



Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinde fitosiderofor üretimi ve ferrik redüktaz aktivitesi ile yapraklarında kloroz dereceleri

Ahmet Korkmaz, Güney Akınoğlu*, Ayhan Horuz

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Samsun

Özet

Bu çalışmanın amacı, demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinde fitosiderofor üretimi ve ferrik redüktaz aktivitesi ile yapraklarında kloroz derecelerini belirlemektir. Fitosiderofor salgısı üretimi ve ferrik redüktaz aktivitesi belirlemek amacıyla çeltik çeşitleri 10 gün süreyle demirsiz besin çözeltisi uygulayarak kum kültüründe yetiştirilmiştir. Ayrıca, kloroz derecesinin ve kloroza tolerans indeks değerinin belirlenmesi amacıyla 5×2 faktöriyel deneme deseninde çalışma yürütülmüş olup, bu çalışmada 5 farklı çeltik çeşidine 0 ve 45 µM Fe dozlarında Fe-EDDHA içeren besin çözeltisi uygulanmıştır. Taze kökte üretilen fitosiderofor miktarı en yüksek olan çeşidin Hamzadere çeltik çeşidi olduğu görülmüştür. Köklerde fitosiderofor üretimleri bakımından geri kalan diğer çeşitler arası fark istatistiksel olarak önemsiz olup, birbirlerine yakın bulunmuştur. Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitleri arasında taze köklerde ferrik redüktaz aktivitesi en yüksek olan çeşidin Ronaldo çeltik çeşidi olduğu; buna karşın, en düşük çeşidin ise Biga incisi çeltik çeşidi olduğu görülmüştür. Hamzadere ve Ronaldo çeltik çeşitlerinin yapraklarında gözlenen kloroz derecesi şiddetli olup, bu çeşitlerin demir noksanlığına tolerans indeks değerleri sırasıyla %41.24 ve %41.52 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, araştırmada incelenen çeltik çeşitleri arasında demir noksanlığına en hassas çeşidin Hamzadere çeltik çeşidi olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çeltik çeşidi, fitosiderofor, ferrik redüktaz aktivitesi, SPAD metre, kloroz derecesi

Ferric reductase activity and production of phytosiderophore in fresh roots of rice varieties grown under iron deficiency conditions and chlorosis degrees in leaves

Abstract

The aim of this study is to determine ferric reductase activity and production of phytosiderophore in fresh roots of rice varieties grown under iron deficiency conditions and chlorosis degrees in leaves. In order to determine phytosiderophore secretion production and ferric reductase activity, rice varieties were grown in sand culture by applying iron-free nutrient solution for 10 days. In addition, a 5×2 factorial trial design was conducted to determine the degree of chlorosis and the tolerance index value to chlorosis in rice varieties. In this study, a nutrient solution containing Fe-EDDHA in doses of 0 and 45 µM Fe was applied to 5 different rice varieties. Among the rice varieties, the most phytosiderophores produced in fresh roots were found in the Hamzadere rice variety. The difference between the remaining varieties in terms of phytosiderophore production in the roots was statistically insignificant and was found to be close to each other. Among the rice varieties grown under iron deficiency conditions, it was determined that Ronaldo variety had the highest ferric reductase activity in fresh roots, whereas the lowest variety was Biga incisi variety. The degree of chlorosis observed in the leaves of Hamzadere and Ronaldo rice varieties was found to be severe, and the tolerance index values of these varieties for iron deficiency were calculated as 41.24% and 41.52%, respectively. According to these results, it was determined that the most susceptible variety to iron deficiency among the rice varieties examined in the study was Hamzadere rice variety.

