

## YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

Sefer DEMİRBAŞ tarafından Yrd. Doç. Dr. Okan ACAR yönetiminde hazırlanan “BAZI AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) VARYETELERİNDE *Orobanche cumana* Wallr.’ NİN SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ (SOD;E.C.1.15.1.1) ve PEROKSİDAZ (POD;E.C.1.11.1.7) AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. OKAN ACAR

Yönetici

Doç. Dr. SELAHATTİN YILMAZ

Yrd. Doç. Dr. CÜNEYT AKI

Jüri Üyesi

Jüri Üyesi

Prof. Dr. M. Emin ÖZEL

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

## TEŞEKKÜR

Bu araştırma konusunu önererek, tezin oluşturulması ve geliştirilmesinde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan danışmanım Yrd. Doç. Dr. Okan ACAR' a, Peroksidaz analizinde ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Cüneyt AKI' ya, yüksek lisans arkadaşım Filiz BAYKAL' a, *Orobanch* sp. sentetik çimlenme tetikleyicisi olan GR-24' ün temin edilmesindeki yardımlarından dolayı Radboud Nijmegen Üniversitesi Organik Kimya Bölümünden Prof. Dr. Binne ZWANENBURG' a, laboratuvarlarında bulunan spektrofotometre cihazının kullanılmasındaki yardımlarından dolayı Ç.O.M.Ü Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Muhammed TÜRKOĞLU' na ve Arş. Gör. Özgür Emek İNANMAZ' a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu araştırma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından BAP 2005/27 nolu proje ile desteklenmiştir. Bu nedenle adı geçen kuruluşa teşekkür ederim.

Ayrıca, bugüne gelmemde haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili babam Rasim DEMİRBAŞ ve annem Güngör DEMİRBAŞ' a teşekkür ederim.

Sefer DEMİRBAŞ

## SİMGELER VE KISALTMALAR

- AFR : Askorbat serbest radikali  
AFRR : Askorbat serbest radikal redüktaz  
APX : Askorbat peroksidaz  
ASC veya ASA: Askorbat  
CAT : Katalaz  
CMS : Stoplazmik Erkek Sterilite  
Crys : Kriptokromlar  
DAO : Diamin oksidaz  
DHA : Dehidroaskorbik asit  
DHAR: Dehidro askorbik asit redüktaz  
E.C. : Uluslar arası Enzim komisyonu  
GR 24 : Strigol' ün sentetik analogu.  
GR : Glutasyon redüktaz  
GSH : Glutasyon  
GSSG : Glutasyon disülfit  
HR : Aşırı duyarlılık  
phys : Fitokromlar  
PAO : Poliaminoksidaz  
POD : Peroksidaz  
PR : Patojenezisle ilgili proteinler  
ROT : Reaktif oksijen türleri  
Rp : Reseptör proteinler  
SA : Salisilik Asit  
SAR : Sistemik Uyarılmış Dayanıklılık  
SOD : Süperoksit dismütaz

**BAZI AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) VARYETELERİNDE *Orobanche cumana* Wallr.' NİN SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ (SOD;E.C.1.15.1.1) VE PEROKSİDAZ (POD;E.C.1.11.1.7) AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**ÖZET**

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) köklerini enfekte eden *Orobanche cumana* Wallr., tam parazit bir Angiosperm'dir. Ana vatanı Akdeniz bölgesidir. *O. cumana* Wallr. tohumları Trakya Bölgesinden (Tekirdağ-Hayrabolu) toplanmıştır. Araştırmada, *Orobanche* genusuna dayanıklılığı bilinen ayçiçeği varyeteleri PIONEER 4223 ve ilaçla dayanıklı SANAY ile *Orobanche* genusuna duyarlılığı bilinen ayçiçeği varyetesi olan ISERA kullanılmıştır.

*O. cumana* Wallr. bitkisi tohumları petri kaplarında bir hafta süresince nemli ve karanlık bir ortamda bekletilmiştir ve 1 hafta sonra GR 24 uygulaması yapılmıştır. Uygulamanın ardından çimlenen tohumlar araştırmada kullanılacak ayçiçeği varyetelerinin köklerine penetre edilerek su kültüründe ayçiçeği fideleriyle birlikte yetiştirilmiştir. Penetrasyondan sonra her bir varyete için ayrı ayrı 1., 3., 5., 7. ve 9. günde uygulama yapılan ve kontrol grubu olarak tespit edilen ayçiçeği köklerinden örnekleme yapılmıştır. *Orobanche* genusuna dayanıklılıkta, bitki – parazit ilişkisinden ileri gelen oksidatif stresin izlenmesi için antioksidatif savunma enzimlerinden Süperoksit dismütaz (SOD;E.C.1.15.1.1) ve Peroksidaz (POD;E.C.1.11.1.7) aktivitelerindeki değişiklikler saptanmıştır.

*O. cumana* Wallr. parazitine duyarlı olduğu bilinen ISERA, toplam SOD miktarları dikkate alındığında kısa süreli antioksidatif yanıt oluşturmakla birlikte, bu yanıtlarını POD ile destekleyememektedir. *O. cumana* Wallr. parazitine toleranslı olduğu bilinen PIONEER 4223 varyetesinin hem toplam SOD miktarında hem de POD aktivitesinde sergilediği anlamlı antioksidatif yanıtlar ise, bu yolun tolerans mekanizmasında işlevsel olabileceğini göstermektedir. Bu anlamda, duyarlı ISERA

varyetesinin toplam SOD miktarlarıyla POD aktiviteleri arasındaki uyumsuzluk onun duyarlılık mekanizmasını açıklayabilir. İlaçla dayanıklı olduğu bilinen SANAY varyetesi, araştırmamızda ilaç kullanılmadan incelenmiştir. Bu varyetede saptanan SOD verileri anlamsız değişimler sergilemektedir. Aynı varyetenin POD aktiviteleri ise ISERA varyetesine zıt şekilde genellikle kontrole kıyasla yüksektir. Ancak her iki antioksidatif enzim için kontrole kıyasla anlamlı artışlar saptanmamıştır. Bu durum SANAY varyetesinin ISERA varyetesine benzer şekilde *O. cumana* Wallr. parazitine duyarlı olduğuna işaret etmektedir.

Araştırmamızda ayçiçeği – orobanş arasındaki ilişkide ortaya çıkan oksidatif strese, PIONEER 4223 varyetesinin özellikle kısa süre için çok iyi yanıt oluşturduğu saptanmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Ayçiçeği, *Helianthus annuus*, ISERA, PIONEER 4223, SANAY, *Orobanche cumana*, Süperoksit dismütaz, Peroksidaz, Antioksidatif enzimler, Oksidatif stres.

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi BAP tarafından 2005/27 numaralı projeden desteklenmiştir.

**THE EFFECT OF *Orobancha cumana* Wallr. ON SUPEROXIDE  
DISMUTASE (SOD;E.C.1.15.1.1) AND PEROXIDASE (POD;E.C.1.11.1.7)  
ACTIVITIES IN SOME SUNFLOWER VARIETIES**

**ABSTRACT**

*Orobancha cumana* Wallr. is a holoparasitic angiosperm which infects *Helianthus annuus* L. roots. It originated in the Mediterranean regio. *O. cumana* Wallr. seeds were collected on infested sunflower fields in Thracia region (Hayrabolu-Tekirdağ). In this research some *O. cumana* resistant sunflower varieties (PIONEER 4223 and SANAY) and sensitive one (ISERA) were used.

*O. cumana* Wallr. seeds were placed in petri dishes and were kept there for one week and then GR 24 was applied. After GR 24 treatment sunflower seedlings were grown in hydroponic culture for one week before infestation, and germinating broomrape seeds were penetrated into sunflower roots. After the penetration, sunflower roots were harvested to determine the total protein and antioxidant enzyme activities in first, third, fifth, seventh and ninth days respectively. The interaction of *O. cumana* Wallr. with resistant and sensitive sunflower varieties (ISERA, SANAY, PIONEER 4223) in Turkey was investigated and the changes in Superoxide dismutase (SOD;E.C.1.15.1.1) and Peroxidase (POD;E.C.1.11.1.7) activities were identified.

The results indicate that ISERA, which is known as a sensitive variety to *O. cumana* Wallr., contains high total SOD amount in antioxidative responses in short time. But these results are not supported with peroxidase activity. PIONEER 4223, which is known as a resistant variety to *O. cumana* Wallr., displays antioxidative responses to functional expressive increase in both total SOD amount and POX activity. These results indicate that total SOD amount and POX activity of ISERA are not compatible. It may explain sensitive mechanism of ISERA. SANAY is known as a resistant variety with using total herbicide. In this research, this chemical

substance was not examined. The total amount of SOD in SANAY variety is obscure. When SANAY is compared with ISERA, higher level of peroxidase activity were determined in same application group than that of control group in SANAY.

However, no significant increases were identified for two antioxidative enzymes in application group in comparison with control group. This result indicates that SANAY and ISERA varieties are sensitive to *O. cumana* Wallr. in the same way.

In our experiment, it was determined that PIONEER 4223 variety constituted a perfect response especially for a short time to oxidative stress appearing as a result of the interaction sunflower with *Orobanche*.

**Key words:** Sunflower, *Helianthus annuus*, ISERA, PIONEER 4223, SANAY, *Orobanche cumana*, Superoxide dismutase, SOD, Peroxidase, POD, Oxidative stress, Antioxidant enzymes.

The present M.Sc. thesis was supported by Çanakkale Onsekiz Mart University BAP under the project no of 2005/27.

**BAZI AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.)  
ÇEŞİTLERİNDE *Orobanche cumana* Wallr.'NİN  
SÜPEROKSİT DİSMÜTAZ (SOD;E.C.1.15.1.1) VE  
PEROKSİDAZ (POD;E.C.1.11.1.7)  
AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Yüksek Lisans Tezi  
Biyoloji Anabilim Dalı**

---

**Sefer DEMİRBAŞ**

**Yrd. Doç. Dr. Okan ACAR**

**Ağustos, 2006**

**ÇANAKKALE**

**Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.**



<b>İÇERİK</b>	<b>Sayfa</b>
<b>YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU</b> .....	<b>i</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>ii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>BÖLÜM 1-GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. AYÇİÇEĞİ ( <i>HELİANTHUS ANNUUS</i> L.).....	2
1.1.1. Biyolojik Özellikleri .....	3
1.2. VEREM OTU ( <i>OROBANCHE</i> SPP.).....	6
1.2.1. Orobanche cinsinin taksonomik özellikleri.....	7
1.2.2. Yaşam Döngüsü.....	8
1.2.3. Çimlenme Uyarıcıları .....	11
1.2.4. Diğer Çimlenme Uyarıcıları .....	12
1.3. BİTKİ PARAZİT İLİŞKİLERİ.....	15
1.3.1. Bitki Parazit İlişkisinde Antioksidatif Savunma .....	17
1.3.1.1. Süperoksit Dismütaz (SOD; E.C.1.15.1.1).....	21
1.3.1.2. Peroksidaz (POD; E.C.1.11.1.7).....	22
<b>BÖLÜM 2- MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>24</b>
2.1. BİTKİ MATERYALİ .....	24
2.2. YÖNTEM.....	24
2.2.1. <i>O. cumana</i> Wallr. ve Ayçiçeği Bitkilerinin Su Kültürü Yöntemiyle Yetiştirilmesi .....	24
2.2.2. Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi .....	27
2.2.2.1. Toplam Protein Analizi.....	27
2.2.2.1.1. Reaktif Hazırlanması. ....	27
2.2.2.1.2. Protein Standardının Hazırlanması .....	27
2.2.3. Uygulama.....	28
2.2.3.1. Süperoksit Dismütaz [SOD; E.C. 1.15.1.1] Aktivitesinin Belirlenmesi .....	28
2.2.3.1.1. Reaksiyon karışımı. ....	29
2.2.3.1.2. Özütleme Hazırlanması. ....	29
2.2.3.1.3. Hesaplama. ....	29
2.2.3.2. Peroksidaz [POD; E.C. 1.11.1.7] Aktivitesinin Belirlenmesi.....	29
2.2.3.2.1. Reaksiyon Karışımı .....	30
2.2.3.2.2. Özütleme Hazırlanması. ....	30
2.2.3.2.3. Hesaplama .....	31
2.2.4. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi .....	31
<b>BÖLÜM 3-SONUÇ VE TARTIŞMA</b> .....	<b>33</b>
3.1. TOPLAM PROTEİN İÇERİKLERİNİN HESAPLANMASI.....	33
3.2. <i>OROBANCHE CUMANA</i> WALLR. BİTKİSİ UYGULAMASINA BAĞLI OLARAK <i>HELİANTHUS ANNUUS</i> L. BİTKİLERİNDE MEYDANA GELEN TOPLAM SOD MİKTARINDAKİ DEĞİŞİMLER.....	35
3.3. <i>OROBANCHE CUMANA</i> WALLR. BİTKİSİ UYGULAMASINA BAĞLI OLARAK <i>HELİANTHUS ANNUUS</i> L. BİTKİLERİNDE MEYDANA GELEN POD AKTİVİTELERİNDEKİ DEĞİŞİMLER .....	39
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>49</b>
<b>TABLolar</b> .....	<b>55</b>
<b>ŞEKİLLER</b> .....	<b>56</b>
<b>YAŞAM ÖYKÜSÜ</b> .....	<b>57</b>

## BÖLÜM 1-GİRİŞ

Keen (1990)' e göre; patojenlerin saldırısına karşı bitkiler bir çeşit savunma mekanizmasına sahiptir. Bu mekanizmalar, patojen saldırısı meydana geldiğinde etkili bir şekilde aktive olur. Bu aktivasyonda bir gecikme ya da oluşmama görüldüğü takdirde, patojen bitkiyi istila eder. Konukçunun dayanıklılığı, patojenle bire bir temas eden hücrelerin ölümünü içeren aktif "aşırı duyarlılık (HR)" ve çevre hücrelerde bulunan sağlıklı dokulara patojenin yayılmasını engelleyen savunma yanıtlarının oluşturduğu bir bütüne bağlıdır (Alvarez ve Lamb, 1997). Klement (1982)' e göre; bu bütün içersinde konukçu ve patojen arasındaki ortaklaşa evrim sırasında bitkiler kendilerini patojenlerden koruma yolları olarak çeşitli engeller de geliştirmişlerdir. Mumsu tabaka ve lignin birikmesiyle oluşan hücre duvarlarıyla yapılan savunma mekanizması, genelde bütün patojen türlerine karşı etkilidir (Tör, 1998).

Bu olay moleküler düzeyde ele alındığında; oksidatif patlama sırasında  $H_2O_2$ ' in birikiminin doğrudan antimikrobiyal etkiyle değil hücre duvarı proteinlerinin ve olası polimerlerinin oksidatif çapraz bağlanmasının devamı veya hipersensitif hücre ölümlerinin devamı ile gerçekleştiği görülür. Daha sonra ki savunma yanıtları ise fitoaleksinlerin biyosentezi, lignin ve lignin polimerlerinin (hücre duvarı yapısal proteinleri gibi) ve patojenezisle ilişkili proteinlerin (PR) birikimidir (Alvarez ve Lamb, 1997).

HR' ta patojenin penetre olduğu bölgenin etrafındaki hücrelerde fitoaleksinlerin biyosenteziyle ve programlanmış hücre ölümlerinin aktivasyonundan önce patojenezisle ilgili olan diğer proteinleri kodlayan genler aktif duruma geçer. HR' ta reaktif oksijen türlerinin oluşumu anahtar işlevi görmektedir. Burada HR' ı aydınlatmak için bir çok enzimatik sistemin görevli olduğu bilinmektedir (Gara ve diğ., 2003). Hipersensitif yanıtların gelişimi, sistemik uyarılmış dayanıklılığın (SAR) yavaş yavaş düzenlenmesini de yönlendirir. SAR, uzun süreli olarak bitki için

zararlı olan patojenlere karşı geniş ölçüde dayanıklılığı sağlar. Salisilik asit (SA) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> molekülleri hem HR hem de SAR mekanizmalarında fizyolojik görevlere sahiptir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bitki savunma mekanizmasında ara sinyal molekülü olarak görünmektedir. Bu molekül savunma gen ifadesinin ve HR hücre ölümünün aktivasyonunu yönlendiren programları tetikler (Alvarez ve Lamb, 1997).

Ülkemizdeki ayçiçeği üretiminde Orobanş sorunu ilk olarak 1956 yılında görülmüştür. 1960' ların başında Rusya' dan Orobanş' a dayanıklı Vniimik çeşidinin getirilmesiyle bu sorun çözülmüştür. 1981 yılında Orobanş' ın yeni ırkları tekrar Trakya bölgesinde görülmüş ve Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü' nce yapılan çalışmalar sonucunda bu yeni ırkların ülkemizde yayılış alanları ve hangi ırkların bulunduğu araştırılmıştır. Bu sorun enstitü ve özel şirketlerce geliştirilen dayanıklı çeşitlerle sorun çözülmüştür (Kaya, 2003). Bulbel ve diğ. (1991)' ne göre; 1956 ve 1982 yılları arasında ayçiçeği üretimi yapılan bölgelerde *Orobanche* sp. kaynaklı verim kaybı yaklaşık olarak %50 olarak belirtilmektedir (Lu ve diğ., 2000). Petzoldt ve diğ. (1994)' e göre; ürün kaybına çözüm olarak Trakya çiftçisi derin sürüm ve dayanıklı hibritlerin ekimiyle ürünlerini koruma altına almaktadır (Thomas ve diğ., 1998). Vranceanu ve diğ. (1980), Perez-Vich ve diğ. (2002) ve Akhtouch ve diğ. (2001)' e göre; son birkaç yıldır, hem ülkemizde hem de Doğu Avrupa ülkelerinde ve Rusya' da, Orobanş' ın yeni ırk veya ırklar ortaya çıkarak tekrar problem olmaya başladığı bildirilmektedir. Bu durum, Orobanş parazitinin dayanıklı çeşitlere karşı yaklaşık her yirmi yılda bir kendini yenileyerek dayanıklılık mekanizmasını kırdığı anlamına gelmektedir (Kaya, 2003; Labrouse ve diğ., 2004).

### **1.1. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.)**

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), tohumlarının zengin yağ ve protein içeriğinden dolayı dünya çapında üretimi yapılan endüstriyel bir bitkidir. Üretilen tohumların küçük bir kısmı tohum olarak tüketilmesine karşın büyük bir kısmı yağ asidi içeriğinden dolayı işlenerek tüketilmektedir. Ayçiçeğinde geleneksel ıslah uygulamalarının başarılı bir şekilde kullanılmasının yanında, 1969 yılında Leclercg

tarafından geliştirilen *Sitoplazmik Erkek Sterilite (CMS)*' ye dayanan yöntem sayesinde ayçiçeği, günümüzde dünyada yağlık olarak üretilen bitkiler sıralamasında dördüncü sırayı almıştır (Hahne, 2001).

