin çözümlürlüğünü artırmasıdır. Sakkaroz ise kuruma zararlarına karşı kloroplastları korumaktadır. Prolinin koruyucu rolünü bazı bitkilerde glisinbetain yada sorbitol gibi başka bileşikler üstlenebilir. Bu nedenle tüm bitkilerde prolin birikimi gözlenmeyebilir [2]. Prolinin uyuma ilişkin rolü büyümenin devamından çok canlılığın sürdürülmesi ile ilişkilidir. Prolin birikiminin tuza toleranslılarda tuza duyarlılardan daha fazla olduğu yolunda yeterli kanıt yoktur [2].

Bu çalışmada incelenen tüm buğday genotipleri önemli ölçüde prolin biriktirmiştir (Şekil 4). Fakat *T. aestivum* genotiplerinin özellikle kuraklığa dayanıklı Kıraç-66 genotipinin daha yüksek prolin değerlerine sahip olduğu da açıktır. Bu durum, prolin birikiminin tuz zararlarını ortadan kaldırmaktan çok su eksikliğinin zararlarından korunmak amacına yönelik olduğunu düşündürmektedir.

Osmotik etkisi nedeniyle tuz stresi altında birikmesi beklenen çözümlür karbonhidrat miktarının dayanıklı olduğu düşünölen Seri-82 ve Ç-1252 genotipleri dışında önemli ölçüde azalması, ileri düzeyde klorofil kaybına ve fotosentez hızının azalmasına bağlanabilir. Çünkü klorofil kaybı ile çözümlür karbonhidrat kaybı arasında bir korelasyon göze çarpmaktadır. Klorofil a/b oranını kaybetmeyen genotiplerde karbonhidrat üretimi devam ederken klorofil a/b oranı düşen genotiplerde karbonhidrat miktarı azalmaktadır.

Toplam protein içeriği pamukta tuz stresi altında değişiklik göstermemiştir [20]. Bezelyede ise düşük tuz konsantrasyonunda artan protein içeriği yüksek tuz konsantrasyonunda hızla azalmıştır [21]. Bu çalışmada, Ç-1252 dışında kalan diğer genotipler tuz stresi altında çözümlür protein içeriğini artırmıştır (Şekil 4). Bu artış, tuz stresinde koruyucu rol oynayan bazı proteinlerin sentezindeki artışa bağlanabilir.

Fenolik bir polimer olan lignin içeriği tuz stresi altında azalmaktadır [15]. Lignin miktarındaki azalma çözümlür fenoliklerin artışından sorumlu olabilir. Çözümlür fenolik miktarının ileri düzeyde zararlanma gösteren dokularda biriktiği Öncel ve ark. [22] tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmada, tuz stresi altında Seri-82 hariç tüm genotiplerin çözümlür fenolik düzeyinde artış gözlenmiştir. Çözümlür fenolik düzeyindeki artış *T. durum* genotiplerinde daha önemli düzeydedir (Şekil 4).

Sonuç olarak, buğday fideleri 200 mM tuz konsantrasyonunda kısa süreli uygulamalarda bile önemli ölçüde zarar görmektedir. *T. durum* genotipleri tuz stresine karşı *T. aestivum* genotiplerinden daha duyarlı görülmektedir (Ç-1252 nisbeten dayanıklı). Bu durum prolin biriktirme yeteneğinin zayıflığı ile ilgili olabilir. İncelenen genotipler arasında tuz dayanıklılığı en iyi olan genotipler Seri-82, Ç.1252 ve Kıraç-66 olarak görünürken Bezostaya-1, Kunderu 414-44 ve Kızıltan-91 200 mM NaCl 'e oldukça duyarlıdır.

Kaynaklar

- [1] D.H. Jennings, In: Greenway, H., and Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu Rev. Plant Physiol.* 1976, 31, 149–190.
- [2] H. Greenway, R. Munns, *Annu. Rev. Plant Physiol.* 1980, 31, 149–190.
- [3] K.A. Santarius, *Planta* 1973, 113, 105–114.
- [4] B. Schobert, H. Tschesche, *Biochem Bioph Acta* 1978, 541, 270–277.
- [5] F.B. Salisbury, C.W. Ross, *Plant Physiology*, Wadsworth Publishing. Co. California, 1992.
- [6] R. J. Porra, R.A. Thompson, P.E. Kriedemann, *Biochem Bioph Acta*, 1989, 975, 384-394.
- [7] M. N. Halhoul, I. Kleinberg, *Anal Biochem* 1972, 50, 337-343.
- [8] L.S. Bates, R.D. Walderen, I.D. Taere, *Plant Soil*, 1973, 39, 205-207.
- [9] B.R. Jordan, J. He, W.S. Chow, J.M. Anderson, *Plant Cell Environ* 1992, 15, 91-98.
- [10] O. H. Lowry, N. T. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall, *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265-275.
- [11] L. Ferraris, I. Abbatista-Gentile, A. Matta, *J. Plant Dis Protec.* 1987, 94, 624-629
- [12] H. Nonami, *J. Plant Res.* 1998, 111, 373–382.
- [13] G.–L. Zhu, J.S. Boyer, *Plant Physiol.* 1992, 100: 2071–2080.
- [14] W. M. Kaiser, H. Weber, M. Sauer, *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* 1983, 113, 15–27.
- [15] L–W. Wang, A.M. Showalter, I.D. Ungar, *Am. J. Botany* 1997, 84, 1247–1255.
- [16] R. Tıprıdamaz, H. Çakırlar, *Tr. J. Biology* 1990, 14, 125–148.
- [17] J.F. Moran, M. Becana, I. Iturbe–Ormaetxe, S. Frechilla, R.V. Klucas, P. Aparicio–Tejo, *Planta* 1994, 194, 346–352.
- [18] R. Smillie, R. Nott, *Plant Physiol.* 1982, 70, 1049-1054.
- [19] R. Ganieva, S. Allakhverdiev, S. Bayramova, S. Nafisi, *Tr. J. Botany* 1997, 21, 253-257.
- [20] D.R. Gosset, E.P. Millhollon, M.C. Lucas, *Crop Sci.* 1994, 34, 706-714.
- [21] H.R. Dhingra, T.M. Varghese, N. Kajal, *Indian J. Plant Physiol.* 1996, 1, 220-222.
- [22] I. Öncel, Y. Keleş, A.S. Üstün, *Environ Pollut.* 2000, 107: 315-320