Keywords: Rice variety, phytosiderophore, ferric reductase activity, SPAD meter, chlorosis degree

© 2021 Türkiye Toprak Bilimi Derneği. Her Hakkı Saklıdır

Giriş

Demir (Fe), biyokütle üretiminin ve bitkisel ürün kalitesinin önemli bir belirleyicisidir (Briat ve ark., 2015). Fe eksikliğine toleranslı çeltik üretmek için kullanılan ilk yaklaşımın, bitkideki mugineik asitlerin (MA)

* Sorumlu yazar:

Tel. : 0362 3121919

E-posta : guney_akinoglu@ymail.com

Geliş Tarihi : 23 Mart 2021

Kabul Tarihi : 06 Nisan 2021

e-ISSN : 2146-8141

DOI : 10.33409/tbbbd.901788

biyosentezini arttırmak olduğu; ikinci yaklaşımın, çeltik bitkisinde Fe (III) ferrik redüktaz aktivitesini arttırmak olduğu; üçüncü yaklaşımın ise çeltik bitkisinde Fe homeostazı ile ilgili genleri kontrol eden transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu arttırmak olduğu bildirilmiştir (Masuda ve ark., 2017).

Oksitlenmiş topraklarda demir genellikle ferrik (Fe^{+3}) formda olup, oksitler ve hidroksioksitler şeklinde bağlanır. Fe^{+3} demirin çözünürlüğü çok düşüktür. Bununla birlikte, bitkilerin başlıca demir alımı Fe^{+2} şeklinde gerçekleşir (Lindsay ve Schwab, 1982). Dolayısıyla demirin bitkiler tarafından alımı için Fe^{+2} formuna indirgenmesi gerekir. Aksi takdirde, Fe^{+3} formunun alımı ve kullanımı için köklerin içindeki şelatlama ajanları tarafından taşınması gerekir. Bu nedenle, büyüme ortamındaki olumsuzluğa cevaben bitkilerin geliştirdiği iki mekanizma vardır (Romheld ve Marschner, 1986; Rogers ve Guerinot, 2002; Epstein ve Bloom, 2005). Bu mekanizmalardan birincisi protonların (H^+) bitki kökleri tarafından salınmasını takiben rizosferin pH değerinin düşmesidir. Rizosferdeki düşük pH düzeyi demiri çözebilir veya Fe^{+3} iyonunu Fe^{+2} formuna indirgeyebilir. Daha sonra indirgenmiş demir formu ise bitkide Fe^{+2} spesifik taşıma sistemi sayesinde plazma zarı boyunca taşınır. Bu mekanizma türü esas olarak dikotiledon bitkilerde ve otsu monokotiledonlarda gerçekleşir (Epstein ve Bloom, 2005). Bitkilerin demir alımı için indüklediği ikinci mekanizma ise bitki kökleri tarafından fitosideroforların (demir taşıyıcıları) salınmasıdır. Bu fitosideroforlar Fe^{+3} iyonunu Fe^{+2} iyonuna indirgemenin Fe^{+3} ile bir kompleks oluşturur ve bu Fe^{+3} -siderofor kompleksi daha sonra bitkinin kök hücre plazma membranları boyunca taşınır (Epstein ve Bloom, 2005). Takagi ve ark. (1984), şelatlayıcı bileşiklerin veya fitosiderofor salınmasının, dikotiledon bitkilere özgü bir durum olmadığını, ancak bu durumun çim veya otsu bitkiler için spesifik olduğunu belirtmiştir. Şelatlama bileşikleri, protein yapısında olmayan amino asitler, mugineik asit ve avenik asitler olarak karakterize edilir. Demir eksikliği koşulları altında yetiştirilen bazı Gramineae familyasındaki bitkilerin, mugineik asit familyasındaki fitosiderofor (PS) denen bir maddeyi fazla miktarda salgıladığı bildirilmiştir. Buğdaygil bitkilerinin demir eksikliğine toleranslarının, Fe noksanlık stresinde salgıladıkları fitosiderofor miktarına bağlı olduğu rapor edilmiştir (Takahashi, 2003). Fenolik maddeler (kafeik asit veya asit alifatik) ve doğal şelatlar (fitosideroforlar) gibi kökler tarafından salınan birçok indirgeyici bileşiklerin, demir çözünürlüğünü artırabildiği belirtilmiştir (Deiana ve ark., 2003). Aynı şekilde, toprak mikrobiyal aktivitesi Fe ediniminde önemli bir rol oynar (Roco ve ark., 2003). Çeltik bitkileri, Fe (II)'yi topraktan OsIRT1 taşıyıcı (Strateji I ile ilgili sistem) ile alırken; Fe (III)'ü fitosiderofor bazlı bir sistem (Strateji II sistemi) aracılığıyla alır. Fe sınırlayıcı ortam koşullarına cevaben, yüksek pH'lı topraklarda kuvvetli bir şekilde büyüyen bir bitki türü olan arpa, 2'-deoksimugineik asit (DMA), MA ve 3-epihidroksimugineik asit (epiHMA) türevleri dahil olmak üzere büyük miktarlarda PS salgılar. Buna karşılık, yüksek pH'lı topraklarda Fe eksikliği klorozuna karşı oldukça hassas olan çeltik bitkisi Fe eksikliğine yanıt olarak, arpadan çok daha düşük seviyelerde ve daha kısa sürelerde sadece DMA salgılar (Mori ve ark., 1991; Higuchi ve ark., 1996). Fe eksikliği sırasında çeltik bitkisi, günlük bir paterni takiben DMA biyosentetik genlerinin ekspresyonunu indükler (Nozoye ve ark., 2011). Ayrıca çeltik bitkisinin günün sabah saatlerinde salgıladığı DMA seviyesi, öğleden sonra veya gece saatlerinde salgıladığı DMA seviyesinden daha yüksektir (Nozoye ve ark., 2014). Bununla birlikte, yulaf gibi bitkilerin aksine, genç çeltik bitkilerinin düşük fitosiderofor üretiminden dolayı demir noksanlığına daha duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Mori ve ark., 1991).