Bonjean (1993)' e göre; ayçiçeğinin insanlar tarafından besin olarak kullanılmaya başlaması çok eski çağlarda Amerika yerlilerine dayanır. İlk defa 20. yy.' ın başlarında Rus ıslahçıları tarafından ayçiçeği tohumları yağ kaynağı olarak kullanılmaya başlamıştır. Ancak Dünya çapındaki önemi 1980' li yıllarda anlaşılmıştır (Hahne, 2001).

Ayçiçeğinin çok geniş bir adaptasyon kabiliyeti olmasına rağmen, ekim alanlarının yeterli olmaması nedeniyle, birim alandan elde edilen gelir az olmaktadır. Ayçiçeğinin daha geniş alanlarda ekiminin yaygınlaşması için birim alandan elde edilen verimi arttırıcı çalışmalar yapılmalıdır. Geleneksel ıslah metotları kullanılarak elde edilen çeşitlerde, genetik verimlilik kapasitesinin üst sınırına yaklaşılmıştır. Bu nedenle ayçiçeği veriminin arttırılmasındaki ilk yol modern ıslah tekniklerinin kullanılmasıdır. Verim arttırıcı ikinci yol ise geniş ölçüde tarımı yapılan ayçiçeği türlerinde çevresel streslere dayanıklılığın araştırılmasıdır (Kaya, 2004).

### **1.1.1. Biyolojik Özellikleri**

Heiser (1976, 1978)' e göre; *Helianthus* (Asteraceae) cinsine ait 67 tür bulunmaktadır. Bu türlerin bazıları bir yıllık bazıları da çok yıllıktır. Orijin bölgelerinde bu bitkiler zararlı ot olarak nitelendirilmektedir. Geri kalan kısmı süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Bu türler içerisinde *H. annuus* ve *H. tuberosus* (yer elması) geniş bir şekilde kültüre alınmaktadır (Hahne, 2001).

Steeves (1969)' a göre; kültüre alınan ayçiçeği tohumlarının çapı 6-10 mm' dir. Bu tohumlar embriyolarının yanında hava boşluğu da içermektedir. Fideler uzun, kuvvetli bir hipokotil ve çok iri ve etli kotiledonlara sahiptirler. Yetişkin

bitkiler 1,5-3 m uzunluğunda olabilmektedir. Çok geniş yapraklı olan bu bitkilerde yaprak dizilişi içtekiler alternat sonrakiler spiral olarak dizilmişlerdir. Yaygın bir şekilde tarımı yapılan varyeteler ve dişi ebeveynler bir gövde üzerinde bir kafa oluşturacak şekilde karakterize olurken, süs olarak yetiştirilen türler ve erkek ebeveynler sıklıkla uzamış çiçeklenme zamanından dolayı dallanmış yapı göstermektedir. Erkek ebeveynler böylelikle çok fazla dölleme yapabilirler (Hahne, 2001).

Carter (1978)' e göre; çiçek oluşumu, apikal meristemin vejetatif safhadan reproduktif safhaya geçişi sırasında çevresel faktörlerin etkisi altında gerçekleşir. Çimlenmeden yaklaşık 20 gün sonra çiçek oluşumu, 8-12 hafta sonra stamen oluşumu (anthesis) başlar. Genetik ve çevresel faktörler bu safhaların zamanını ve süresinde değişikliğe neden olabilmektedir. Ayçiçeğinde iki tip çiçek bulunmaktadır. Kafanın etrafını saran çiçekler verimsizdir (dilsiz çiçek). Bu çiçekler sarı renkte olup tozlaşma için böcekleri çekme işlevine sahiptirler. Kafanın iç kısmında bulunan disk çiçekleri ise verimlidir ve tohum oluştururlar (tüpsü çiçek). Tüpsü çiçeklerin dıştan içe doğru açılması olayına "asinkronuz" denir. Sentripetal düzende meydana gelen bu olayda her gün bir sıra çiçek açmaktadır. 5-10 gün arasında süren bu olay çiçeklenmenin büyüklüğüne ve çevresel koşullara bağlı olarak değişmektedir. Polen oluşumundan 10-15 gün sonra tüpsü çiçeklerde embriyo gelişimi tamamlanır ve son büyüklüğe ulaşılmış olur. Yalnız bu büyüklük onun son hacmi ve ağırlığı değildir. Tam olgunlaşma süresi 2-3 ay sürer (Hahne, 2001).

Bonjean (1993)' e göre; *Helianthus* cinsine ait türlerin büyük bir kısmı ılıman ve oldukça kurak olan bölgelerde yayılış göstermektedir. Modern ayçiçeği çekirdeklerinin kuru ağırlığının % 50-60' ı trigliseritten (embriyonun %80' i) oluşur. Ayçiçeği yağı doymamış yağlarca zengindir. Bu yağların % 65' ini linoleik asit, yaklaşık % 20' sini oleik asit oluşturur. Bu oran bitkinin genetik yapısı ve çevresel koşullara bağlı olarak değişmektedir. En önemli çevre faktörü olarak sıcaklık göze çarpmaktadır. Ilıman iklim görülen bölgelerde elde edilen yağın % 60-70' i linoleik asit iken Akdeniz ikliminin yada subtropikal iklimin görüldüğü

bölgelerde bu oran % 30' a düşmektedir. İslah çalışmalarının ana hedef noktası yağ miktarı ve oranıdır. Bu konuyla ilgili çalışmalar çeşitli enstitü ve tohum şirketleri tarafından yapılmaktadır (Hahne, 2001).

Schuster (1993)' e göre; bazı viral ve bakteriyal hastalıklar ayçiçeği üretiminde önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu hastalıklar ve hastalık yapan organizmalar Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Ayçiçeği hastalıkları ve hastalık yapan organizmalar (Hahne, 2001).

<b>Hastalığın adı</b>	<b>Organizmanın adı</b>
Beyaz benek	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Gri pas	<i>Botrytis cinerea</i>
Pas	<i>Plasmopara halstedii</i>
Gövde çürümesi	<i>Phomopsis helianthi</i>
Ayçiçeği pası	<i>Puccinia helianthi</i>
Phoma siyah gövde	<i>Phoma oleracea var. helianthi-tuberosi</i>

Adı geçen hastalıklara karşı dayanıklı ayçiçeği türlerinin geliştirilmesinde sorun uygun yabani türlerle yapılan çaprazlamalar ve gen aktarımı yollarıyla çözülmektedir. Birçok hastalık yüksek miktarda kimyasal ilaç kullanılarak yok edilmektedir. Ancak *Sclerotinia sclerotiorum* için etkili bir çözüm henüz geliştirilmemiştir (Hahne, 2001).

Rogers (1992)' e göre; *Orobanche cumana* Wallr. Akdeniz ülkelerinde ve Rus Cumhuriyetlerinde yüksek miktarda ürün kayıplarına neden olan bir bitki parazitidir.

Ayçiçeği türleri yüzlerce böcek türüne konaklık etmesine karşın bunların küçük bir kısmı yüksek derecede verim kayıplarına neden olmaktadır. Böceklerin yapmış olduğu sorun ayçiçeği ya toprak altındayken yada olgunlaşma safhasına geçerken meydana geldiği belirtilmektedir (Hahne, 2001).

### **1.2. Verem otu (*Orobanche spp.*)**

Musselman (1987) ile Joel ve Portnoy (1998)' in çalışmalarına göre *Striga*, *Alectra* (Scrophulariaceae) ve *Orobanche* (Orobanchaceae) gibi kök paraziti olan Angiosperm bitkiler konukçu bitkilerinde yıkıcı etki gösterirler. Tüm bu kök paraziti bitkiler, tohumlarının çimlenebilmesi için kimyasal uyarıcılara ihtiyaç duyarlar. Bu uyarıcı kimyasallar, konukçu veya konukçu olmayan bitkiler tarafından toprağa salıverilir (Reizelman-Lucascen, 2003). Parker ve Riches (1993)' e göre; çimlenmenin ardından Orobanş öncül gövdesini (procaulome) konukçu köklerine ulaştırır ve kök yüzeyine yapışır. Orobanş, konukçuya tutunduktan hemen sonra procaulome' un uç kısmından hostoryum (emeç) olarak adlandırılan konukçu köküne tutunmayı sağlayan yapı meydana gelir. Bu yapı konukçunun iletim sistemine yerleşir (Nun ve diğ., 2003; Zehhar ve diğ., 2003). Pres ve diğ. (1990) ve Butler (1995)' e göre; çiçekli parazit bitkiler gerekli olan su ve mineral ihtiyaçlarını konukçularıyla kurmuş oldukları özel birliktelik sayesinde karşılarlar. *Orobanche* cinsi zorunlu kök paraziti (holoparazit) olduğu için tüm besin ihtiyacını konukçusundan temin eder (Reizelman-Lucascen, 2003).

Linke ve diğ. (1989) ve Parker ve Riches (1993)' e göre; *Orobanche* genusu, Angiosperm bitki grubuna dahil Orobanchaceae familyasına aittir ve 100 tür ile temsil edilir (Labrouse ve diğ., 2004). Pamphilis ve Palmer (1990)' a göre; *Orobanche* genusuna ait türler yapraktan yoksundur. Bu bitkilerin kloroplast genomlarının yeniden düzenlemiş olması ve büyük bir oranda yok olmasından dolayı fotosentez kabiliyetleri bulunmamaktadır (Reizelman-Lucascen, 2003; Okazawa ve diğ., 2005).

Pamphilis ve Palmer (1990), Pamphilis ve diğ. (1997), Krause ve diğ. (2003), Wolfe ve Depamphilis (1997), Wolfe ve Depamphilis (1998) ve Wolfe ve diğ. (1992)' e göre; tam parazit bitkiler çok düşük fotosentetik aktiviteye sahiptirler. Bu bitki grubuna ait bitkiler konukçularını su, mineral ve indirgenmiş karbon kaynağı olarak kullanırlar. Fotosentetik olmayan tam parazit bitkilerde, fotosentezle ilgili olan genler ya inaktiftir yada plastid genomlarından elimine olmuşlardır (Okazawa ve diğ., 2005). Bu yüzden plastidler, kloroplastları oluşturamaz ve bitkiler ışığı asla fotosentez için kullanamazlar. Işık, yalnızca fotosentezde kullanılmamakta aynı zamanda çevresel sinyalleri fizyolojik ve morfolojik olarak düzenlemede görev almaktadır. Işık sinyal sisteminin bazı kısımları çimlenme veya çiçeklenme için de gerekli olabilmektedir. Bu konuların fotosentezle ilişkili olmamasına karşın hala incelenmesi devam etmektedir (Okazawa ve diğ., 2005).

Briggs ve Oley (2001)' e göre üç tip fotoreseptör vardır: fitokromlar (phys: kırmızı/kırmızı ötesi ışık reseptörü; 600-800nm), kriptokromlar (crys: mavi ışık reseptörleri; 400-500nm) ve fototropinler (mavi ışık reseptör tipi). Fitokrom ve kriptokromlar hem fotosentez hem fotosentezle ilişkili olmayan ışık yanıtlarında görevli oldukları düşünülmektedir. Chae ve diğ. (2004), fotosentetik olmayan tam parazit *O. minor* bitkisinin çimlenmesinde ışığın engelleyici rol oynadığını saptamıştır. Bu da, hala ışık sinyal sisteminin fotosentetik olmayan bitkilerde kendini koruduğunu göstermektedir. Lin ve Shalitin (2003)' e göre; crys' nin bitki büyüme gelişiminde düzenleyici etkisinin olduğu belirtilmektedir (Okazawa ve diğ., 2005).

### ***1.2.1. Orobanche cinsinin taksonomik özellikleri***

Üzerinde yaşadığı bitkinin bir veya çok yıllık oluşuna göre bir veya çok yıllık (iki veya çok yıllık olan türlerde ilk yıl hostoryum gelişir, çiçekli gövdesi ertesi yıl meydana gelir), salgı tüylü, otsu, klorofilsiz bitkilerdir. Çiçekler başak veya salkım durumunda, zigomorf tabanda 1 brakte, bazen 2 brakteol de bulunur, brakteoller kalikse tabanda birleşiktir. Kaliks 4-5 dişli veya iki yarıkla 2 parçalı, her parça tam



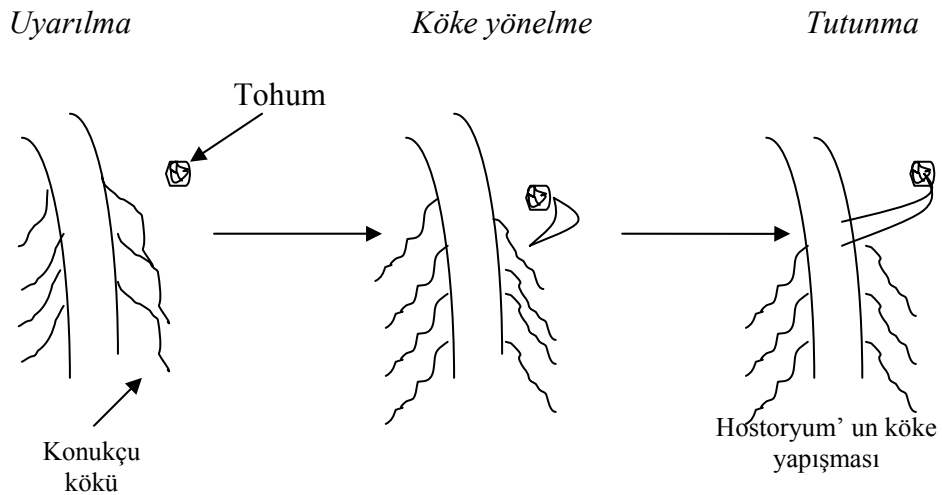
veya iki dişli. Korolla az çok kıvrık bir tüp veya çan şeklinde, iki dudaklı, üst dudak tam, emeginat veya iki loplul, alt dudak bariz üç loplul. Stamen 4, didinam, korolla túbüne çeşitli düzeylerde bağlı, hemen hemen korolla boyuna yakın bir boyda, filamentlerde tabanda geniş, tepeye doğru daralmış, anterler ovat, iki tekalı, tekalar tabanda yuvarlak, tepede sivrilmiş, bazen mukronat veya apikulat, çıplak veya çoğunlukla tabanda ve yarık boyunca yünsü tühlüdür. Polenler açık sarı renkte, taneler küre şeklinde, trikolpat, 21-36µ çapındadır. Ovaryum yumurtamsı veya küremsi şekilde, iki karpelli, tek gözlü, plasenta 4, stigma 2 loplul, disk veya ters koni şeklinde, çeşitli renklerde. Kapsül 2 valvli, bazen valvler stilüs tabanında birbirine bağlı kalır, kaliks meyva etrafında kalıcıdır. Tohumlar 0,3-0,5 mm çapında, çok sayıda, küt, yumurtamsı küremsi şekilde, üzeri bal peteği gibi çukurcuklu veya olukludur (Özhatay, 1973).

### **1.2.2. Yaşam Döngüsü**

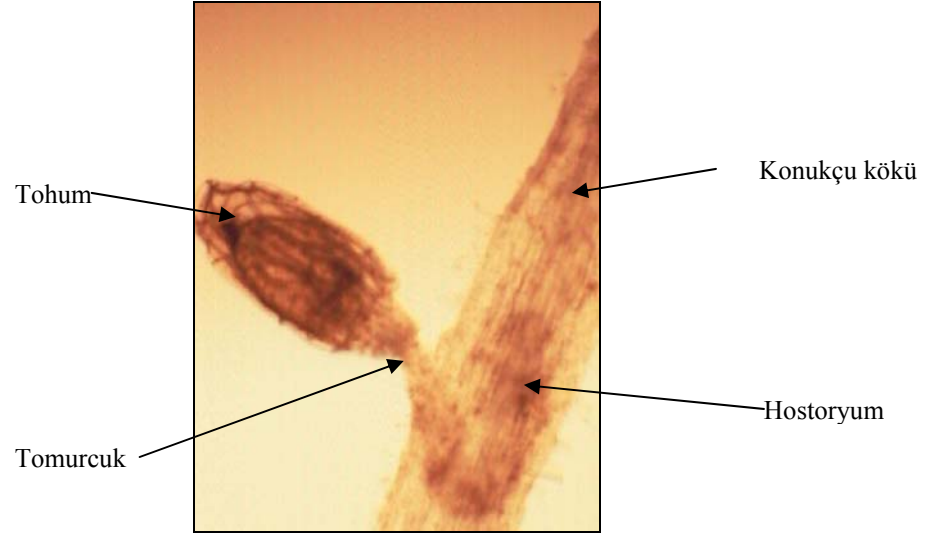
Zorunlu kök paraziti olan *Orobanche* spp. üzerinde yaşadığı bitkinin bir veya iki yıllık olmasına göre değişen bir yaşam şekline sahiptir (Özhatay, 1973). Worsham ve diğ. (1987)' göre, *Orobanche* cinsine ait bitkilerin tohumlarının çimlenmeden önce belli bir süre dormansi durumunda kalması gerekmektedir. Dormansinin ardından tohumların çimlenmesi için iki koşul gereklidir. Bunlardan ilki uzun süren nemli ortam, ikincisiyse çimlenmeyi uyaran ve konukçu veya konukçu olamayan türlerin köklerinden çıkan ekzogenik kimyasallardır. Lane ve Bailey (1992) ve Frost ve diğ. (1997)' e göre, çimlenmenin ardından germ tubü (konukçu köklerine en yakın olan kısım) konukçu köklerine doğru hareket eder ve hostoryum geliştirir (Şekil 1). Konukçu ile parazit arasında bir köprü görevi gören bu yapı, parazite gerekli olan su, mineral besinleri ve karbonhidratları konukçudan almasına yardımcı olur (Şekil 2 ve Şekil 3). Bu olay sonrasında konukçuda kuraklık stresi etkisi ve solma gözlenir. Duyarlı türlerde bu etkileşim neticesinde yaprak klorozisi, fotosentezin indirgenmesi ve yavaşlamış gövde büyümesi görülür. Tüm bu olayların sonucu olarak konukçu bitkinin tohum veriminde azalma görülür (Estabrook ve Yoder, 1993; Elzein ve Kroschel, 2003).

Maass (1999)' a göre, toprak altında çimlenme tetikleyicilerinin ulaşamadığı bölgede kalan parazit tohumları yaklaşık 15-20 yıl boyunca çimlenmeden kalabilmektedir. Bu parazit bitki ile ilgili yapılan kontrol çalışmalarında karşılaşılan en büyük zorluk, toprak altında çimlenmeden uzun süre saklı kalması ve binlerce sayıda olan tohum sayısıdır. Meydana gelen tohumlar rüzgar, su, hayvanlar, tarım makineleri ve zirai ürünlere yapışmış toprakla doğaya yayılmaktadır (Lu ve diğ., 2000; Elzein ve Kroschel, 2003).

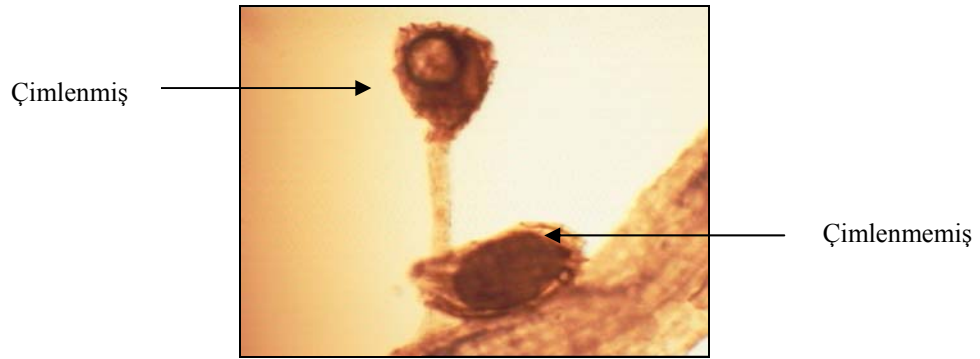
Maass (1999)' a göre, hostoryum hücrelerinin konukçu dokusu (ksilem ve/veya floem) içersine girmesi (penetrasyon) konukçu endodermal hücreler üzerinde mekanik bir baskı ve hidrolitik enzimler sayesinde gerçekleşmektedir. Kroschel (2001)' e göre, parazitin toprak altında süren gelişiminden haftalar sonra parazit toprak yüzeyine çıkar. Çok kısa süre içersinde çiçeklenir ve tohum oluşturur. Yalnızca bir bitki tarafından 100,000' den fazla tohum meydana getirilir. Oluşan bu tohumlar tarlaların bir sonraki sene tekrar *Orobanche* etkisi altında kalmasına neden olur (Elzein ve Kroschel, 2003.)



Şekil 1. Toprak altında *Orobanche* gelişimi.



Şekil 2. Ayçiçeği köküne yapışmış *O. cumana* Wallr. bitkisi ve kısımları.



Şekil 3. Çimlenmiş ve çimlenmemiş *O. cumana* Wallr. tohumları.

Bugün kültürü yapılan ve dayanıklı olduğu belirtilen ayçiçeği varyetelerinde bilinen tüm dayanıklılık genlerini ( $Or_1$ ,  $Or_2$ ,  $Or_3$ ,  $Or_4$  ve  $Or_5$ ) aşan bir F ırkının ortaya çıktığı belirtilmektedir. Daha önce tespit edilen ırklar ise A, B, C ve D olarak bilinmektedir. Pogorletsky ve Geshele (1975), Vranceanu ve diğ. (1980), Ish-Shalom-Gordon ve diğ. (1993) ve Sukno ve diğ., (1999)' e göre, F ırkının ortaya çıkışına kadar ayçiçeğinin *Orobanche* genusuna dayanıklılığın kalıtımı esasen monogenetik ve dominant olarak yapılmaktaydı (Akhtouch ve diğ., 2002).

### 1.2.3. Çimlenme Uyarıcıları

Parazit bitkiler çimlenebilmek için konukçu bitkilerin ya da etrafta bulunan konukçu olmayan bitkilerin köklerinden çıkan çimlenme uyarıcılara ihtiyaç duyarlar. Strigolakton olarak adlandırılan bu kimyasallar allelokimyasal grubuna dahildir ve (+)strigol (Şekil 6) (Cook ve diğ. 1966 ve Siame ve diğ. 1993), (+)sorgolakton (Şekil 7) (Hauck, 1992), alektrol (Şekil 4) (Müller ve diğ. 1992 ve Yokota ve diğ. 1998) ve orobanşol (Şekil 9) (Yokota ve diğ. 1998) olarak dört farklı formu mevcuttur. Doğal olarak bitkiler tarafından salınan bu kimyasalların yanında sentetik olarak üretilen bazı kimyasallar da aynı işlevi görmektedir (Tablo 2). Bu kimyasalların tümü strigolaktonlar olarak adlandırılmaktadırlar (Reizelman-Lucascen, 2003).

Tablo 2. Doğal çimlenme tetikleyicileri ve ilk defa izole edildiği bitki türleri.

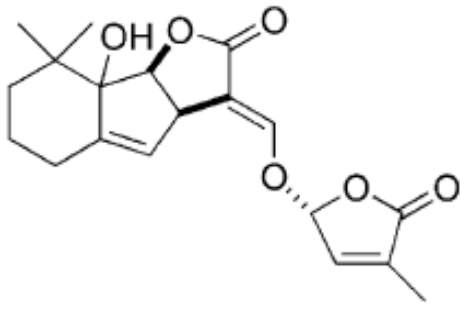
<b>Doğal Çimlenme Tetikleyicileri</b>	<b>İzole Edilen Bitki</b>	<b>İzole Eden Grup</b>
(+)strigol	<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Cook ve diğ., 1966.
(+)sorgolakton	<i>Sorghum bicolor</i> L. Moench	Hauck ve diğ., 1992.
Alektrol	<i>Vigna unguiculata</i> cv Saunders	Schildknecht ve diğ., 1992.
(+)orobanchol	<i>Trifolium pratense</i>	Yokoto ve diğ., 1998.

Strigolakton analoglarının sentezi ile ilgili olarak 1976 yılında ilk defa Johnson ve ark. tarafından bir çalışma yapılmış ve bunlara GR bileşikleri denmiştir. Bunlar GR24 (Şekil, 5), GR28, GR7 ve GR5' tir (Reizelman-Lucascen, 2003). Bu bileşiklere dihidroparteneloid (Luque ve diğ., 2000) ve Butler (1995) ve Wigchert ve Zwanenburg (1999)' a göre; dihidrosorgolon da eklenebilir (Bouwmeester, 2003).

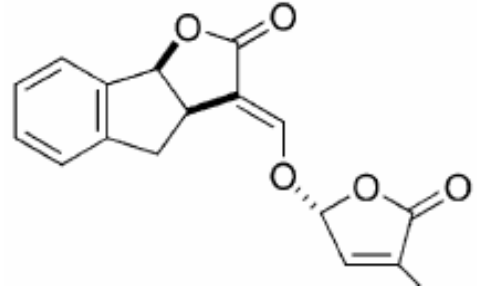
Bu kimyasallardan en yüksek çimlendirme potansiyeline sahip olan GR24' tür (Johnson ve diğ. ,1976; Thuring ve diğ., 1997; Wigchert ve diğ.,1999). Bu uyarıcı, dünya çapında yeni parazit ot uyarıcıların test edilmesi çalışmalarında en yaygın kullanıma sahiptir. GR24' ün yüksek miktarda kullanılmasının yeteri kadar ekonomik olmayışı geniş çapta kullanılmasına engeldir. Nefkens ve diğ. (1997)' e göre; Nijmegen-1, biyoaktivite için gerekli yapısal özellikleri içermek amaçlı olarak düzenlenmiş daha basit bir yapıya sahip bir bileşiktir (Reizelman-Lucascen, 2003).

#### ***1.2.4. Diğer Çimlenme Uyarıcıları***

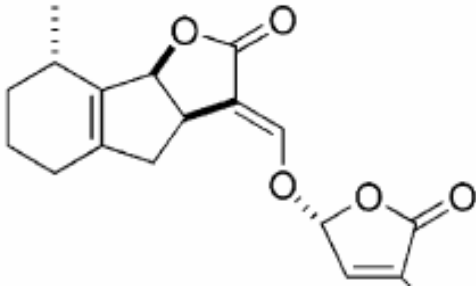
Fischer ve diğ. (1990), Logan ve Stewart (1995), Rugut ve Rugutt (1997), Yoneyama ve diğ. (1998a ve 1998b), *Orobanche* ve *Striga* cinsine ait parazit bitkilerin çimlenmesinde birçok yayında, sesquiterpen laktonlar (strigolaktonlar hariç), sitokininler, öksinler, gibberellinler, kotileninler, fusikoksinler ve jasmonatlar gibi doğal bileşiklerin de etkili oldukları rapor edilmektedir. Bu uyarıcıların etkisi ancak çok yüksek derişimde mümkün olabilmektedir. Ayrıca bu bileşiklerin çimlenmeyi uyarıcı derişimde çok kesin değildir. Sand ve diğ. (1990)' a göre; diğer bir uyarıcı bileşik ise bitki hormonu olan etilendir. Bu gaz *S. hermonthica* ve *S. asiatica* gibi parazit bitkilerin çimlenmesinde etkilidir. Chang ve diğ. (1986)' nin yaptıkları çalışmaya göre Sorghum köklerinden elde edilen dehidrosorgolon (SxSg)' un da çimlenme uyarıcısı olarak kullanılmaktadır. Çok kararsız bir yapıya sahip olmasından dolayı sorgolon oksidize olur. Bu bileşiğin, çimlenmede her hangi bir tetikleyici özelliği yoktur (Reizelman-Lucascen, 2003).



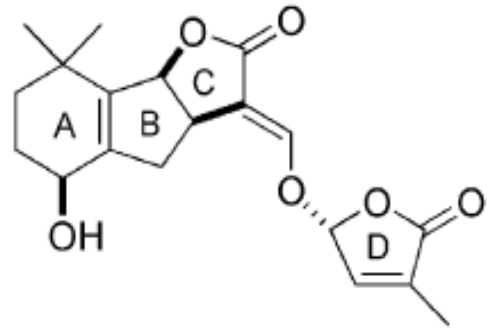
Şekil 4. Alektrol' ün kimyasal formülü.



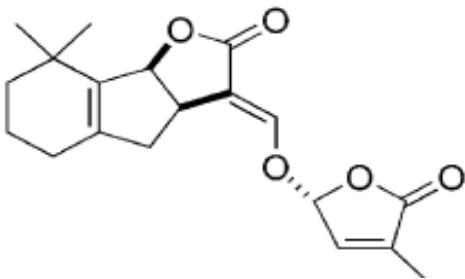
Şekil 5. GR 24' ün kimyasal formülü



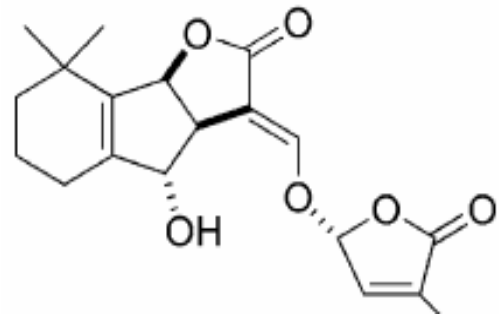
Şekil 6. Sorgolakton' un kimyasal formülü.



Şekil 7. Strigol' ün kimyasal formülü.



Şekil 8. Deoksistrigol' ün kimyasal formülü.



Şekil 9. Orobanşol' ün kimyasal formülü.



Şekil 10. GR 24 uygulandıktan bir hafta sonra *O. cumana* Wallr. tohumlarındaki çimlenme.

Orobanş ile mücadelede dayanıklı çeşitlerinin kullanılmasından sonra en etkili mücadele de, son yıllarda ruhsat alan İmazapic terkipli OROBAN ticari isimli ilacın ekimden sonra bitkinin 8-10 ve 14-16 yapraklı devrelerde iki defa uygulanması ile gerçekleşmektedir. Yapılan denemelerde bu kimyasalın % 100' e varan oranda etkili olduğu ortaya konulmuştur (Kaya, 2003).

Sanchez ve ark. (2002), [14C] promid, [14C] glifosat ve [14C] imazapyr kimyasallarının ayçiçeği ve *O. cumana* sisteminde emilimi ve taşınımı üzerine çalışmışlardır. Orobanş, herbisitleri toksik olmayan forma hızlı bir şekilde metabolize etme yeteneğinde olmadığı için Orobanşın kontrolünde Imazapyr kullanılmaktadır. Imazapyr' ın ayçiçeğinden Orobanş' a emilimi ve taşınımı glifosat' tan daha hızlıdır. Bu araştırma, tarla koşullarında Imazapyr ve glifosfatın *O. cumana* Wallr. parazitinin kontrolünde aynı etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur.

Orobanş kontrolünde toprağın fumigasyon işleminden geçirilmesinin çok pahalı olması ve sadece gelişmiş ülkelerde uygulanabilmesinden dolayı bu yöntem kullanışlı değildir. Bu yüzden son yıllarda klorosulfuron gibi sulfonyleureas' ların uygulanması tercih edilmektedir (Verkleij ve Kuijper, 2000).

### ***1.3. BİTKİ PARAZİT İLİŞKİLERİ***

Baker ve diğ. (1997)' e göre, bitkiler yaşadıkları birçok organizma ile etkileşim içerisinde. Bu etkileşimlerin bazıları yararlı olabileceği gibi bazıları da zararlı olabilir. Bu olayların büyük bir kısmı toprak altında gerçekleştiği için farkına varılmaz. 1 g toprak içerisinde  $10^6$  aktinomiset,  $10^9$  bakteri,  $10^5$  fungi olduğu bilindiğinden olayın ne kadar karmaşık olduğu anlaşılmaktadır. Bitkiler yaşadıkları bu ortamda çevresindeki organizmalara karşı pasif değildirler. Kök salgıları sayesinde bu saldırılara karşı kendilerini koruma altına alırlar. Fotosentez sonucu oluşan bileşiklerin yaklaşık olarak % 23' lük bir kısmı kökler tarafından rizosfere salıverilir. Bunlarla birlikte fenolik bileşiklerin büyük bir kısmında toprağa verilir. Bu bileşikler çevrelerinde bulunan diğer bitkileri ve mikroorganizmaları etkiler. Çok düşük seviyedeki diğer sinyal molekülleri ise köklere karşı olan saldırıları uzaklaştırmada veya engellemede görevlidirler (Estabrook ve Yoder, 1998).

Castillo (1992)' ya göre, patojen enfeksiyonuna karşı korunmada bitki hastalıklarında dayanıklılık için birçok mekanizma mevcuttur. Bu savunma mekanizmaları patojen enfeksiyonu ile aktive olan savunma ile ilişkili enzimlerin uyarılmasını içeren öncü mevcut fiziksel ve kimyasal bariyerlerdir (Shivakumar ve diğ., 2003). Lamb ve diğ. (1989), Hammond-Kosack ve Jones (1986)' a göre, patojen girişlerine karşı bitkilerde yanıt olarak bazı genlerin ifadesi tetiklenmektedir. Bu genler, savunma ile ilgili bazı proteinlerin kodlanmasıyla görevlidirler. Bitkilerde savunmayla ilgili olarak fitoaleksinlerin sentezi, reaktif oksijen türlerinin oluşumu, PR proteinlerinin ve destek yapıların üretimi, hücre duvarlarının üretimi veya HR düzenlenmesi gerçekleşmektedir. Lamb ve diğ. (1989) ve Cramer ve diğ. (1993)' e göre, bu genler her zaman için patojenlerin saldırısı ile ifade bulmadıklarından dolayı "savunmayla ilişkili" olarak adlandırılmaktadırlar. Savunma yanıtlarındaki sinyal mekanizması henüz tam olarak anlaşılmamaktadır. (Westwood ve diğ., 1998).



Patojenlere karşı bitkilerin vermiş olduğu hızlı yanıtlar şu şekilde gerçekleşir: (a) Kalloz sentaz öncüllerinin aktivasyonu, (b) sitozolik  $Ca^{++}$  iyon miktarında artış, (c) oksidatif patlama (Doke (1983), Atkinson ve diğ. (1990) ve Köhle ve diğ. (1985)'e göre Alvarez ve Lamb (1997)). Kepler ve diğ. (1989), Peng ve Kuc (1992) ve Legendre ve diğ. (1993)' e göre; oksidatif patlama sırasında  $H_2O_2$ ' in birikimi doğrudan antimikrobiyal etkiyle değil, Bradley ve diğ. (1992) ve Briston ve diğ. (1994)' e göre; aynı zamanda hücre duvarı proteinlerinin ve olası polimerlerinin oksidatif çapraz bağlanmasının devamı veya Levine ve diğ. (1994)' e göre; hipersensitif hücre ölümleri ile gerçekleşir. Daha sonra ki savunma yanıtları ise, fitoaleksinlerin biyosentezi, lignin ve lignin polimerlerinin (hücre duvarı yapısal proteinleri gibi) patojenezisle ilişkili proteinlerin (PR) birikimidir (Van Loon ve Antoniw (1982), Hahlbrock ve Scheel (1989), Dixon ve Lamb (1990) ve Ward ve diğ. (1991)'e göre Alvarez ve Lamb (1997)). HR' ta patojenin penetre olduğu bölgenin etrafındaki hücrelerde fitoaleksinlerin biyosentezi ve programlanmış hücre ölümlerinin aktivasyonundan önce patojenezisle ilgili olan proteinleri kodlayan genler aktif duruma geçer. HR' ta reaktif oksijen türlerinin oluşumu anahtar işlevi görmektedir. Burada HR' ı aydınlatmak için bir çok enzimatik sistemin görevli olduğu bilinmektedir (Gara ve diğ., 2003). White (1979), Malamy ve diğ. (1990), Metraux ve diğ. (1990), Chen ve diğ. (1993b) ve Levine ve diğ. (1994)' e göre; hipersensitif yanıtların gelişimi SAR' ın (sistemik uyarılmış dayanıklılık) yavaş yavaş düzenlenmesini de yönlendirir. SAR, uzun süreli olarak bitki için zararlı olan patojenlere karşı geniş spektrumlu bir bağışıklığı sağlar. Salisilik asit (SA) ve  $H_2O_2$  çok küçük yapıdaki metabolitlerdir. Bu moleküller hem HR hem de SAR mekanizmalarında fizyolojik görevlere sahiptir.  $H_2O_2$ , bitki savunma mekanizmasında ara sinyal molekülü olarak görünmektedir. Bu molekül savunma gen ifadesinin ve hipersensitif hücre ölümünün aktivasyonunu ve bağışıklığı yönlendiren programları da tetikler (Alvarez ve Lamb, 1997).



*Orobanche cernua* Loefl.

Şekil 11. Tarlada enfekte olmuş PIONEER 4223 ayçiçeği varyetesi ait bitkiler.