Inoue ve ark., (2003) çeltik bitkisinde Fe eksikliğinin, DMA-biyosentez genlerinden OsNAS1, OsNAS2, OsNAAT1 ve OsDMAS1'in ekspresyonunu kuvvetli bir şekilde indüklediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca bu genlerin bitkinin floem dokularında tercihen eksprese edildiğini ve Fe eksikliğine yanıt olarak tüm kök ve yaprak dokularında kuvvetle indüklendiğini ortaya koymuştur.

Demir-redüktaz aktivitesi, hücre seviyesinde Fe kullanımının bir göstergesidir (Daşgan ve ark., 2002). Dikotiledon ve çim olmayan monokotiledon bitkilerde bazı Fe düzenleyici proteinler, ferrik redüktazlar, demir taşıyıcıları ve H^+ -ATPaz'lar, kökler tarafından demirin alınmasında anahtar rol oynar (Hell ve Stephan, 2003). Fe (III) redüktazlar veya ferrik redüktazlar, hücre dışında Fe (III)'ün Fe (II)'ye indirgenmesi için sitoplazmik NAD(P)H'den elektronları aktaran entegre plazma membran proteinleridir (Lucena ve ark., 2006).

Son on yılda, yaprak klorofil içeriğini hızlı ve tahribatsız bir şekilde değerlendirmek için çeşitli optik teknikler geliştirilmiştir (Markwell ve ark., 1995; Richardson ve ark., 2002). Bitkinin sağlam yaprakları tarafından, ışığın belirli dalga boylarının absorpsiyonuna veya yansımaya dayanan bu yöntemler, yakın bir zamanda geleneksel ıslak kimyasal ekstraksiyon yöntemlerinin yerini almıştır. Bununla birlikte, optik yöntemlerin performansını değerlendirmek amacıyla, karşılaştırmaya esas olması bakımından bu tür kimyasal ekstraksiyon teknikleri de gerekmektedir. Diğer yandan, SPAD metre, yaprakların nisbi klorofil

içeriğini belirtmek için kullanılabilir olsa da yaprakların mutlak klorofil içeriği veya konsantrasyonunu belirtmez (Richardson ve ark., 2002).

Bu çalışmanın amacı, demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinde fitosiderofor üretimi ve ferrik redüktaz aktivitesi ile yapraklarında kloroz derecelerini belirlemektir.

Materyal ve Yöntem

Bitkinin taze köklerinden salgılanan fitosiderofor miktarı, Andiç (2011), tarafından bildirilen metoda göre yapılmıştır. Köklerinde fitosiderofor üretimi belirlenen bazı çeltik çeşitleri 1) Biga İncisi, 2) Osmançık-97, 3) Hamzadere, 4) Ronaldo, 5) Edirne'dir.