### **1.3.1. Bitki Parazit İlişkisinde Antioksidatif Savunma**

Elstner (1982), Fridovich (1974) ve Scandalios (1993)' e göre, dünya atmosferinde oksijenin birikimi, son elektron alıcısı olarak oksijeni kullanan, böylece fermentasyon ve anaerobik solunumla karşılaştırıldığında daha fazla enerji elde eden aerobik organizmaların evrimine olanak sağlamıştır. Moleküler oksijen temel olarak zararsız olmasına karşın toksik etkiler de oluşturabilmektedir. Oksijenin aerobik canlılar için toksik etkisini, serbest radikaller ve bunların türevleri oluşturmaktadır. Bitkilerde uyarma enerjisi olarak oksijene transfer edilen bir elektron, singlet oksijen ( $^1O_2$ ) oluşumuna neden olmaktadır. Aerobik organizmalarda, bir molekül oksijenin tümüyle indirgenebilmesi için dört elektrona ihtiyaç vardır. Univalent basamaklarla indirgenmiş dioksijenin reaktif türleri; süperoksit radikali ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidrojenperoksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^{\bullet}$ )' dir (Scandalios, 1997; Acar, 1999). Edreva (2005), reaktif oksijen türlerini (ROT) serbest radikal [ $O_2^{\bullet-}$ ,  $OH^{\bullet}$  ve  $HO_2^{\bullet}$  (hidroperoksil radikali)] ve serbest olmayan radikal [ $^1O_2$  (singlet oksijen) ve  $H_2O_2$ ] formlar şeklinde ayırma gitmiştir. Scandalios (1993), McAinsh ve diğ.(1996) ve Bowler ve diğ. (1992)' e göre, reaktif oksijen türleri; lipit peroksidasyonuna, proteinlerin denatürasyonuna ve DNA' nın mutasyonuna neden olarak aerobik organizmaları bu tip zararlı etkilere karşı fizyolojik mücadeleye zorlanmaktadır. Tüm bu olayların meydana getirdiği

karişiklik ve beraberinde ortaya çıkan zararlı etkiler “**oksidatif stres**” olarak tanımlanmaktadır (Scandalios, 1997; Acar, 1999; Edreva 2005).

Larson (1988)’ a göre, antioksidatif savunma sistemi ROT’ nin zehir etkisini engellemek için yüksek seviyede etkili olan ve seçici baskı ve evrim yardımıyla oluşmuştur. Bu sistem, enzimatik ve enzimatik olmayan unsurları içeren bir bütünden ibarettir. Enzimatik olmayan antioksidanlar genellikle çok küçük yapıli molekülledir. Bitkilerde yer alan bu moleküllere örnek olarak tripeptid glutasyon, sistein, hidrokinonlar, askorbat (vitamin C), lipofilik antioksidan  $\alpha$ -tokoferol, flavonoidler, karotenoid pigmentleri, alkaloidler ve çeşitli bitki bileşikleri verilmektedir. Enzimatik antioksidanlar, ROT’ nin taşınması, nötralize edilmesi ve süpürülmesi gibi işlevleri yerine getirebilme kabiliyetine sahiptirler. Bu savunma sistemleri olmaksızın bitkiler güneş ışınlarının enerjisini kimyasal enerjiye çevirmede yeteri kadar etkili olamazlar (Scandalios, 1997).

$H_2O_2$ ’ in süpürülmesi; kloroplastlarda askorbat peroksidaz, mitokondride ise glutasyon redüktaz tarafından başarılmaktadır (Foyer ve Halliwell, 1976); katalazlar ve peroksidazlar da  $H_2O_2$ ’ i etkili bir şekilde taşır (Scandalios, 1994); süperoksit dismütazlar ise süperoksit anyonu’ nu süpürürler (Scandalios, 1993). Bu enzimler arasında en etkili çalışanlar katalazlar ve süperoksit dismütazlardır. Bu iki enzim birlikte potansiyel olarak tehlikeli olan  $O_2^{\cdot-}$  ve  $H_2O_2$ ’ i su ve moleküler oksijene çevirir (Tablo 3). Böylelikle hücrel hasar engellenmiş olur (Scandalios, 1997).

Matheson ve diğ. (1975) ve Fridovich (1995)’ e göre; Talo 3’ de belirtilen 2. ve 4. reaksiyonlarda SOD ve CAT, tüm makro moleküllerle rasgele reaksiyona girebilen yüksek reaktif özellik gösteren  $OH^{\cdot}$ ’ in etkisini azaltmak için birbirleriyle ortaklaşa çalışır (Scandalios, 1997).

Tablo 3. SOD (1-2) ve CAT (3-4)' in ortaklaşa gerçekleştirmiş oldukları reaksiyonlar.

Meydana gelen Reaksiyonlar	
1	$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot -}$
2	$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$ (SOD, $K_2= 2,4 \times 10^9 M^{-1} S^{-1}$ )
3	$H_2O_2 + O_2^{\cdot -} \longrightarrow OH^- + OH^\cdot + O_2$
4	$H_2O_2 + H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$ (CAT, $K_1= 1,7 \times 10^7 M^{-1} S^{-1}$ )

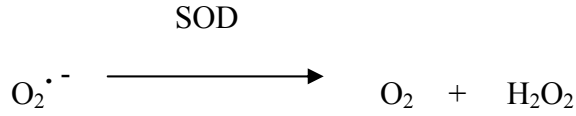
Cagno ve diğ. (2001), Noctor ve Foyer (1998) ve Tommasi ve diğ. (2001)' e göre, bitki hücrelerinde ROT' nin detoksifikasyon işlemi sırasında enzim ve redoks metabolitleri sinerjistik bir şekilde çalışmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD; EC.1.15.1.1), süperoksit radikali ( $O_2^{\cdot -}$ )' nin hidrojenperoksit ( $H_2O_2$ )' e dismutasyonundan sorumludur. Oluşan  $H_2O_2$ , Katalaz (CAT; E.C.1.11.1.6) tarafından  $H_2O$  ve oksijene dönüştürülür. Bitkilerde bu savunma mekanizmasında görev alan ve gerekli durumlarda bitkiyi korumak üzere sentezlenen ve savunma mekanizmasının işleyişinde etkin olarak yer alan öncül enzimlerden biri de peroksidaz' dır (POD; E.C.1.11.1.7) (Gara ve diğ., 2003). Askorbat peroksidaz (APX; E.C.1.11.1.11), özel elektron vericisi olarak askorbat metabolitini kullanarak  $H_2O_2$ ' i suya indirger. Scandalios (1993) ve Çakmak (1994)' göre, SOD, dismutasyon reaksiyonu ile süperoksiti hidrojen peroksit ve  $O_2$ ' ye katalizler. APX' da burada oluşan hidrojen peroksiti suya indirgeyerek detoksifiye eder. APX' un reaksiyon ürünü olan MDAsA (monodehidroaskorbat) veya DHAsA (dehidroaskorbat)' tan, indirgenmiş AsA (askorbat) oluşur. İndirgenmiş AsA, NADH – bağlı MDAsA–redüktaz ya da GSH–bağlı DHAsA–redüktazdan birisiyle glutasyon redüktaza bağlanır (Acar, 1999). Hücrelerdeki SOD, APX veya CAT aktiviteleri arasındaki denge  $O_2^{\cdot -}$  ve  $H_2O_2$ ' in durağan seviyesini saptamak için çok önemlidir.



Yukarıda bahsedilen Orobanş parazitliliğiyle ilgili mekanizmaların ne şekilde engellenebileceği hakkındaki araştırmalara ise son yıllarda uluslararası literatürde sıkça rastlanmaya başlamıştır. Bu araştırmalardan birinde, kökleri *O. cumana* paraziti ile istila edilmiş ve 5 mg/saksı BTH (1,2,3-Benzotiazol-7-karbotiyolik asit S-metil ester) uygulanan ayçiçeği bitkilerinde toplam *O. cumana* sayısının % 87 azaldığı ancak konsantrasyonun 10 mg/saksıya çıkarıldığında çiçek tablasının kuru ağırlığında bir gerileme olduğu, 3 mg/saksı DCINA (Dikloro-İzonikotinik Asit) uygulanan ayçiçeği türlerinde ise bu azalmanın % 65,5 olarak gerçekleştiği, 10 mg/saksı DCINA uygulananlarda ise % 100' lük bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Fakat konsantrasyon arttıkça ayçiçeği tablasının gelişmesinde tamamen bir gerileme olduğu da saptanmıştır (Fan ve diğ., 2003). Bir başka araştırmada ise, *O. ramosa* ve *O. cumana* tohumlarının -çimlenme evresinde- salgıladıkları IAA (indol-3-asetik asit) seviyeleri üzerinde çalışılmıştır. Buna göre, hem *O. ramosa* hem de *O. cumana* tohumlarının çimlenme için konukçunun salgıladığı eksüdatlara ihtiyaç duydukları ve konukçu tarafından eksüdatlar salgılandığında Orobanş tohumları çevresindeki sıvıya IAA salgılandığı saptanmıştır. Ancak, Orobanş tohumları yalnızca su içerisinde çimlendirildiklerinde tohumların etrafında bulunan sıvıdaki IAA seviyesi çok düşük bulunmuştur. Aynı araştırmada, ABA (Absisik Asit) seviyesinin çimlenme süresince herhangi bir değişikliğe uğramadığı ve *O. ramosa* ile *O. cumana* karşılaştırıldığında ise *O. ramosa*'nın daha fazla IAA salgıladığı saptanmıştır (Slavov ve diğ., 2004). Levin (2004) tarafından önerilen hipotezde, *O. aegyptiaca* bitkilerinin *A. thaliana* bitkilerine penetrasyon sırasında konukçunun savunma mekanizmasını etkili bir şekilde nasıl kırdığı açıklamaya çalışmıştır. Enfeksiyonun erken safhasında süperoksit ve hidrojenperoksit üretiminin tüber oluşumuna kadar çok yüksek seviyede olmadığı saptanmıştır.

**1.3.1.1. Süperoksit Dismütaz (SOD; E.C.1.15.1.1).** Mann ve Keilin (1938)' e göre; SOD (E.C.1.15.1.1), ilk olarak çeşitli hayvan organlarından yeşil bakır proteini olarak izole edilmiş ve bu proteinin bakır deposu olduğuna inanılmıştır. Bu enzimi aynı zamanda eritrocuprein, indofenol oksidaz ve tetrozolum oksidaz gibi farklı isimler altında bilinmekteydi. McCord ve Fridovich (1969)' in bu enzimleri keşfine kadar ise katalitik etkileri bilinmemekteydi (Scandalios, 1997).

Fridovich (1986), Scandalios (1993) ve Edreva (1998)' e göre, SOD, prostetik grup olarak transit metalleri içeren bir antioksidant enzimdir. Metal iyonlarına göre 3 çeşit SOD izozimi görülmektedir. Cu/Zn SOD, Mn SOD ve Fe SOD' tur. (Bowler ve diğ. (1992)' e göre, Cu/Zn SOD siyanüre duyarlıdır. SOD, bir serbest radikal olarak bilinen süperoksit anyonunun dismutasyonu olarak adlandırılan reaksiyonu katalizler.



Bu reaksiyon sayesinde SOD, hücrenin serbest radikal havuzunun düzenlenmesine dahil olmaktadır. Fe-SOD kloroplastlara, Mn-SOD mitokondrilere ve peroksizomlara, Cu/Zn SOD ise kloroplast, sitosol ve olasılıkla ekstraselüler yüzeylere yerleşmiş durumdadır (Acar, 1999). Youn ve diğ. (1996)' a göre, yukarıda adı geçen izozimlerden tamamen bağımsız Ni-SOD' ın birçok *Streptomyces* türünde sentezlendiği belirtilmektedir (Miller, 2004). Fee (1991) ve Amanatidou ve diğ. (2001)' e göre, dört tip formun tümünün ortologları fotosentetik organizmalarda bulunmaktadır (Wolfe-Simon ve diğ., 2005).

**1.3.1.2. Peroksidaz (POD; E.C.1.11.1.7).** Castillo (1992)' e göre, peroksidazların bitki patojen etkileşimlerinde çoklu/anahtar rolleri mevcuttur. Bunlar birçok bitki savunma mekanizmasına katılmaktadır. Bitkilerde bu savunma mekanizmasında görev alan ve gerekli durumlarda bitkiyi korumak üzere sentezlenen enzimlerden savunma mekanizmasının işleyişinde etkin olarak yer alan öncül enzimlerden biri de peroksidaz' dır (POD; E.C.1.11.1.7) (Gara ve diğ., 2003). Moerschbacher (1992)' e göre, bu savunma mekanizmalarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, oksidatif patlama sonucu oluşur ve bu patlama genellikle savunma yanıtı olarak bilinmektedir. Peroksidazlar aynı zamanda Bestwick (1998)' e göre, hipersensitif yanıtta, Quiroga ve diğ. (2000)' e göre ise, lignin biyosentezi, etilen oluşumu ve süberizasyona katılmaktadır (Shivakumar ve diğ., 2003).

Bu araştırmada ülkemizde kültürü yapılan ve orobanşa toleranslı olduğu bilinen *H. annuus* cv. ‘PIONEER 4223’, duyarlı olduğu belirtilen *H. annuus* cv. ‘ISERA’ ve ilaçlı mücadele ile dayanıklı olduğu belirtilen *H. annuus* cv. ‘SANAY’ fidelerinin köklerinde zorunlu kök paraziti olan *Orobanche cumana* Wallr. istilasını sonucunda reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinde sorumlu olan enzimlerden SOD [E.C.1.15.1.1] ve POD [E.C.1.11.1.7] aktivitelerinde meydana gelen değişiklikler saptanmıştır. Literatürde Ayçiçeği – *Orobanche cumana* Wallr. ilişkisinde toplam SOD aktivitelerine ilişkin bir bilgi mevcut değildir. Ayrıca POD aktiviteleri bakımından gerçekleştirilen analizler araştırmamızda kullandığımız *H. annuus* L. varyeteleri açısından değerlendirildiğinde zgn niteliktedir.



## BÖLÜM 2- MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. BİTKİ MATERYALİ

Araştırmada, ayçiçeğinin geniş ölçüde tarımı yapılan ve firmalar tarafından *Orobanche* sp. parazitine dayanıklılığı ve duyarlılığı belirtilen hibrit varyeteleri kullanılmıştır. Bu amaçla denemelerde, bilinen *Orobanche* sp. ırklarına karşı toleranslı olduğu ifade edilen *H. annuus* cv. 'PIONEER 4223', duyarlı olduğu belirtilen *H. annuus* cv. 'ISERA' ve ilaçlı mücadele ile dayanıklı olduğu belirtilen *H. annuus* cv. 'SANAY' hibrit tohumları kullanılmıştır.

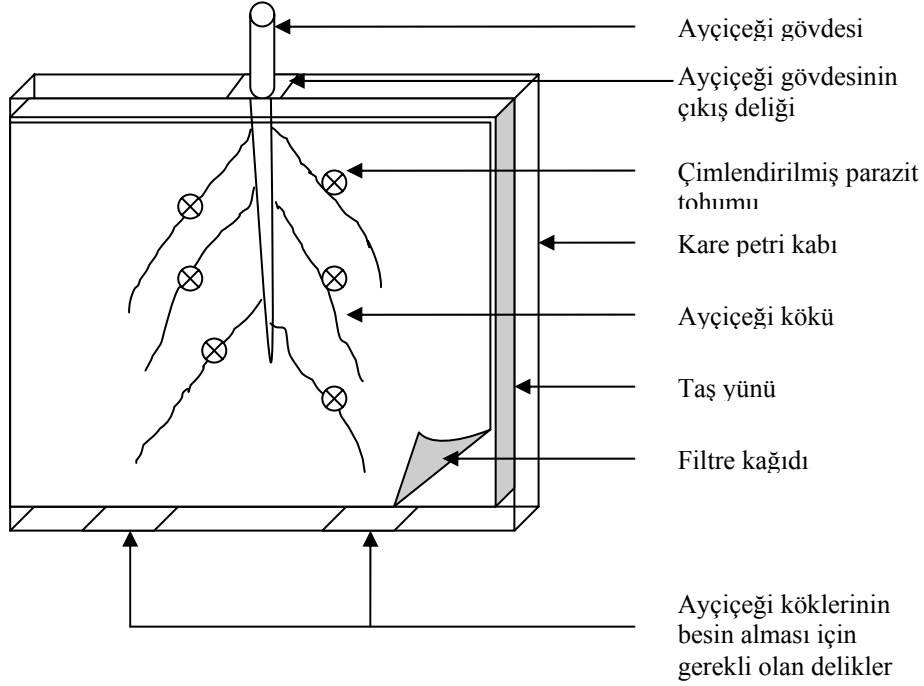
Zorunlu kök paraziti olan *Orobanche cumana* Wallr. tohumları Eylül 2004'te Tekirdağ' ın Hayrabolu ilçesindeki ileri seviyede enfekte olmuş ayçiçeği tarlasından toplanmıştır. Toplanan tohumlar deneme kuruluncaya kadar serin ve karanlık bir ortamda saklanmıştır.

### 2.2. YÖNTEM

#### 2.2.1. *O. cumana* Wallr. ve Ayçiçeği Bitkilerinin Su Kültürü Yöntemiyle Yetiştirilmesi

Yapılan çalışmanın bitki yetiştirme düzeneği Labrousse ve diğ. (2004)' ne göre yapılmıştır. Buna göre ilk aşama ayçiçeği tohumlarının yüzey sterilizasyonudur. Ayçiçeği tohumları % 50' lik sodyum hipoklorit çözeltisi içerisinde 20 dakika bırakılmış ve daha sonra tohumlar 3 kez 30 sn. süreyle saf sudan geçirilmiştir. Yüzey sterilizasyonu işleminden sonra ayçiçeği tohumları içerisinde perlit bulunan kaplara ekilmiştir (25±3/22±3 °C, gündüz/gece). Ekim işleminden bir hafta sonra ayçiçeği fideleri kökleri saf su ile yıkandıktan sonra plastik kare petri kaplarına (120x120x17 mm, Greiner) uygun şekilde yerleştirilmişlerdir (Şekil 13). Ayçiçeği fideleri bundan sonra Hoagland Besin çözeltisi (% 100) (Steward, 1983)

içeren plastik kaplara yerleştirilerek bir hafta süresince yetiştirilmiştir (25±3/22±3 °C gündüz/gece, 16/8 saatlik fotoperiyot).



Şekil 13. Su kültüründe *O. cumana* Wallr. ve *H. annuus* L. birlikteliğinin şematik olarak gösterimi.

*Orobancha cumana* Wallr. tohumları yüzey sterilizasyonu için 5 dakika % 3,61' lik sodyum hipokloritle muamele edilmiş, ardından tohumlar 30 saniyelik 3 kez ve 5 dakikalık 3 kez olmak üzere steril saf suyla yıkanmıştır. Tohumlarının çimlenebilmesi için daha önceden nemlendirilmiş filtre kağıdı içeren steril petri kaplarına alınmış ve 28 °C ye ayarlanmış büyüme kabini içerisinde alüminyum folyo ile kaplanmış bir şekilde bir hafta bırakılmıştır. Bir haftanın sonunda çimlenme uyarıcı olarak kullanılan 1ppm' lik 1,2 mL GR-24 petri kaplarına ilave edilmiştir. Dört gün sonra çimlenen *O. cumana* Wallr. tohumları bir haftalık ayçiçeği fidelerinin köklerine penetre\* edilmiş ve bu durum deneme sonuna kadar korunmuştur (25±3/22±3 °C gündüz/gece, 16/8 saatlik fotoperiyot). Hoagland besin çözeltisi 4 günde bir, bitki başına 200 mL olmak koşuluyla değiştirilmiştir.

\* *Orobancha* sp. tohumlarının çimlenmesinden sonra tomurcuğun konukçunun köklerine doğru yönelip yapışması olayı.



Şekil 14. Ayçiçeği fidelerinin su kültürüne alındığı ilk gün.



Şekil 15. Ayçiçeği fidelerine *O. cumana* Wallr. tohumlarının penetre edildiği gün.

Ayçiçeği kök örneklemeleri penetrasyondan sonra 1., 3., 5., 7. ve 9. günde yapılmıştır. Örnekler alüminyum folyoya sarılarak  $-26^{\circ}\text{C}$ ' de özütlemenin

gerçekleştirileceği zamana kadar saklanmıştır. Deneme üç bağımsız tekrarlar gerçekleştirilmiştir.

Yukarıda verilen tarla ve laboratuvar fotoğrafları deneme süresi içerisinde çekilmiştir.

## **2.2.2. Antioksidan Aktivitelerin Belirlenmesi**

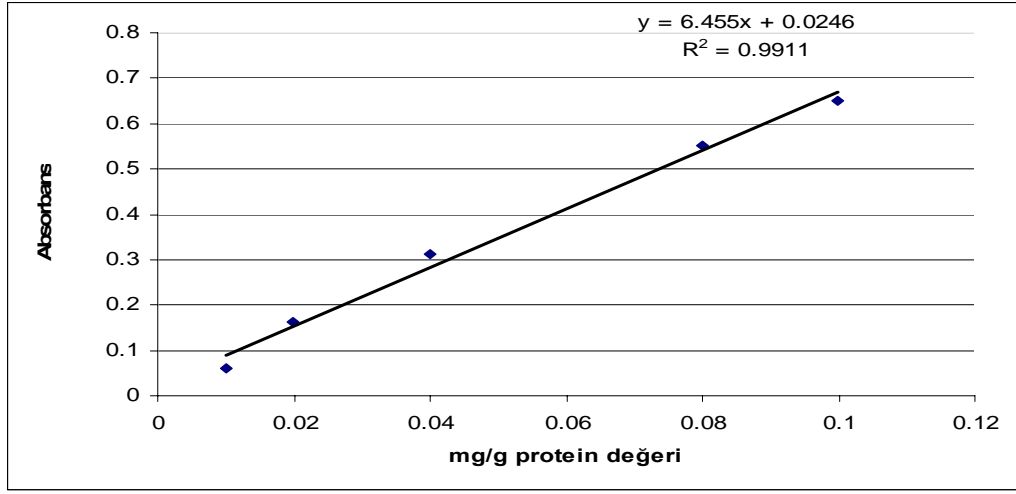
### **2.2.2.1. Toplam Protein Analizi**

**2.2.2.1.1 Reaktif Hazırlanması.** 50 mg Coomassie Brilliant Blue G-250, 25 mL % 95' lik etanolde çözülür. Daha sonra 50 mL orto fosforik asit eklenir. Son hacim saf suyla 500 mL' ye tamamlanır. Çözelti filtre kağıdıyla süzülerek kullanıma hazırlanmış olur.

**2.2.2.1.2 Protein Standardının Hazırlanması:** Ayçiçeği köklerinin protein içeriği Bradford (1976)' a göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre stok çözelti Bovine Serum Albumin (BSA)' den hazırlanır. Bu amaçla % 50 seyreltilmiş 2 mg/mL' lik stok ampul BSA' dan 0,01 mg/mL, 0,02 mg/mL, 0,04 mg/mL, 0,08 mg/mL ve 0,10 mg/mL alınarak deney tüplerine aktarılır. Hacim 100 µL oluncaya kadar sodyum fosfat tamponu ilave edilir. Deney tüplerinin üzerine 5' er mL Coomassie Brilliant Blue G-250 eklenir. Karışım vortekslelendikten 5 dakika sonra spektrofotometrede 595 nm' de köre karşı okunur. Okunan absorbans değerlerinden protein standart grafiği oluşturulur (Şekil 16).

#### Protein standardı oluşturma düzeneği

<b>Tüp no</b>	<b>BSA</b>	<b>Tampon çözelti</b>	<b>Reaktif</b>
1.	0,01 mg/mL	90 µl	5 ml
2.	0,02 mg/mL	80 µl	5 ml
3.	0,04 mg/mL	60 µl	5 ml
4.	0,08 mg/mL	20 µl	5 ml
5.	0,10 mg/mL	0 µl	5 ml



Şekil 6. Protein standartı grafiği.

### 2.2.3. Uygulama

100 µl supernatant ve 5 ml reaktif ile karıştırılır. Karışım vortekslendikten 5 dakika sonra ortaya çıkan renk köre karşı 595 nm’ de spektrofotometre’ de okunur ve okuma işlemi 60 dk. içerisinde bitirilir. Okunan Absorbans değerleri BSA standart grafiğinde (0-1000 µg/ml aralığında) yerine konarak ayçiçeği köklerinin protein içeriği belirlenmiştir.

SOD ve POD için yapılan protein analizleri içerisinde kullanılan tampon çözeltilerin farklı olmasından dolayı iki farklı özütleme işleminin yapılması gerekmiştir.

#### 2.2.3.1 Süperoksit Dismütaz [SOD; E.C. 1.15.1.1] Aktivitesinin Belirlenmesi.

SOD aktivitesinin belirlenmesi Beauchamp ve Fridovich (1971) ve Giannopolities ve Ries , (1977)’ e göre gerçekleştirilmiştir.

**2.2.3.1.1 Reaksiyon karışımı.** 1mM EDTA.Na<sub>2</sub> içeren 0,05 M sodyum fosfat tamponu (pH: 7,8), 0,1 M L-Metiyonin, 0,01 M EDTA.Na<sub>2</sub>, 1 mM NBT (Nitroblue Tetrazolium) ve 0,2 mM Riboflavin içermektedir (Edreva, 1999).

**2.2.3.1.2 Özütün Hazırlanması.** Taze bitki materyali (1 g), 3 ml 1 mM EDTA içeren 0,05 mM sodyum fosfat tamponu (pH:7,8) ile homojenize edilir. Bu işlemden sonra özüt +4 °C' de 13.000 rpm' de 15 dk. santrifüjlenir. Bu şekilde elde edilen süpernatant SOD aktivitesi ve toplam protein içeriğinin belirlenmesinde kullanılır.

Hazırlanan örnekler oda sıcaklığında 300 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık yoğunluğunda 10 dk. süreyle ışıklandırılmıştır. Ölçümler 560 nm' de Shimadzu UV 1600 marka spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir.

**2.2.3.1.3 Hesaplama.** SOD'un 1 unit'i; 1mg proteinde ortaya çıkan foto redüksiyonun % 50 indirgenmesi olarak saptanmıştır.

### **2.2.3.2 Peroksidaz [POD; E.C. 1.11.1.7] Aktivitesinin Belirlenmesi.**

Peroksidaz [E.C.1.11.1.7] aktivitesinin spektrofotometrik ölçümlerinde Kanner ve Kinsella (1983)' nın metodu kullanılmıştır. Reaksiyon karışımında sodyum asetat tamponu (pH:6,5), 0,1 M Pyrogallol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve değişen miktarlarda yaprak homojenatı (40-160 µl) kullanılmıştır. Analiz için belirlenen oranda bitki örneği reaksiyon karışımına alındıktan sonra son hacim 4 mL' ye tamamlanır. Hazırlanan kör çözelti içerisinde bitki örneği hariç tüm kimyasal maddeler mevcuttur. Bu çözelti spektrofotometre' de sıfırlama işlemi için kullanılır. Ölçümlerin yapıldığı spektrofotometre iki küvetli çalışma kapasitesindedir. Yapılan kinetik enzim ölçümleri için 2 adet kör çözelti hazırlanır. Bu sıfırlama işleminin ardından örneğin bulunduğu küvet kuyucuğa yerleştirilir. Ölçüm yapılacak olan küvet içerisinde ise

sodyum asetat tamponu, pyrogallol ve bitki örneği bulunur. Hidrojen peroksit kuvet kuyucuğa yerleştirildikten sonra reaksiyon karışımına ilave edilir ve reaksiyon başlatılmış olur. Yapılan ölçümler 0-120 sn arasında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon hidrojen peroksit kuvete konduğu gibi başladığından dolayı ölçüm hemen yapılmalıdır.

#### **2.2.3.2.1. Reaksiyon Karışımı**

**2.2.3.2.1.1. Sodyum Asetat Tamponu.** 1,7 g NaOAc erlen içersinde üzerinde 250 mL saf su ilave edilerek çözülür. Daha sonra pH' sı 6,2-6,5 olacak şekilde 0,1 M HCl ve 0,5 M NaOH çözeltileri ile ayarlanır. Bu şekilde ayarlanan tampon bir haftayı aşmamak koşulu ile buzdolabında saklanabilir.

**2.2.3.2.1.2. Pyrogallol Çözeltisi.** 1,2611 g Pyrogallol (MA:126,11g/mol) toplam hacim 100 mL (0,1M) olana kadar saf su ile tamamlanır.

**2.2.3.2.1.3. Hidrojen Peroksit Çözeltisi.** 9 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> son hacim 100 ml (90mM) olacak şekilde saf su ile tamamlanır.

**2.2.3.2.2. Özütün Hazırlanması.** Her bitki kökünden 0,1 g örnekleme yapılır. Kökler +4 °C' ye soğutulmuş porselen havanlar içersine konulur. Porselen havan içersine 2 mL soğuk 0,05 M (pH: 6,5) sodyum asetat tamponu ilave edilerek 2 dakika boyunca homojenizasyon (parçalama işlemi) yapılır. Homojenat ependorf tüplerine aktarılır. Ependorf tüpleri soğutmalı santrifüjde +4 °C 13000 rpm' de 15 dakika süreyle santrifüj edilir. Tüpler santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımları başka ependorf tüplerine aktarılır. -26 °C' deki derin dondurucu içersinde birkaç ay saklanabilir.

**2.2.3.2.3. Hesaplama.** Peroksidaz kinetik reaksiyonunun analizi için spektrofotometre’ de 300 nm’ de 120 sn. süreyle ölçüm yapılır. Bu süre içerisinde her 10 saniyede bir alınan absorbans değerleri ve bu değerlere bağlı olarak bilgisayar tarafından oluşturulan grafik kaydedilir. Elde edilen absorbans değerleri arasında en büyük farkı gösteren aralık belirlenir. Veriler arasında elde edilen en büyük fark mg protein düzeyine çevrilerek  $\Delta OD/300nm/dk/mg$  protein birimi olarak verilir.

#### **KÖR ÇÖZELTİ**

2800  $\mu$ l 0.05 M Sodyum Asetat

Tamponu (pH: 6,5)

800  $\mu$ l 0.1 M Pyrogallol

400  $\mu$ l 90 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

#### **ÖRNEK**

2760  $\mu$ l 0.05 M Sodyum Asetat

Tamponu (pH: 6,5)

800  $\mu$ l 0.1 M Pyrogallol

40  $\mu$ l Örnek

400  $\mu$ l 90 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

İlk önce kör çözelti hazırlanır ve spektrofotometre’ de sıfırlama işlemi yapılır. Örnek ölçümlerinde quartz spektrofotometre küvetine sırası ile; 2760  $\mu$ l 0.05 M Sodyum Asetat Tamponu (pH: 6,5), 800  $\mu$ l 0.1 M Pyrogallol, 40  $\mu$ l örnek koyulur. En son olarak 400  $\mu$ l 90 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenir. Ölçümler, Jasco V-530 marka spektrofotometre’ de yapılmıştır.

#### **2.2.4. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi**

Deneme serileri 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Her bir tekrar da kendi arasında 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Bu denemede iki nokta ele alınarak sonuçlar karşılaştırılmıştır. Birincisi aynı tür ayçiçeği varyetesinin kontrole göre hangi günde aktivitesinin önemli derecede arttığı; ikincisi ise farklı tür ayçiçeği fidelerinin kontrole göre hangi günde oluşan farkın en önemli olduğudur. Bu verilerin ortalamaları arasındaki varyasyonun tespiti için Anova Testi SPSS 11.0



programı ile yapılmıştır. Varyans analizi sonucunda elde edilen F değerlerinin önemli olduğu noktalardaki ortalamalar arasındaki fark Tukey HSD testi uygulanarak çoklu karşılaştırma yapılmıştır.

## BÖLÜM 3-SONUÇ ve TARTIŞMA

### 3.1. Toplam Protein İçeriklerinin Hesaplanması

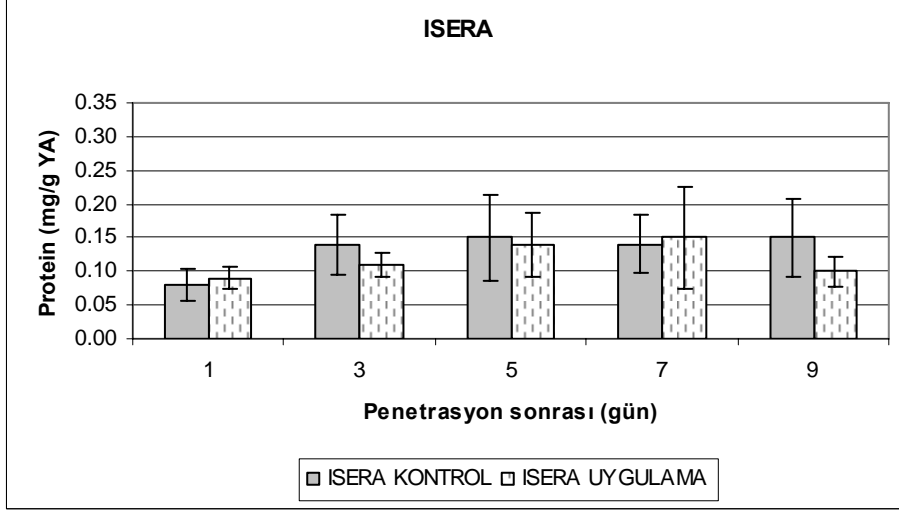
14 günlük ayçiçeği fidelerinin köklerine enfekte edilen çimlenmiş *O. cumana* Wallr. bitkilerinin etkisiyle ISERA, SANAY ve PIONEER 4223 varyetelerinin köklerine ait toplam protein miktarlarındaki değişiklikler Tablo 4' te verilmektedir.

Yapılan istatistiksel incelemeler sonucunda ortalama toplam protein değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 4. Tüm ayçiçeği varyetelerine ait köklerin penetrasyon sonrası toplam protein içeriklerine ait bilgiler (mg/g Yaş ağırlık) (K: Kontrol, U:Uygulama).

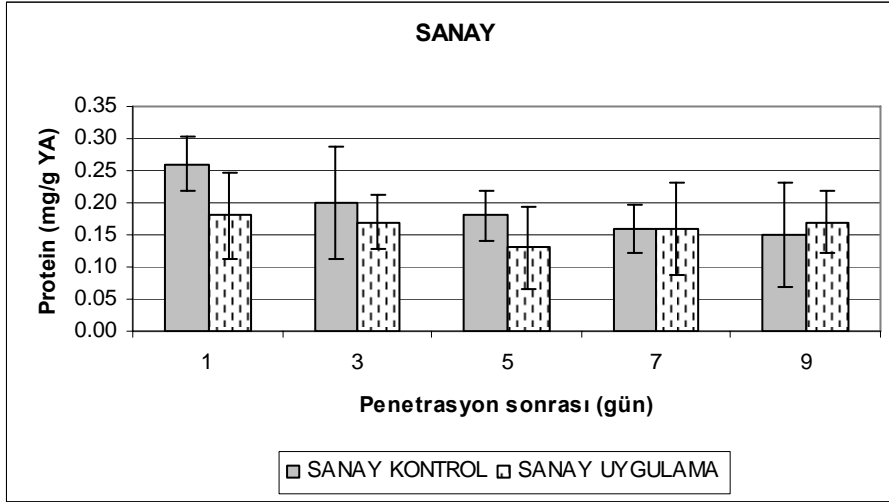
ÇEŞİT	GRUP	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün	9. gün
ISERA	K	0,08±0,02	0,14±0,05	0,15±0,06	0,14±0,04	0,15±0,06
	U	0,09±0,02	0,11±0,02	0,14±0,05	0,15±0,08	0,10±0,02
SANAY	K	0,26±0,04	0,20±0,09	0,18±0,04	0,16±0,04	0,15±0,08
	U	0,18±0,07	0,17±0,04	0,13±0,06	0,16±0,07	0,17±0,05
P 4223	K	0,21±0,10	0,25±0,12	0,18±0,04	0,20±0,08	0,19±0,04
	U	0,25±0,08	0,25±0,11	0,19±0,09	0,16±0,02	0,24±0,11

ISERA varyetesine ait bitkilerin köklerine ait toplam protein içeriği uygulama grubunda kontrole oranla 1. ve 7. gün hariç uygulamanın diğer günleri için düşük olarak saptanmıştır (Şekil 17).



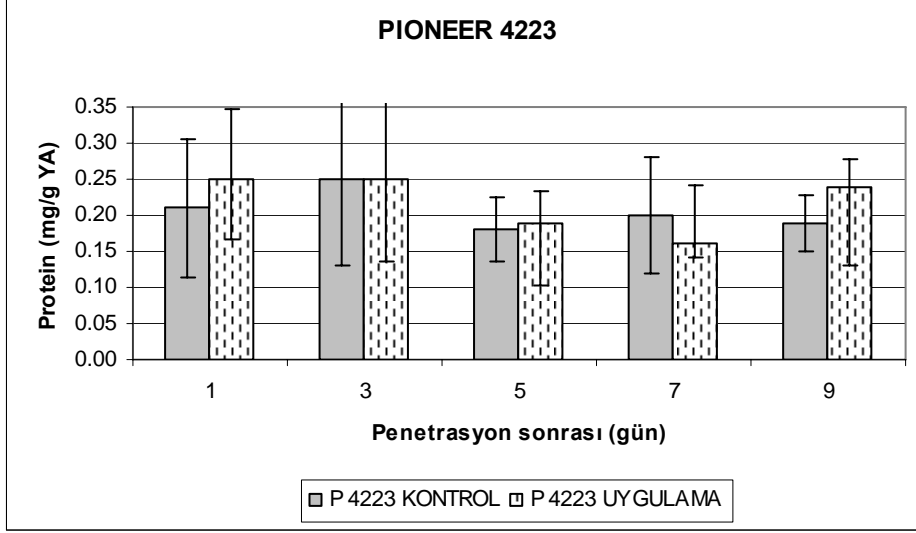
Şekil 7. ISERA varyetesine ait ayçiçeği bitkilerin köklerinin toplam protein içeriği (mg/g YA).

SANAY varyetesinde kontrol grubuna göre uygulama grubunda uygulamanın 1., 3. ve 5. gününde toplam protein değerinin anlamsal olmasa da az olduğu ancak 7. gün aynı, 9. günde ise yapılan analizler sonucunda toplam protein içeriğinin arttığı saptanmıştır (Şekil 18).