Fitosiderofor salgısı üretimi ve ferrik redüktaz aktivitesi belirlemek amacıyla çeltik çeşitleri 10 gün süreyle demirsiz besin çözeltisi uygulayarak kum kültüründe yetiştirilmiştir. Ayrıca, kloroz derecesinin ve kloroza tolerans indeks değerinin belirlenmesi amacıyla 5×2 faktöriyel deneme deseninde çalışma yürütülmüş olup, bu çalışmada 5 farklı çeltik çeşidine 0 ve 45 µM Fe dozlarında Fe-EDDHA içeren aşağıda kimyasal bileşeni verilen besin çözeltisi uygulanmıştır.

500 µM NH₄NO₃; 60 µM NH₄H₂PO₄; 230 µM K₂SO₄; 210 µM CaCl₂; 160 µM MgSO₄·7H₂O; 2.5 µM MnCl₂; 0.75 µM (NH₄)₆Mo₇O₂₄; 3.2 µM H₃BO₃; 0.1 µM CuSO₄; 2.0 µM ZnSO₄·7H₂O

Gündüz iklim koşullarına geçildikten 1.5 saat sonra bitkiler kendi besin çözeltileri içerisinde çıkarılmış ve içerisinde 500 ml saf su bulunan kaplara transfer edilmiştir. Demirsiz besin çözeltisinde yetiştirilen çeltik bitkilerinin köklerinden salgılanan fitosideroforların saf su ortamında toplanması amacıyla burada 3 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda, bir cam deney tüpünün içerisine salgı örneklerinden 8 mL alınıp, üzerine de 2 mL Fe(OH₃) çözeltisi eklenmiş, ardından çalkalama cihazında 120 rpm'de 45 dakika çalkalama işleminden sonra mavi bant filtre kâğıdı (Whatman Grade 44-1444-110) ile süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kök süzüklerinde Fe konsantrasyonu, ICP cihazı (Agilent 770xICP-MS) ile ölçülmüş olup, fitosiderofor salgılanma oranı Fe(OH₃)'den çözünen serbest Fe miktarı ile belirlenmiştir. ICP cihazında demir okumaları, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Samsun Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde bulunan laboratuvarında yapılmıştır.

Demir noksanlığı şartlarında demirsiz besin çözeltisi verilerek kum kültüründe yetiştirilen 10 günlük bazı çeltik çeşitlerinin taze köklerinde ferrik redüktaz aktivitesi (FRA) tayini Ojeda ve ark., (2004) tarafından bildirilen metoda göre yapılmıştır. Bu metoda göre; 0.1 gram taze çeltik bitkisi kökü hassas bir şekilde tartılıp, bir deney tüpünün içerisine alınmıştır. Bu deney tüpünün içerisine 2.0 mL 0.2 mM kalsiyum sülfat çözeltisi ilave edilerek, 5 dakika çalkalanmış ve ardından kalsiyum sülfat numuneden uzaklaştırılmıştır. Kalan numune üzerine 2 mL çözelti [5 mM MES buffer, 2-(N-Morpholino) ethansulfonic acid, (pH 5.5), 0.1 mM Fe⁺³ EDTA, 10 mM CaSO₄ ve 0.3 mM Na-BPDS (sodium bathophenanthroline disulfonic asit) ilave edilmiş ve 23°C'de 1 saat su banyosunda bekletilmiştir. İçinde taze bitki kökü olmayan kontrol tüpüne de aynı işlemler uygulanmıştır. Taze kökte ferrik redüktaz enzim aktivitesi Fe⁺²-BPDS formunda olup, spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. 1 mL'lik kuvars küvetler kullanılarak 535 nm'de ölçülen absorpsiyon okuma değerine göre aşağıda belirtilen formül yardımıyla taze kökte ferrik redüktaz aktivite değeri hesaplanmıştır (Ojeda ve ark., 2004).

$$\text{Ferrik redüktaz aktivitesi, } \mu\text{mol / saat / g taze madde} = (A_{535} \times 2 \times 1000) / (22.14 \times W)$$

Burada; A₅₃₅ = 535 nm'deki absorpsiyon okuma değeri, 2 mL = Son hacim, W = Örnek miktarı, g taze madde, 22,14 = Spesifik katsayı.