Şekil 8. SANAY varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinin toplam protein içeriği (mg/g YA).

PIONEER 4223 varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinden yapılan toplam protein analizleri neticesinde yalnızca 7. günde kontrole göre uygulama grubunda düşüş olduğu ancak 3. gün hariç diğer günlerde uygulama grubundaki protein miktarının kontrole oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil19).



Şekil 9. PIONEER 4223 varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinin toplam protein içeriği (mg/g YA).

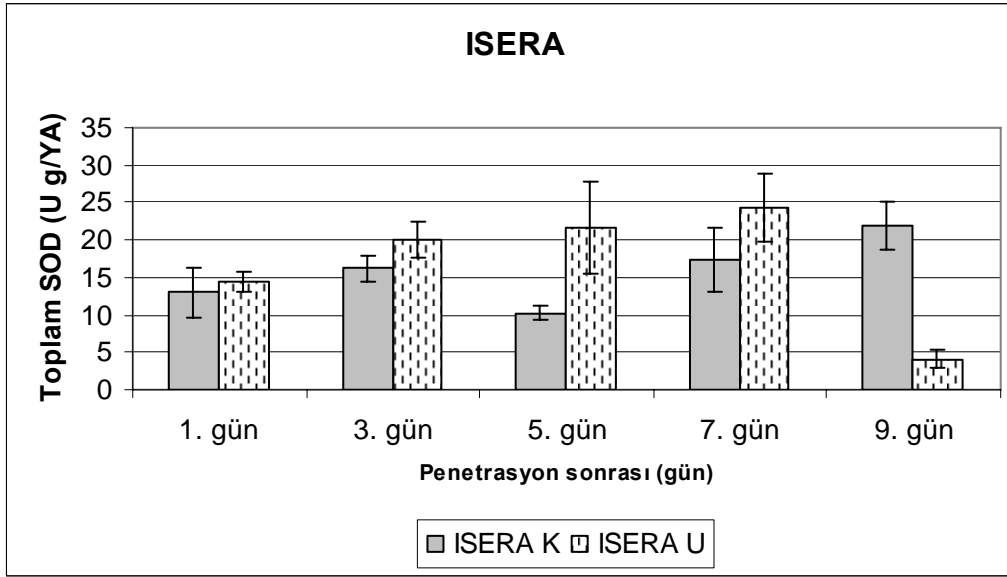
### 3.2. *Orobanche cumana* Wallr. Bitkisi Uygulamasına Bağlı Olarak *Helianthus annuus* L. Bitkilerinde Meydana Gelen Toplam SOD Miktarındaki Değişimler.

Çimlenmiş *O. cumana* Wallr. bitkileri ile enfekte edilen 14 günlük genç ayçiçeği fidelerinden yapılan toplam SOD miktarı analizleri neticesinde elde edilen tüm veriler Tablo 5’ de gösterilmektedir.

Tablo 5. Tüm ayçiçeği varyetelerinin penetrasyon sonrası kontrol ve uygulama gruplarından elde edilen toplam SOD içeriği.(K: Kontrol, U: Uygulama)

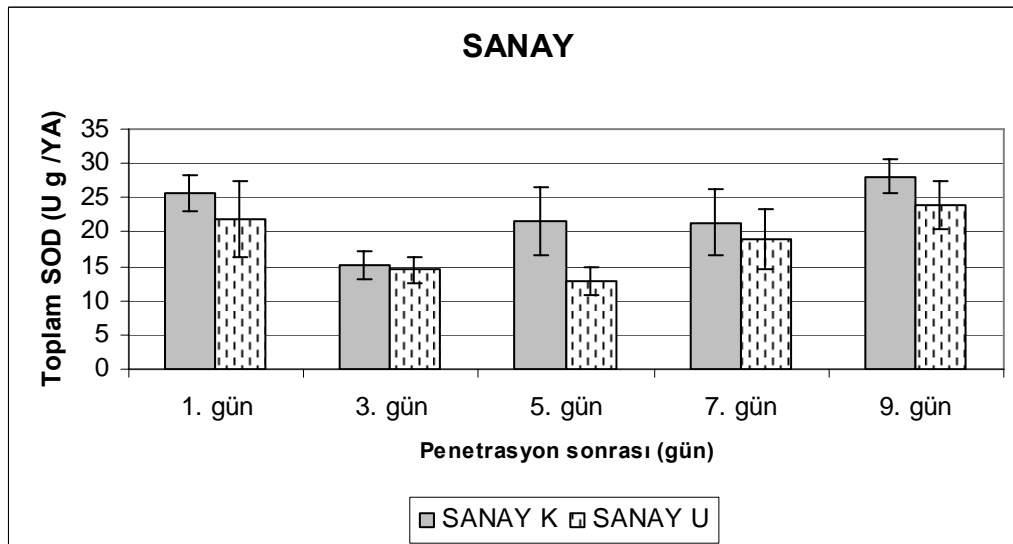
ÇEŞİT	GRUP	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün	9. gün
ISERA	K	13,02±3,37	16,24±1,72	10,28±1,03	17,41±4,20	21,87±3,21
	U	14,49±1,34	20,01±2,32	21,56±6,11	24,28±4,57	4,08±1,13
SANAY	K	25,56±2,63	15,19±2,15	21,62±5,00	21,43±4,93	28,04±2,49
	U	21,87±5,62	14,49±1,91	12,85±2,04	18,96±4,35	23,93±3,48
P 4223	K	17,77±0,98	12,76±3,16	13,56±2,13	17,13±2,93	22,89±2,80
	U	21,60±2,41	14,78±3,31	25,37±5,56	22,21±3,54	26,80±3,72

ISERA varyetesine ait toplam SOD analizleri neticesinde kontrol grubunun 1. günü ile 9. günü arasında kıyaslama yapıldığında % 67,97 lik artış ve 5. gün ile 9. gün arasındaki % 112,74' lük artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Uygulama grubu kendi arasında kıyaslandığında ise 1. güne kıyasla 7. günde meydana gelen % 67,56' lık artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. Kontrol grubu ile uygulama grupları kendi aralarında kıyaslandığında uygulama grubunda 5. gün meydana gelen % 109,73' lük artış ve 7.gündeki % 39,46' lık artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Yapılan analizler neticesinde en çarpıcı düşüşün uygulamanın 9. gününde meydana geldiği saptanmıştır. Buna göre *Orobanche cumana* Wallr. ISERA varyetesinde yalnızca uygulama grubu karşılaştırıldığında 9. günde 1. güne göre % 71,84, 3. güne göre % 79,61, 5.güne göre % 81,08 ve 7.güne göre % 83,20 oranında bir azalışa sahiptir. 9. günde meydana gelen bu azalış aynı günün kontrol grubu ile kıyaslandığında bu oran % 81,34 olarak saptanmıştır. ( $p>0,05$ ) (Şekil 20).



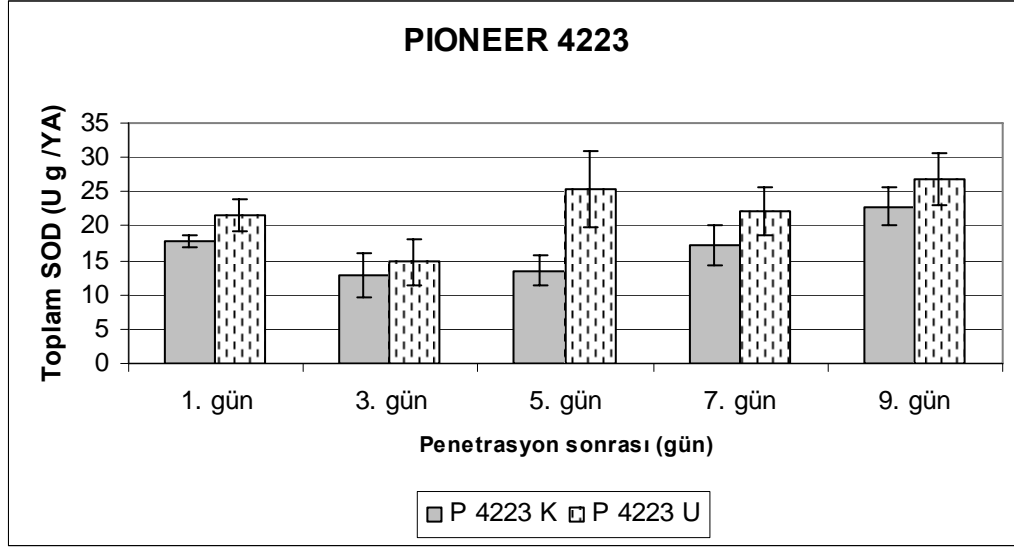
Şekil 20. ISERA varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerindeki toplam SOD miktarı (U g /YA).

SANAY varyetesine ait bitkilerin toplam SOD içerikleri incelendiğinde, kontrol grubunun 3. gününe göre 9. günde meydana gelen artışın % 84,60 oranında olduğu saptanmıştır. Uygulama ile kontrol grupları kıyaslandığında 5. günde uygulama grubunda meydana gelen % 40,56' lık düşüşün istatistiksel olarak anlamlıdır. Ayrıca uygulama grubunun 3. günü ile 9. günü arasında meydana gelen % 86,23' lük azalışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ( $p>0,05$ ) (Şekil 21).



Şekil 21. SANAY varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerindeki toplam SOD miktarı (U g /YA).

PIONEER 4223 varyetesine ait bitkilerin toplam SOD içerikleri incelendiğinde kontrol grubunun 3. gününe göre 9. gününde meydana gelen % 79,39' luk artış, 5. güne göre 9. gündeki % 68,81' lik artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Toplam SOD miktarında uygulamanın 5. gününde kontrole kıyasla uygulama grubundaki % 87,09 oranındaki artış ise yine istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p>0,05$ ) (Şekil 22).



Şekil 22. PIONEER 4223 varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerindeki toplam SOD miktarı (U g/YA).

Her üç ayçiçeği varyetesinde de meydana gelen değişimlere incelendiğinde uygulamanın 5. gününde meydana gelen değişimler ISERA ve PIONEER 4223 varyetesinde kontrol grubuna göre uygulama grubunda sırasıyla % 109,73 ve % 87,09 artış görülmesine karşın SANAY varyetesinde % 40,56' lık düşüş istatistiksel olarak anlamlıdır.

ISERA varyetesinin uygulama grubunun 5. günü ile 9. günü kıyaslandığında % 81,08' lik bir düşüş saptanırken aynı günler arasında SANAY varyetesinin kontrol grubuna göre uygulama grubunda % 86,23' lük bir artış saptanmıştır.

ISERA ve PIONEER 4223 varyetelerinin kontrol gruplarının 5. ve 9. günlerin arasında meydana gelen toplam SOD miktarındaki artışı sırasıyla, % 112,74 ve

% 68,81 olarak benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Aynı şekilde SANAY ve PIONEER 4223 varyetelerinin 3. ve 9. günü arasında meydana gelen artış sırasıyla % 84,60 ve % 79,39 olarak paralellik gösterdiği saptanmıştır.

### 3.3. *Orobanche cumana* Wallr. Bitkisi Uygulamasına Bağlı Olarak *Helianthus annuus* L. Bitkilerinde Meydana Gelen POD Aktivitelerindeki Değişimler.

14 günlük ayçiçeği fidelerinin köklerine enfekte edilen çimlenmiş *O. cumana* Wallr. bitkilerinin ISERA, SANAY ve PIONEER 4223 varyetelerinin köklerindeki meydana gelen peroksidaz aktivitesindeki ortalama değişimler Tablo 6' da verilmektedir.

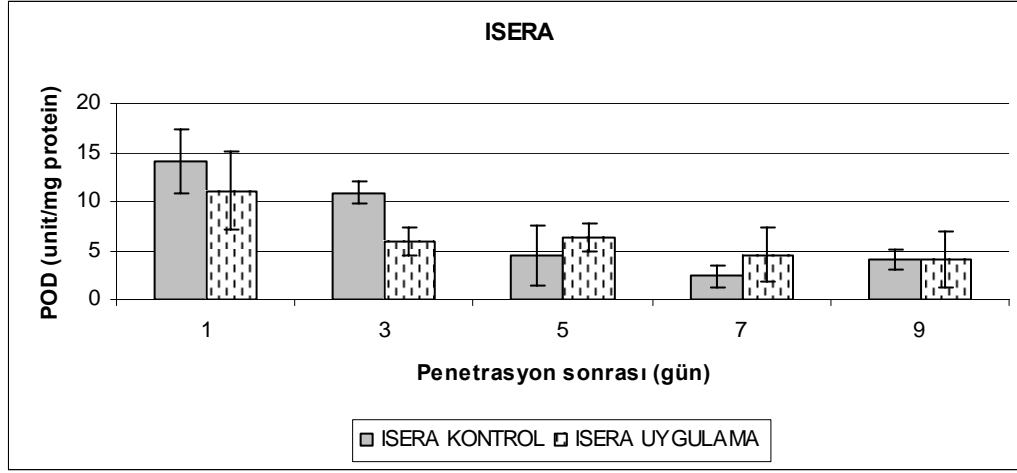
Tablo 6. Tüm ayçiçeği varyetelerine ait POD aktivitesinde meydana gelen değişimler (K: Kontrol, U: Uygulama).

ÇEŞİT	GRUP	1. gün	3. gün	5. gün	7. gün	9. gün
ISERA	K	14,17±3,26	10,91±1,05	4,49±3,10	2,38±1,07	4,02±1,02
	U	11,11±3,90	5,91±1,40	6,36±1,37	4,54±2,73	4,13±2,82
SANAY	K	4,26±0,61	2,92±1,14	2,72±1,33	1,87±1,44	2,96±0,73
	U	6,15±1,80	5,16±2,77	4,66±2,05	5,16±1,62	2,58±0,49
P 4223	K	4,13±0,30	4,80±1,66	4,81±0,23	4,89±1,21	1,68±0,16
	U	8,14±2,69	8,80±1,76	9,27±2,77	4,22±1,12	1,57±0,57

14 günlük ayçiçeği fidelerinin köklerine enfekte edilen çimlenmiş *O. cumana* Wallr. bitkileri, orobanşa duyarlı ISERA varyetesi köklerindeki peroksidaz aktivitesinde kontrol grubunun 1. günü ile 5., 7. ve 9. günde sırasıyla % 68,31, % 83,20 ve % 71,63 oranında anlamlı azalışlar saptandı. Kontrol grubunun 7.

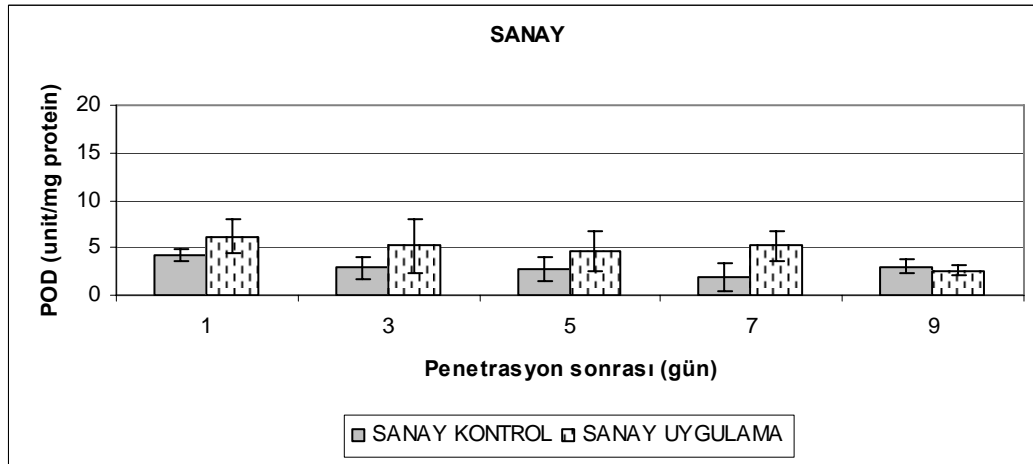


gününde meydana gelen peroksidaz aktivitesi kaybı 3. güne kıyasla % 78,19 olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p>0,05$ ) (Şekil 23).



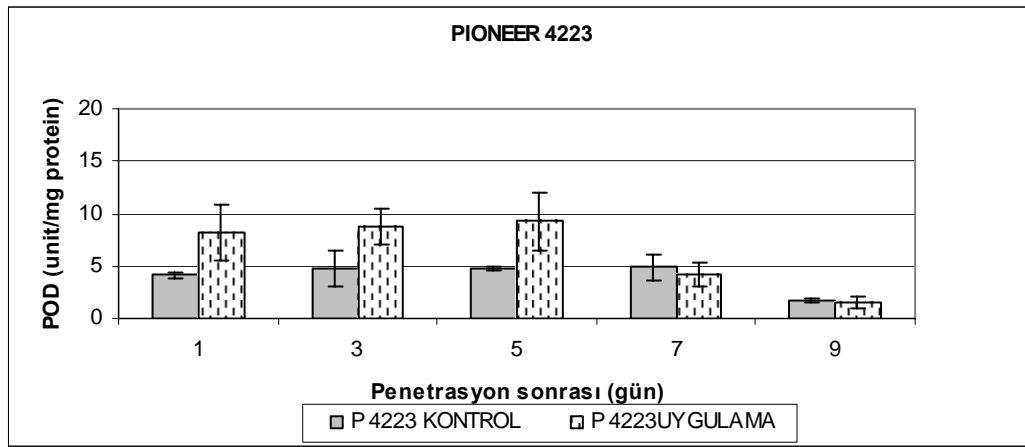
Şekil 23. ISERA varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinde meydana gelen peroksidaz aktivitesi (unit/mg protein).

14 günlük ayçiçeği fidelerinin köklerine enfekte edilen çimlenmiş *O. cumana* Wallr. bitkileri, orobanşa ilaçlı mücadele ile dayanıklılığı belirtilen SANAY varyetesi köklerindeki peroksidaz aktivitesinde, yapılan karşılaştırmalar neticesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir kanıt elde edilememiştir. Ancak şekil 24' te görüldüğü üzere hem kontrol hem de uygulama yapılan gruplarda uygulama süresinin sonuna yaklaştıkça peroksidaz aktivitesinde giderek bir azalma saptanmıştır ( $p>0,05$ ).



Şekil 24. SANAY varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinde meydana gelen peroksidaz aktivitesi (unit/mg protein).

14 günlük ayçiçeği fidelerinin köklerine enfekte edilen çimlenmiş *O. cumana* Wallr. bitkileri, orobanşa toleranslı olduğu belirtilen PIONEER 4223 varyetesine ait ayçiçeği bitki köklerindeki peroksidaz aktivitesi uygulama grubunun 9. gününde meydana gelen azalma 1., 3. ve 5. gün değerleriyle kıyaslandığında sırasıyla % 80,12, % 82,16 ve % 83,06 oranındadır. Bu azalışların istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Uygulama yapılan grupta 5. güne göre 7. günde ise % 54,48 oranında bir azalışın olduğu saptanmıştır. Ayrıca kontrole kıyasla uygulamanın 5. gününde saptanan POD aktivitesindeki artış istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p>0,05$ ) (Şekil 25).



Şekil 25. PIONEER 4223 varyetesine ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinde meydana gelen peroksidaz aktivitesi (unit/mg protein).

Bugüne kadar, Orobanş'ın gerek ayçiçeği gerekse diğer zirai ürünlerde oluşturduğu zarar çok sayıda araştırmacı tarafından incelenmiştir. Devam eden bu araştırmalara bakıldığında; Orobanş'ın ayçiçeğine penetre olduğu noktada ayçiçeğinin bir tür fitoaleksinin olan kumarin sentezini gerçekleştirdiği ve bu yolla parazitik istilaya karşı fiziksel ve kimyasal olarak engeller oluşturduğu bilinmektedir (Serginhi ve diğ., 2001). Parker ve Riches (1993)'e göre; *O. cumana* Wallr. ve *O. aegyptiaca* Pers. parazit bitkilerinin İsrail'de uzun yıllar boyunca ayçiçeği üretiminde ekonomik kayıplara sebep olduğu (Eizenberg ve diğ., 2003); *O. cumana* ve *O. aegyptiaca* bitkilerinin dayanıklı ayçiçeği türlerindeki çimlenmesinin sıcaklık değişimleriyle paralel olduğu ve sıcaklık arttıkça dayanıklı türlere yapışan

Orobanşların dejenerasyona uğrayıp öldükleri (Eizenberg ve diğ., 2003) bildirilmiştir. Ayrıca Zehhar ve diğ. (2003), *O. ramosa* parazitinin konukçu olduğu havuç bitkisindeki gelişimini konukçusu olmayan mısır bitkisiyle karşılaştırmışlardır. Buna göre mısırdaki dayanıklılık; (a) Orobanş hostoryumunun gelişiminin engellenmesi (b) ksilem demetinin kalınlaşması (c) merkezi silindirde hücre bölünmeleri ve (d) örtü tabakasının yapısıyla ilişkili olduğu rapor edilmiştir.

Dat ve diğ., (2000) ve Mitler (2002)' e göre; atmosferik oksijenin kısmen indirgenmiş şekli olarak tanımlanan ROT tipik olarak oksijenin uyarılmasıyla singlet oksijen oluşturur. Bir, iki veya üç elektronun oksijene transferiyle sırasıyla süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojenperoksit ( $H_2O_2$ ) veya hidroksil ( $OH\cdot$ ) radikalleri oluşmaktadır. Hammond-Kosack ve Jones (1996), Asada (1999) ve Dat ve diğ. (2000)' e göre; bitkilerde ROT' nin birçok oluşum kaynağı vardır. Bunlar (i) normal koşullarda fotosentez ve solunum süreçlerinde oluşurlar, ayrıca (ii) çevresel stres faktörleri nedeniyle bunların konsantrasyonları artar, bu ise beraberinde oksidatif hasarı oluşturmaktadır. Lamb ve Dixon (1997) ve Dat ve diğ. (2000)' e göre; bu moleküller hücresel yapıyı bozduğu gibi biyotik ve abiyotik stres koşullarında erken sinyal molekülü olarak da işlevsel olabilmektedirler. Levine ve diğ. (1994) ve Mitler ve diğ. (1999)' e göre; hidrojenperoksit ve süperoksit anyonunun bitki patojen etkileşimleri sırasında HR' ta önemli bir görevi vardır. Delledonne ve diğ. (2001) ve Beers ve McDowell (2001)' e göre; patojen saldırılarına karşı dayanıklılıkta Cu/Zn SOD izoziminin, HR' lığın tetiklenmesinde anahtar enzim olarak görev aldığı ileri sürülmektedir (Herbette ve diğ., 2003).

Ayçiçeği ve *O. cumana* parazit bitkisi arasındaki etkileşiminin araştırıldığı bir çalışmada, Gutierrez-Mellado (1998) ve Gutierrez-Mellado ve diğ. (1995)' e göre; ayçiçeği sekonder metabolitlerinden şikimik asit ve 7-hidroksillenmiş kumarin bileşiklerinin köklerden salındığı rapor edilmektedir. Perez de Luque (1998), Jorin ve diğ. (1996) ve Jorin ve diğ. (1998)' e göre; ayçiçeği fenolik bileşiklerinin (şikimik asit, flavonoid ve kumarinler) *Orobanche* tohumlarının çimlenmesine etki

etmediği, ancak GR24 bileşiğinin çimlenmeyi uyarıcı etkisini skopoletin ve ayapın gibi kimyasalları inhibe ettiği belirtilmektedir (Luque ve diğ., 2000).

Halliwell ve diğ. (2004)' e göre, ayçiçeği gibi yağlık olarak üretilen bitkilerin stres koşullarında dokularındaki serbest radikallerden süperoksit ve peroksit birikiminde bir artış olduğu belirtilmiştir. Bu belirtilen radikaller, ayçiçeği bitkisinin yağların yapısında bozulmalara ve doğal gelişimde düzensizliğe etki etmektedir. Biyotik ve abiyotik stres koşullarında, peroksidaz ve katalaz bazı fizyolojik döngülerde yer almaktadır. Çevresel kaynaklı stres koşullarında  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{OH}^\cdot$  miktarında artışlar görülmesi olasıdır (Habibi ve diğ., 2004). Hücrelerdeki SOD, APX veya CAT aktiviteleri arasındaki denge,  $\text{O}_2^-$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ ' in durağan seviyesini saptamak için çok önemlidir (Gara ve diğ., 2003).

Duyarlı olduğu belirtilen türlerde *Orobanche* penetrasyonu sonrası konukçuda kuraklık stresi etkisi ve solma gözlenir. Duyarlı türlerde bu etkileşim neticesinde yaprak klorozisi, fotosentezin indirgenmesi ve yavaşlamış gövde büyümesi görülür. Tüm bu olayların sonucu olarak konukçu bitkinin tohum veriminde azalma görülür (Elzein ve Kroschel, 2003).

Yapılan bu çalışmada toleranslı olduğu belirtilen PIONEER 4223 varyetesinde toplam SOD içeriğinin kontrol grubuna kıyasla uygulama grubunda 9 gün boyunca yüksek olduğu saptanmıştır. Bu, Habibi ve diğ. (2004)' nin belirttiği  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\text{OH}^\cdot$  miktarındaki artışın antioksidatif enzimler sayesinde yok edildiği bilgisiyle uyumludur. İlaçlı kontrol yöntemleriye toleranslı olduğu bilinen SANAY varyetesinde ise uygulama grubundaki toplam SOD içeriğinin uygulamanın her gününde kontrole kıyasla düşük bulunmuştur. Duyarlı varyete ISERA' da ise 7. güne kadar toplam SOD miktarında kontrole kıyasla anlamlı artış mevcuttur. Herbette ve diğ. (2003), SOD enziminin HR' lığın tetiklenmesinde anahtar enzim olarak işlevsel olduğunu rapor etmişlerdir. Bu bağlamda, ISERA' da 7. güne kadar kontrole kıyasla uygulama grubunda toplam SOD miktarının yüksek olmasına karşın uygulamanın 9. gününde şiddetli bir düşüş meydana gelmesi bu varyetede duyarlılığın antioksidatif

savunma temeline işaret ediyor olabilir. İlaçlı kontrol yöntemleriye toleranslı olduğu bilinen SANAY varyetesinde toplam SOD miktarının sürekli kontrole kıyasla düşük oluşu da bu bilgiye paralel şekilde açıklanabilir. Öte yandan, Habibi ve diğ. (2004) ve Herbert ve diğ. (2003) tarafından sunulan bilgilerle uyumlu bir şekilde PIONEER 4223 varyetesinde toplam SOD miktarında saptanan anlamlı artışlar, bu varyete için *O. cumana* Wallr. parazitine dayanıklılıkta SOD' ın işlevsel olabileceğine işaret etmektedir.

Antioksidatif enzimlerden POD ile ilgili olarak 1996' da gerçekleştirilen araştırmada Antonova ve Ter Borg, Güney Rusya'da ayçiçeklerine zarar veren *O. cumana* parazitinin C ve D ırkları arasındaki farkın histokimyasal tespiti için radikula hücrelerindeki peroksidaz içeriğini araştırmışlardır. Buna göre; C ırkındaki ekstraselüler peroksidaz, konukçunun lignin öncülleri olan fenolik bileşiklerle reaksiyona girmektedir. Araştırmacılar bu durumu ayçiçeklerinin dayanıklılığında *Or3* genine sahip kùltivarların lignin tabakasının yapısından kaynaklandığı değerlendirilmesini yapmışlardır. D ırkında ekstraselüler peroksidazın bulunmayışı lignin yapısının korunmasını sağlamaktadır. Böylece araştırmacılar, parazitin bu şekilde konukçunun iletim demetine yapışmasının kolaylaşmış olduğunu saptamışlardır.

Gonzalez-Verdejo ve diğ. (2006), yaptıkları çalışmada tütün, domates, patates ve *A. thaliana* bitkilerinde önemli ürün kayıplarına neden olan *O. ramosa* tohumlarının çimlenmesinin ardından kökçüğün uç kısımda uzama sırasında peroksidaz aktivitesinin meydana geldiğini saptamışlardır. Bu saptamayı, histokimyasal yöntemle, yalnızca bu kısımda meydana gelen kırmızı renk oluşumu aracılığıyla yapmışlardır. Bu oluşum, GR 24 ile çimlendirilen parazit tohumlarını pyrogallol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve sodyum fosfat tamponu ve TRIS asetat (pH 5), 4-kloronaftol ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren iki farklı ortamda 15 dakikalık bekleme süresinden sonra elde edilmiştir. Araştırmacılar, çalışmalarının sonuçlarını desteklemek için, çimlenmiş tohumlardan elde ettikleri toplam RNA' yı kullanarak Northern Hibridizasyon analizi ile *O. ramosa* tohumunun gelişim safhalarında *prx1* geninin ifade edildiğini

tespit etmişlerdir. Aynı araştırmada bunun için, lignifikasyon ve hücre uzamasında görevli apoplastik Class III peroksidaz enziminin kodlanmasından sorumlu *prx1* geninin ürünü olan aminoasit dizisi saptanmıştır.

Goldwasser ve diğ. (1999) yaptığı çalışmada, *O. aegyptiaca* parazitine dayanıklı *Vicia atropurpurea* cv. Popany bitkisinde, duyarlı varyete *Vicia sativa* cv. Yovel bitkisine kıyasla enfeksiyonun ardından yüksek konsantrasyonda bağı fenolikler, serbest fenolikler ve lignin saptanırken yüksek peroksidaz aktivitesinin de buna eşlik ettiği gösterilmiştir.

Luque ve diğ., (2005), yapmış oldukları araştırmada, *Pisum sativum* bitkisi ile *O. crenata* arasındaki etkileşimde dayanıklı olduğunu bildikleri bezelyelerin köklerindeki toplam çözülebilir fenoliklerin miktarında ve peroksidaz aktivitesinde artış saptamışlardır.

Yaptığımız araştırmada, PIONEER 4223 varyetesinin uygulama grubunda 1, 3 ve 5. günlerde kontrole kıyasla peroksidaz aktivitesinde artış saptanırken 7. ve 9. günlerde ise azalma söz konusudur. Goldwasser ve diğ. (1999) ve Luque ve diğ. (2005)' nin yaptığı çalışmalar ile karşılaştırıldığında bu sonuçlar Orobanche cumana Wallr.'a toleranslı olduğu belirtilen PIONEER 4223 varyetesi için 7. güne kadar paraleldir. SANAY varyetesinde ise peroksidaz aktivitesi uygulama grubunda kontrole kıyasla daima yüksek olarak saptanmıştır. Bunula birlikte bu artışlar istatistiksel öneme sahip değildir. Bu nedenle, bu varyeteye ait sonuçlar Goldwasser ve diğ. (1999) ve Luque ve diğ. (2005) ile benzerlik taşımakla birlikte, artan zamana karşı aynı artışların bu varyetede devam etmediği görülmektedir. Duyarlı olduğu belirtilen ISERA varyetesinde ise peroksidaz aktivitesi, uygulamanın 1. ve 3. gününde uygulama grubunda kontrole göre düşük olmasına karşın 5., 7. ve 9. günlerde bir artış söz konusudur. Ancak SANAY varyetesinde olduğu gibi bu sonuçlarda 3. gün hariç diğerleri için yine istatistiksel önem taşımamaktadır.

Öte yandan, SANAY ve ISERA varyeteleri karşılaştırıldığında, 3. günde kontrole kıyasla anlamlı aktivite kaybı saptanan ISERA'nın SANAY'a kıyasla daha duyarlı bir tür olduğu düşünülebilir. Bu bilgi her iki varyete için özellikle 3. güne kadar saptanan kümülatif değerler dikkate alındığında da gözlenmektedir. POD aktiviteleri PIONEER 4223 varyetesinde 1., 3. ve 5. günde anlamlı artışlar sergilemektedir. Bu dikkate alındığında, *O. cumana* Wallr. parazitinin bu varyetede neden olduğu oksidatif strese karşı savunmada POD'ı etkin bir şekilde kullandığı anlaşılmaktadır. Bu durum tolerans mekanizmasında POD'un önemine işaret ediyor olabilir. Antonova ve Ter Borg (1996) *O. cumana*'nın farklı ırklarında POD aktivitesinde artış saptamışlar ve bu artışın *O. cumana*'nın parazitliğinde etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Diğer yandan Gonzalez-Verdejo ve diğ. (2006) tütün, domates, patates ve *A. thaliana* bitkilerinde *O. ramosa* tohumlarının çimlenmesinin ardından kökçüğün uç kısmında uzama sırasında peroksidaz aktivitesinin meydana geldiğini saptamışlardır. Bu bilgiler hem *O. cumana* Wallr. hem de *O. ramosa* için POD temelli antioksidatif yanıt etkinliğine işaret etmektedir. Goldwasser ve diğ. (1999), *O. aegyptiaca* parazitinine dayanıklı *Vicia atropurpurea* cv. Popany bitkisinde, duyarlı varyete *Vicia sativa* cv. Yovel bitkisine kıyasla enfeksiyonun ardından yüksek peroksidaz aktivitesinin de buna eşlik ettiğini göstermişlerdir. Bu sonuç ise bitkide orobanşa karşı dayanıklılıkta POD'ın çalıştığına işaret etmektedir. Bu bağlamda, duyarlı varyetelere kıyasla araştırmamıza kullanılan PIONEER 4223 varyetesinin *O. cumana* toleransı ile yine bu varyetede saptanan POD aktiviteleri arasında anlamlı ilişki olabileceğine işaret etmektedir.

Sauerborn ve diğ. (2002)'nin yapmış olduğu çalışmada, 40 ppm'lik BTH [benzo(1,2,3)thiadiazole-7-karbothioik asit S-metil ester]'nin 36 saat boyunca ayçiçeği tohumlarına uygulanmasıyla kök çevresi *O. cumana* Wallr. parazitinin enfeksiyonundan korunmuş olur. Ayçiçeği köklerine *O. cumana* parazitinin tutunmasının ve erken penetrasyon safhasının BTH uygulanmış bitkilerde indirgenliği saptanmıştır. Kök özütlerinden yapılan kimyasal analizlerle BTH uygulanmış ayçiçeği köklerinde hidrojen peroksit ve fitoaleksin scopoletin sentezi ve lignifikasyondaki artışının olmayışı ortaya konmuştur. Western blot analiziyle kök ve gövdelerdeki patonejenezise bağlı protein kinaz birikimiyle dayanıklılığın

arttığı gösterilmiştir. Bu durum, orobanşın farklı türlerine dayanıklılıkta antioksidatif yanıtın yanı sıra farklı enzimlerinde dikkate alınabileceğine de işaret etmektedir.

Dörr ve diğ. (1994) ve Labrousse ve diğ. (2001)' e göre; ayçiçeğinin Orobanş' a olan dayanıklılığında birçok mekanizma öne sürülmüştür. Bunlardan biri olan lignifikasyon, *O. cumana* tarafından istila edilen ayçiçeğinde hücre duvarındaki birikim ve iletim demetinin kapatılması olarak rapor edilmiştir (Labrousse ve diğ., 2004). *O. cernua* tarafından istila edilen ayçiçeğinde fitoaleksinin sentezinin tetiklendiği, *O. aegyptiaca* bitkisinin istila ettiği baklalarda ise fenolik bileşiklerin biriktiği saptanmıştır (Zehhar ve diğ., 2003).

Cordoba-Pedregosa ve diğ. (2003) göre; farklı dikotil ve monokotil köklerinin hızlı bir şekilde büyüyen bölgelerinde peroksidaz birikiminin olduğu ve bunun kök uzaması ve Obeso ve diğ. (2003)' e göre; lignifikasyon ile ilişkili olduğu savunulmaktadır (Gonzalez-Verdejo ve diğ., 2006). Sauerborn ve diğ. (2002), BTH uygulanmış ayçiçeği köklerinde hidrojen peroksit ve scopoletin sentezinin meydana geldiğini ve aynı zamanda da uyarılmış dayanıklı ayçiçeği varyetelerinin kök ve gövdesinde tüm dikotil bitkilerde SAR marker ı olarak chitinase birikimi de gözlenmiştir.

Tüm sonuçlar dikkate alındığında; *O. cumana* Wallr. parazitine duyarlı olduğu bilinen ISERA, toplam SOD miktarları dikkate alındığında kısa süreli antioksidatif yanıt oluşturmakla birlikte, bu yanıtın POD ile destekleyememektedir. SOD miktarlarındaki artışa bağlı olarak ortaya çıkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, POD yerine CAT veya APX tarafından ya da başka bir mekanizmayla detoksifiye ediliyor olabilir. *O. cumana* Wallr. parazitine toleranslı olduğu bilinen PIONEER 4223 varyetesinin hem toplam SOD miktarında hem de POD aktivitesinde sergilediği anlamlı antioksidatif yanıtlar ise, bu yolun tolerans mekanizmasında işlevsel olabileceğini göstermektedir. Bu anlamda, duyarlı ISERA varyetesinin toplam SOD miktarlarıyla POD aktiviteleri arasındaki uyumsuzluk onun duyarlılık mekanizmasını açıklayabilir. İlaçla dayanıklı olduğu bilinen SANAY varyetesi, araştırmamızda ilaç kullanılmadan incelenmiştir.



Bu varyetede saptanan SOD verileri anlamsız değişimler sergilemektedir. Aynı varyetenin POD aktiviteleri ise ISERA' ya zıt şekilde genellikle kontrole kıyasla yüksektir. Ancak her iki antoksdatif enzim için kontrole kıyasla anlamlı artışlar saptanmamıştır. Bu durum SANAY varyetesinin ISERA varyetesine benzer şekilde *O. cumana* Wallr. parazitine duyarlı olduğuna işaret etmektedir.