Bitkilerde gözlenen demir noksanlığı semptomları 1-5 skalasına (yaprak üzerindeki klorotik lekelerin şiddeti) göre; [1:Çok şiddetli, 2:Şiddetli, 3:Orta düzeyde şiddetli, 4:Az şiddetli, 5:Çok hafif veya yok] sınıflandırılmıştır (Torun ve ark., 2017).

Kum ortamında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin demir noksanlığına tolerans indeks değeri (%) aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesap edilmiştir.

$$\text{Demir noksanlığına tolerans indeks değeri (\%)} = (A / B) \times 100$$

A=Kontrol uygulamasında (Fe0) bir çeşide ait sap kuru madde miktarı (g), B=Yeterli demir konsantrasyonunda (45 µM Fe) bütün çeşitlerin ortalama sap kuru madde miktarı (g).

Portatif SPAD metre cihazı (Konica Minolta SPAD-502 Plus) ile yaprakların tam ortasından ölçümler alınarak, bitkilerin SPAD metre değerleri belirlenmiştir.

İstatistiksel Analizler

Varyans analizleri ve Duncan testi, SPSS 17.0 paket programı ile yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Demir noksanlığı şartlarında (Fe0) yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinde fitosiderofor salgısı üretimi

Demir noksanlığı şartlarında (Fe0) yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinden salgılanan fitosiderofor miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 1’de, taze köklerinden salgılanan fitosiderofor miktarları ise Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 1. Demir noksanlığı şartlarında (Fe0) yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinden salgılanan fitosiderofor miktarlarına ilişkin varyans analiz sonuçları

	SD	KO	F
Çeşit	4	0.005	5.0**
Hata	10	0.001	
Toplam	14		

*p<0.01; SD: Serbestlik derecesi

Çizelge 2. Demir noksanlığı şartlarında (Fe0) yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinden salgılanan fitosiderofor miktarları

Çeltik çeşidi	Fitosiderofor salgısı ($\mu\text{mol}/10 \text{ bitki } 4\text{h}^{-1}$)
Biga incisi	0.069B
Osmancık-97	0.083B
Hamzadere	0.120A
Ronaldo	0.044B
Edirne	0.084B

*Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasında % 5 düzeyinde fark yoktur

Çizelge 1 ve 2’nin incelenmesinden anlaşılacağı üzere, fitosiderofor üretimleri bakımından çeşitler arasındaki farkın p<0.01 seviyesinde istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Taze kökte üretilen fitosiderofor miktarı en yüksek olan çeşidin Hamzadere çeltik çeşidi olduğu görülmüştür. Köklerde fitosiderofor üretimleri bakımından geri kalan diğer çeşitler arası fark istatistiksel olarak önemsiz olup, birbirlerine yakın bulunmuştur. Salgıladıkları fitosiderofor miktarları bakımından çeltik çeşitleri büyükten küçüğe doğru sırasıyla; Hamzadere > Edirne > Osmancık-97 > Biga incisi > Ronaldo şeklinde sıralanmıştır (Çizelge 2).

Demir sınırlayıcı ortam koşullarına cevaben, yüksek pH’lı topraklarda kuvvetli bir şekilde büyüyen gelişebilen bir bitki türü olan arpa, 2’-deoksimumineik asit (DMA), MA ve 3-epihidroksimumineik asit (epiHMA) türevleri dahil olmak üzere büyük miktarlarda PS salgılar. Buna karşılık, yüksek pH’lı topraklarda Fe eksikliği klorozuna karşı oldukça hassas olan çeltik bitkisi Fe eksikliğine yanıt olarak, arpadan çok daha düşük seviyelerde ve daha kısa sürelerde sadece DMA salgılar (Mori ve ark., 1991; Higuchi ve ark., 1996). Fe eksikliği sırasında çeltik bitkisi, günlük bir paterni takiben DMA biyosentetik genlerinin ekspresyonunu indükler (Inoue ve ark., 2009; Nozoye ve ark., 2011). Ayrıca çeltik bitkisinin günün sabah saatlerinde salgıladığı DMA seviyesi, öğleden sonra veya gece saatlerinde salgıladığı DMA seviyesinden daha yüksektir (Nozoye ve ark., 2014). Bununla birlikte, yulaf gibi bitkilerin aksine, genç çeltik bitkilerinin düşük fitosiderofor üretiminden dolayı demir noksanlığına daha duyarlı olduğu rapor edilmiştir (Mori ve ark., 1991).