Araştırmamızda ayçiçeği – orobaş arasındaki ilişkide ortaya çıkan oksidatif strese, PIONEER 4223 varyetesinin özellikle kısa süre için çok iyi yanıt oluşturduğu saptanmıştır. Oksidatif strese bağlı oksidatif hasarın önlenmesinde bu enzimlerin çalışıyor olması, bu bitkinin duyarlı varyetelere kıyasla daha toleranslı olmasını açıklayabilir. Diğer yandan, ayçiçeği – orobaş arasındaki konukçu – parazit ilişkisinde bu tolerans mekanizmasının temellerinin tam olarak aydınlatılabilmesi için, aynı yolda çalışan diğer antioksidatif enzimlerin de incelenmesi yerinde olacaktır. Bu araştırmada elde edilen bulgular, *O. cumana* Wallr. parazitine antioksidatif temelli yanıtlar dikkate alındığında, bu yöndeki çalışmalar için ümit vericidir.

## KAYNAKLAR

Acar, O., 1999. Kurağa dayanıklı bazı arpa (*Hordeum spp.*) çeşitlerinde süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin araştırılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, İzmir, Türkiye. 87 s.

Akhtouch, B., Munoz-Ruz, J., Melero-Vara, J., Fernandez-Martinez, J., Dominguez, J., 2002. Inheritance of resistance to race F of broomrape in sunflower lines of different origins. *Plant Breeding* 121, 266—268.

Alvarez, M. E. ve Lamb, C., 1997. Oxidative Burst-Mediated Defense Responses in Plant Disease Resistance. In: Scandalios, J. G., Ed. *Oxidative Stress And The Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA. 815-840.

Antonova, T. S., TerBorg, S. J., 1996. The role of peroxidase in the resistance of sunflower against *Orobanche cumana* in Russia. *Weed Research* 36 (2): 113-121.

Beauchamp, C., Fridovich, I., (1971). Superoxide dismutase: Improved assay and applicable to acrylamid gels. *Anal. Biochem.*, 44, 276-287.

Bouwmeester, H. J., Matusova, R., Zhongkui, S., Beale, M. H., 2003. Secondary metabolite signalling in host-parasitic plant interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 6: 358-364.

Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.

Edreva, A., 1999. Molecular basis of stres in plants, Practical course notes, 24 May B 4 June, pp 1-9.

Edreva, A., 2005. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106: 119–133.

Egeli, A., 2005. II. Ayçiçeği Sempozyumu, sözlü sunum. Hayrabolu, Tekirdağ, Türkiye.

Eizenberg, H., Plakhine, D., Hershenborn, J., Kleifeld, Y., Rubin, B., 2003. Resistance to broomrape (*Orobancha spp.*) in sunflower (*Helianthus annus L.*) is temperature dependent. *Journal of Experimental Botany*, Vol.54,s pp. 1305-1311.

Elzein, A. Kroschel, J., 2003. Progress on management of parasitic weeds. Chapter 2: Problem weeds and their management in crops and non-crop situations. *FAO Plant Production and Protection Paper* 120 Add. 1 Weed Management for Developing Countries Addendum 1 (Labrada, R, (Eds)). ISBN 92-5-105019-8, Rome, Italy.

Estabrook, E. M., Yoder, J. I., 1998. Plant-Plant Communications: Rhizosphere Signaling between Parasitic Angiosperms and Their Hosts. *Plant Physiol*, 116: 1-7.

Fan, Z. W., Buschmann, H., Sauerborn, J., 2003. The Efficacy of Resistance Inducing Agents for the Control of Sunflower Broomrape (*Orobancha cumana* Wallr.) *Deutscher Tropentag 2003. International Research On Food Security, Natural Resource Management And Rural Development Technological And Institutional Innovations For Sustainable Rural Development*, Georg-August-University Göttingen, October 8 – 10.

Foyer, C. H. ve Halliwell, B., 1976. The Presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplast: A Propose Role in Ascorbic Acid Metabolism. *Planta*, 133: 21-25.

Gagne, G., Roeckel-Drevet, P., Grezes-Besset, B., Shindrova, P., Ivanov, P., Grand-Ravel, C., Vear, F., Tourvieille de Labrouhe, D., Charmet, G., Nicolas, P., 1998. Study of variability and evolution of *Orobancha cumana* populations infesting sunflower in different European countries. *Theor Appl Genet*, 96: 1216-1222.

Gara, L., Pinto, M. C., Tommasi, F., 2003. The Antioxidant Systems vis-a-vis Reactive Oxygen Species During Plant-Pathogen Interaction. *Plant Physiol. and Biochemistry*, 41: 863-870.

Giannopolities, N., Ries S. K., 1977. Superoxide dismutase. Occurance in higher plants. *Plant Physiol.*, 59:309-314.

Goldwasser, Y., Hershenhorn, J., Plakhine, D., Kleifeld, Y., Rubin, B., 1999. Biochemical Factors Involved in Vetch Resistance to *Orobanche aegyptiaca*. *Physiological And Molecular Plant Pathology*, 54:87-96,

Gonzalez-Verdejo, C. I., Barandiaran, X., Moreno, M. T., Cubero, J. I., Pietro, A. D., 2006. A peroxidase gene expressed during early developmental stages of the parasitic plant *Orobanche ramosa*. *Journal of Experimental Botany*, 57, No. 1: 185–192.

Habibi, D., Boojar, M. M. A., Mahmoudi, A., Ardakani, M. R., Taleghani, D., 2004. Antioxidative Enzymes in Sunflower Subjected to Drought Stress. *4th International Crop Science Congress*.

Hahne, G., 2001. Sunflower seed. In: Khachatourians, G. G., Ed. *Transgenic Plants and Crops*. New York, NY, USA. 813-833.

Herbette, S., Lenne, C., Tourvieille, D., Drevet, J. R., Roeckel-Drevet, P., 2003. Transcripts of sunflower antioxidant scavengers of the SOD and GPX families accumulate differentially in response to downy mildew infection, phytohormones, reactive oxygen species, nitric oxide, protein kinase and phosphatase inhibitors. *Physiologia Plantarum*, 119:418-428.

Kanner, J., Kinsella, J. E., 1983. Lipid Deterioration Initiated By Phagocytic Cells In Muscle Foods - Beta-Carotene Destruction By A Myeloperoxidase Hydrogen-Peroxide Halide System. *J. Agric. Food Chem.*, 31: 370-376.

Kaya, Y., 2003. Ayçiçeğinde Orobanş ve Mücadelesi. *Tarım İstanbul Dergisi*, 84: 26-28.

Kaya, Y., 2004. Ayçiçeği Biyoteknolojisinde Son Gelişmeler ve Islahında Kullanım Olanakları. *Trakya Univ J Sci*, 5(2): 141-147.

Labrousse, P., Arnaud, M.C., Griveau, Y., Fer, A., Thalouarn, P., 2004. Analıysis of resistance criteria of sunflower recombined inbred lines against *Orobanche cumana* Wallr. *Crop protection*, 23: 407-413.

Levine, A., 2004. COST Action 849, WG1+WG3 Workshop, Parasitic Plant Management in Sustainable Agriculture Meeting on Mechanisms of Susceptibility and Resistance in Parasitic Angiosperm-Host Symbioses: A Comparative Approach; 13-15 October, Wageningen – The Netherlands, p. 9.

Lu, Y. H., Melero-Vara, J. M., García-Tejada, J. A., Blanchard, P., 2000. Development of SCAR markers linked to the gene Or5 conferring resistance to broomrape (*Orobancha cumana* Wallr.) in sunflower. *Theor Appl Genet*, 100: 625–632.

Luque, A. P., Galindo, J. C. G., Macias, F. A., Jorin, J., 2000. Sunflower sesquiterpene lactone models induce *Orobancha cumana* seed germination. *Phytochemistry*, 53: 45-50.

Luque, A. P., Jorin, J., Cubero, J. I., Rubiales, D., 2005. *Orobancha crenata* Resistance And Avoidance in Pea (*Pisum* spp.) Operate at Different Developmental Stages of The Parasite European Weed Research Society *Weed Research*, 45: 379–387.

Miller, A. F., 2004. Superoxide dismutases: active sites that save, but a protein that kills. *Current Opinion in Chemical Biology*, 8:162–168.

Nun, N. B., Plakhine, D., Joel, D. M., Mayer, A. M., 2003. Changes in activity of the alternative oxidase in *Orobancha* seeds during conditioning and their possible physiological function. *Phytochemistry*, 64: 235-241.

Okazawa A., Trakulnaleamsai, C., Hiramatsu, H., Fukusaki, E., Yoneyama, K., Takeuchi, Y., Kobayashi, A., 2005. Cloning of a cryptochrome homologue from the holoparasitic plant *Orobancha minor* Sm. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43: 499–502.

Özhatay, N., 1973. Türkiye'nin Trakya Bölgesi ve İstanbul Çevresindeki *Orobancha* Türleri. (Doktora Tezi). İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Botanik Kürsüsü, Türkiye.

Pujadas-Salva, A. J., Velasco, L., 2000. Comparative studies on *Orobancha cernua* L. and *O. cumana* Wallr. (Orobanchaceae) in the Iberian Peninsula, *Botanical Journal of the Linnean Society*, 134: 513-527.

Reizelman-Lucascen, A., 2003. Synthesis and Function of Germination Stimulants for Seed of Parasitic Weeds *Striga* and *Orobanche* spp. (Doktora tezi). Nijmegen University, Nijmegen, Holland.

Sanchez-Diaz, J., Lopez-Martinez, N., Lopez-Granados, F., Prado, R., Garcia-Torres, L., 2002. Absorbtion, translocation, and fate of herbicides in *Orobanche cumana*-sunflower system. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 74: 9-15.

Sauerborn, J., Buschmann, H., Ghiasi, G., K., Kogel, H. K., 2002. Benzothiadiazole Activates Resistance in Sunflower (*Helianthus annuus*) to the Root – Parasitic Weed *Orobanche cumana*. *Genetic and Resistance*, 92:59-63.

Scandalios, J. G., 1997. Molecular Genetics of Superoxide Dismutase In Plants. In: Scandalios, J. G. Ed. *Oxidative Stres and The Molecular Biology of Antioxidant Defenses*. Cold Spring Harbor Laboratory Pres, USA. 527-565.

Serghini, K., Luque, A. P., Munoz, M. C., Garcia-Torres, L., Jorrin, J.V., 2001. Sunflower (*Helianthus annus* L.) response to broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) parasitism: induced synthesis and excretion of 7-hydroxylated simple coumarins. *J. Experimental Botany*, (52): 2227-2234.

Shivakumar, P. D., Geetha, H. M., Shetty, H. S., 2003. Peroxidase Activity And Isozyme Analysis of Pearl Millet Seedlings And Their Implications in Downy Mildew Disease Resistance. *Plant Science*, 164: 85-93.

Slavov, S., Onckelen, H., Batchvarova, R., Atanassov, A., Prinsen, E., (2004). IAA Production During Germination Of *Orobanche* Spp. Seeds, *Journal Of Plant Physiology*, 161, 7; Proquest Medical Library p.847.

Steward, F. C., 1963. *Plant Physiology*, Academic Press, New York and London. p:797.

Thomas, H., Sauerborn, J., Müller-Stöver, D., Ziegler, A., Bedi, J. S., Kroschel, J., 1998. The Potential of *Fusarium oxysporum* f.sp. *orthocerasas* A Biological Control Agent For *Orobanche cumana* in Sunflower, *Biological control*, 13: 41-48.

Tör, M., 1998. Bitkilerde Moleküler Konukçu-Patojen İlişkilerindeki Son Gelişmeler. *Tr. J. of Biology*, 22: 271-285.

Westwood, J. H., Yu, X., Foy, C. L., Cramer, C. L., 1998. Expression of a Defense-Related 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl CoA Reductase Gene in Response to Parasitization by *Orobancha* spp. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, Vol. 11, No 6: 530–536.

Wolfe-Simon, F., Grzebyk, D., Schofield, O., Falkowski, P. G., 2005. The Role And Evolution Of Superoxide Dismutases in Algae, *J. Phycol.*, 41:453–465.

Verkleij, J.A.C., Kuijper, E., 2000. Various Approaches to Controlling Root Parasitic Weeds. *Biotechnology and Development Monitor*, No:41:16-19.

Zehhar, N., Labrousse, P., Arnaud, M.C., Boulet, C., Bouya, D., Fer, A., 2003. Study of resistance to *Orobancha ramosa* in host (oilseed rape and carrot) and non-host (maize) plants, *European Journal of Plant Pathology*, 109: 75–82.

## TABLULAR

Tablo 1. Ayçiçeği hastalıkları ve hastalık yapan organizmalar. ....	5
Tablo 2. Doğal çimlenme tetikleyicileri ve ilk defa izole edildiği bitki türleri.....	11
Tablo 3. SOD (1-2) ve CAT (3-4)' in ortaklaşa gerçekleştirmiş oldukları reaksiyonlar. ....	19
Tablo 4. Tüm ayçiçeği varyetelerine ait köklerin penetrasyon sonrası toplam protein içeriklerine ait bilgiler (mg/g Yaş ağırlık) (K: Kontrol, U:Uygulama).....	33
Tablo 5. Tüm ayçiçeği varyetelerinin penetrasyon sonrası kontrol ve uygulama gruplarından elde edilen toplam SOD içeriği.(K: Kontrol, U: Uygulama).....	36
Tablo 6. Tüm ayçiçeği varyetelerine ait POD aktivitesinde meydana gelen değişimler (K: Kontrol, U: Uygulama). ....	39



## ŞEKİLLER

Şekil 1. Toprak altında <i>Orobanche</i> gelişimi. ....	9
Şekil 2. Ayçiçeği köküne yapışmış <i>O. cumana</i> Wallr. bitkisi ve kısımları. ....	10
Şekil 3. Çimlenmiş ve çimlenmemiş <i>O. cumana</i> Wallr. tohumları. ....	10
Şekil 4. Alektrol' ün kimyasal formülü ..... 13	13
Şekil 5. GR 24' ün kimyasal formülü ..... 13	13
Şekil 6. Sorgolakton' un kimyasal formülü ..... 13	13
Şekil 7. Strigol' ün kimyasal formül ..... 13	13
Şekil 8. Deoksistrigol' ün kimyasal formülü ..... 13	13
Şekil 9. Orobanşol' ün kimyasal formülü ..... 13	13
Şekil 10. GR 24 uygulandıktan bir hafta sonra <i>O. cumana</i> Wallr. tohumlarındaki çimlenme. ....	14
Şekil 11. Tarlada enfekte olmuş PIONEER 4223 ayçiçeği varyetesi ait bitkiler..	17
Şekil 12. Bitki patojen ilişkisinde antioksidatif savunma modeli. ....	20
Şekil 13. Su kültüründe <i>O. cumana</i> Wallr. ve <i>H. annuus</i> L. birlikteliğinin şematik olarak gösterimi. ....	25
Şekil 14. Ayçiçeği fidelerinin su kültürüne alındığı ilk gün. ....	26
Şekil 15. Ayçiçeği fidelerine <i>O. cumana</i> Wallr. tohumlarının penetre edildiği gün. 26	26
Şekil 16. Protein standartı grafiği. ....	28
Şekil 17. ISERA varyetesi ait ayçiçeği bitkilerin köklerinin toplam protein içeriği (mg/g YA). ....	34
Şekil 18. SANAY varyetesi ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinin toplam protein içeriği (mg/g YA). ....	34
Şekil 19. PIONEER 4223 varyetesi ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinin toplam protein içeriği (mg/g YA). ....	35
Şekil 20. ISERA varyetesi ait ayçiçeği bitkilerinin köklerindeki toplam SOD miktarı (U g /YA). ....	37
Şekil 21. SANAY varyetesi ait ayçiçeği bitkilerinin köklerindeki toplam SOD miktarı (U g /YA). ....	37
Şekil 22. PIONEER 4223 varyetesi ait ayçiçeği bitkilerinin köklerindeki toplam SOD miktarı (U g /YA). ....	38
Şekil 23. ISERA varyetesi ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinde meydana gelen peroksidaz aktivitesi (unit/mg protein). ....	40
Şekil 24. SANAY varyetesi ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinde meydana gelen peroksidaz aktivitesi (unit/mg protein). ....	40
Şekil 25. PIONEER 4223 varyetesi ait ayçiçeği bitkilerinin köklerinde meydana gelen peroksidaz aktivitesi (unit/mg protein). ....	41

## Yaşam Öyküsü

Adı: SEFER DEMİRBAŞ  
Doğum Yeri ve Yılı: Hayrabolu/Tekirdağ 29/05/1979  
Adres: Barbaros Mahallesi Beldemiz Sitesi 17. Blok Daire:4 17020  
Çanakkale.  
Cep Tel: 0555 3338968  
Elektronik posta: sdemirbas@comu.edu.tr

## Eğitim Durumu

1985-1990: Cumhuriyet İlkokulu (Hayrabolu)  
1990-1993: Hüseyin Korkmaz Orta Okulu (Hayrabolu)  
1993-1997: Edirne Lisesi (Edirne)  
1998-2003: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (İzmir)  
2004- : Ç.O.M.Ü. F.B.E. Biyoloji Anabilim Dalı (Çanakkale)

## Staj ve Kurslar

1. International Workshop and Training Course On Photobioreactors (02.04.2003; 3 gün), EBİLTEM, İzmir.
2. AAS Uygulamalı Eğitim Kursu (01.04.2004; 2 Gün) EBİLTEM, İzmir.
3. Türk Tuborg A.Ş. Kalite Sağlama Departmanı (Staj), (01.07.2001-31.07.2001), İzmir.
4. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Ana Bilim Dalı Koproloji ve Seroloji Laboratuvarı (Staj), (01.07.2002-31.07.2002), İzmir.
5. İzmir Çevre İl Müdürlüğü Teknik Büro ve Çevre Laboratuvarı (Staj), (06.08.2002-15.09.2002), İzmir.
6. 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, 26-30 Haziran 2006, Kuşadası, Aydın.

## Proje ve Yayınlar

1. Bazı Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) varyetelerinde *Orobanche cumana* Wallr.'nın Süperoksit Dismütaz (SOD;EC.1.15.1.1) ve Peroksidaz (POD;EC.1.11.1.7) Aktiviteleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. ÇOMÜ BAP 2005/27 nolu proje. (Devam ediyor)
2. Gönüz, A., Acar, O., Tosunoğlu, M., Gül, Ç., **Demirbaş, S.**, 2006. Biyoloji II (Bitki ve Hayvan Fizyolojisi) Laboratuvar Kılavuzu, Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları Teksirler Serisi No: 14.

## Çalışma ve İlgili Alanları

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görevine devam etmekte olan Sefer Demirbaş'ın ilgi alanları arasında bilgisayar, bilim/teknoloji, çevre/ekoloji, halk dansları, evcil hayvan, internet, müzik, otomobil, sinema ve spor yer almaktadır.