Bitkilerin demir alımı için indüklediği ikinci mekanizma ise bitki kökleri tarafından fitosideroforların (demir taşıyıcıları) salınmasıdır. Bu fitosideroforlar Fe^{+3} iyonunu Fe^{+2} iyonuna indirgemediği Fe^{+3} ile bir kompleks oluşturur ve bu Fe^{+3} - siderofor kompleksi daha sonra bitkinin kök hücre plazma membranları boyunca taşınır (Epstein ve Bloom, 2005). Takagi ve ark., (1984) şelatlayıcı bileşiklerin veya fitosiderofor salınmasının, dikotiledon bitkilere özgü bir durum olmadığını, ancak bu durumun çim veya otsu bitkiler için spesifik olduğunu belirtmiştir. Şelatlama bileşikleri, protein yapısında olmayan amino asitler, mugineik asit

ve avenik asitler olarak karakterize edilir. Ek olarak, genom dizilimi, çeltik bitkisinin ferrik redüktaz genleri içerdiğini göstermiştir (Vasconcelos ve ark., 2004).

Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinde ferrik redüktaz aktivitesi

Demir noksanlığı şartlarında (Fe0) yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinde belirlenen ferrik redüktaz aktivitesine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 3'te, ferrik redüktaz aktivitesi değerleri ise Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 3. Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinde belirlenen ferrik redüktaz aktivitesine ilişkin varyans analiz sonuçları

	SD	KO	F
Çeşit	4	36054.73	5156.57**
Hata	10	6.99	
Toplam	14		

*p<0.01; SD: Serbestlik derecesi

Çizelge 2. Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin taze köklerinde belirlenen ferrik redüktaz aktivitesi değerleri

Çeltik çeşidi	Ferrik redüktaz aktivitesi ($\mu\text{mol/saat/g}$ taze kök)
Biga incisi	349.26D
Osmancık-97	462.85C
Hamzadere	588.06B
Ronaldo	602.38A
Edirne	585.38B

*Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasında % 5 düzeyinde fark yoktur

Çizelge 3 ve 4'ün incelenmesinden anlaşılacağı üzere, çeşitlerin ferrik redüktaz aktivite değerleri arasındaki farkın p<0.01 seviyesinde istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitleri arasında taze köklerde ferrik redüktaz aktivitesi en yüksek olan çeşidin Ronaldo çeltik çeşidi olduğu; buna karşın, en düşük çeşidin ise Biga incisi çeltik çeşidi olduğu görülmüştür. Taze köklerde ferrik redüktaz aktivite değerleri bakımından çeltik çeşitleri büyükten küçüğe doğru sırasıyla; Ronaldo > Hamzadere > Edirne > Osmancık-97 > Biga incisi şeklinde sıralanmıştır (Çizelge 4).

Demir-redüktaz aktivitesi, hücre seviyesinde Fe kullanımının bir göstergesidir (Daşgan ve ark., 2002). Dikotiledon ve çim olmayan monokotiledon bitkilerde bazı Fe düzenleyici proteinler, ferrik redüktazlar, demir taşıyıcıları ve H⁺-ATPaz'lar, kökler tarafından demirin alınmasında anahtar rol oynar (Hell ve Stephan, 2003). Fe (III) redüktazlar veya ferrik redüktazlar, hücre dışında Fe (III)'ün Fe (II)'ye indirgenmesi için sitoplazmik NAD(P)H'den elektronları aktaran entegre plazma membran proteinleridir (Lucena ve ark., 2006). Bienfait ve ark., (1987) demir noksanlığı şartları altında yetiştirdikleri patatesin, demir noksanlık stresine cevap olarak köklerinde ferrik redüktaz aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir.

Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen bazı çeltik çeşitlerinin yapraklarında gözlenen kloroz derecesi ve demir noksanlığına tolerans indeksi

Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen bazı çeltik çeşitlerinin yapraklarında gözlenen kloroz derecesi ve demir noksanlığına tolerans indeksine ilişkin değerler Çizelge 5'te verilmiştir. Kum ortamında demir noksanlığı (Fe0) şartlarında yetiştirilen Hamzadere ve Ronaldo çeltik çeşitlerinin yapraklarında gözlenen kloroz derecesi şiddetli olup, bu çeşitlerin demir noksanlığına tolerans indeks değerleri sırasıyla % 41.24 ve % 41.52 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, araştırmada incelenen çeltik çeşitleri arasında demir noksanlığına en hassas çeşidin Hamzadere çeltik çeşidi olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 5. Kum kültüründe yetiştirilen çeltik çeşitlerinin yapraklarında gözlenen kloroz derecesi ve çeşitlerin demir noksanlığına tolerans indeks değerleri

Çeltik çeşidi	Kloroz derecesi	Demir noksanlığına tolerans indeksi, %	SPAD metre okuma değerleri
Biga İncisi	1	42.10	9.90
Osmancık-97	2	47.45	15.58
Hamzadere	1	41.24	10.47
Ronaldo	1	41.52	18.50
Edirne	3	49.15	13.40

Maruyama ve ark. (2005), çeltik bitkisinin genç yapraklarının Fe konsantrasyonunda bir artış olmasına rağmen, SPAD metre değerinin azaldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar çeltik bitkisinin yaşlı yapraklarda Fe biriktirdiğini; arpada ise demirin genç yapraklara verimli bir şekilde dağıldığını belirterek, çeltikte ikinci yaprağın SPAD metre değerlerinin sürekli yüksek kaldığını da bildirmişlerdir. **Rong-li ve ark. (2012)**, genç çeltik yapraklarında klorozun 0.1 mmol/L Fe-EDTA uygulamasından 4 gün sonra gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar 3. günde alınan SPAD metre değerlerinin kontrol bitkilerde, demir uygulanan bitkilere göre önemli derecede düşük bulunduğunu belirtmişlerdir. 3. günden sonra SPAD değerleri kontrolde sürekli azalma gösterirken; demir uygulanan bitkilerde azalma görülmemiştir. Bitkide demir noksanlığı halinde, SPAD metre değerlerinin düşmesine rağmen yapılan çalışmada demir noksanlığı kök ve sap kuru madde üretimini etkilememiştir. **Hirai ve ark., (2007)** tarafından yapılan bir araştırmada, arpa bitkisinin demir içeriğinin çeltik bitkisinden daha yüksek olmasa bile nispeten yüksek bir klorofil indeks (SPAD) değerini demirce noksan koşullar altında koruduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacılar ayrıca, arpa bitkisinde genç klorotik yaprakların uzun süreli demir noksanlığı şartlarında dahi gelişebildiğini rapor etmişlerdir.

Sonuçlar

Taze kökte üretilen fitosiderofor miktarı en yüksek olan çeşidin Hamzadere çeltik çeşidi olduğu görülmüştür. Köklerde fitosiderofor üretimleri bakımından geri kalan diğer çeşitler arası fark istatistiksel olarak önemsiz olup, birbirlerine yakın bulunmuştur. Salgıladıkları fitosiderofor miktarları bakımından çeltik çeşitleri büyükten küçüğe doğru sırasıyla; Hamzadere > Edirne > Osmancık-97 > Biga incisi > Ronaldo şeklinde sıralanmıştır.

Demir noksanlığı şartlarında yetiştirilen çeltik çeşitleri arasında taze köklerde ferrik redüktaz aktivitesi en yüksek olan çeşidin Ronaldo çeltik çeşidi olduğu; buna karşın, en düşük çeşidin ise Biga incisi çeltik çeşidi olduğu görülmüştür. Taze köklerde ferrik redüktaz aktivite değerleri bakımından çeltik çeşitleri büyükten küçüğe doğru sırasıyla; Ronaldo > Hamzadere > Edirne > Osmancık-97 > Biga incisi şeklinde sıralanmıştır.

Hamzadere ve Ronaldo çeltik çeşitlerinin yapraklarında gözlenen kloroz derecesi şiddetli olup, bu çeşitlerin demir noksanlığına tolerans indeks değerleri sırasıyla % 41.24 ve % 41.52 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre, araştırmada incelenen çeltik çeşitleri arasında demir noksanlığına en hassas çeşidin Hamzadere çeltik çeşidi olduğu belirlenmiştir.

Teşekkür

Bu çalışma, Güney Akınoğlu'nun doktora tezinden hazırlanmıştır.

Denemede materyal olarak kullanılan çeltik çeşitlerinin teminini sağlayan; T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne teşekkür ederiz. Ayrıca, bu çalışmanın laboratuvar analizleri aşamasındaki katkılarından dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü asistanlarına çok teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Andiç E, 2011. Buğday'da kükürt-demir ve kükürt-çinko beslenmesinin mikro besin elementi ve azot konsantrasyonuna etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Bienfait HF, 1989. Prevention of stress in iron metabolism of plants. *Acta Bot. Neerl.*, 38:105-129.
- Briat J-F, Dubos C, Gaymard F, 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends Plant Sci.*, 20(1):33-40.
- Daşgan HY, Romheld V, Çakmak I, Abak K, 2002. Physiological root responses of iron deficiency susceptible and tolerant tomato genotypes and their reciprocal F1 hybrids. *Plant Soil*, 241:97-104.
- Deiana S, Premoli A, Senette C, Gessa C, 2003. Role of uronic acid polymers on the availability of iron to plants. *J. Plant Nutr.*, 26(10-11):1927-1941.
- Epstein E, Bloom AJ, 2005. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*, 2nd Edn. Sunderland, MA: Sinauer.
- Hell R, Stephan UW, 2003. Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. *Planta*, 216: 541-551.
- Higuchi K, Kanazawa K, Nishizawa NK, Mori S, 1996. The role of nicotianamine synthase in response to Fe nutrition status in Gramineae. *Plant Soil*, 178(2):171-177. doi: 10.1007/BF00011580
- Hirai M, Higuchi K, Sasaki H, Suzuki T, Maruyama T, Yoshiba M, Tadano T, 2007. Contribution of iron associated with high-molecular-weight substances to the maintenance of the SPAD value of young leaves of barley under iron-deficient conditions. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 53(5):612-620.

- Inoue H, Higuchi K, Takahashi M, Nakanishi H, Mori S, Nishizawa NK, 2003. Three rice nicotianamine synthase genes, OsNAS1, OsNAS2, and OsNAS3 are expressed in cells involved in longdistance transport of iron and differentially regulated by iron. *Plant J*, 36:366-381.
- Lindsay WL, Schwab AP, 1982. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *J. Plant Nutr.*, 5:821-840.
- Lucena C, Waters BM, Romera FJ, Garcia MJ, Morales M, Alcantara E, Perez-Vicente R, 2006. Ethylene could influence ferric reductase, iron transporter, and H⁺-ATPase gene expression by affecting FER (or FER-like) gene activity. *J. Exp. Bot.*, 57(15):4145-4154.
- Markwell J, Osterman J, Mitchell J, 1995. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynth.*, 46(3):467-472.
- Maruyama, T., Higuchi, K., Yoshida, M., Tadano T., 2005. Comparison of Iron Availability in Leaves of Barley and Rice. *Soil Sci. Plant Nutr*, 51 (7), 1035-1042.
- Masuda, M, Shimochi E, Hamada T, Senoura T, Kobayashi T, Aung MS, Ishimaru Y, Ogo Y, Nakanishi H, Nishizawa NK, 2017. A new transgenic rice line exhibiting enhanced ferric iron reduction and phytosiderophore production confers tolerance to low iron availability in calcareous soil. *PLoS ONE* 12 (3).
- Mori S, Nishizawa N, Hayashi H, Chino M, Yoshimura E, Ishihara J, 1991. Why are young rice plants highly susceptible to iron deficiency? *Plant Soil*, 130(1):143-156.
- Nozoye T, Nagasaka S, Bashir K, Takahashi M, Kobayashi, T, Nakanishi H, Nishizawa NK, 2014. Nicotianamine synthase 2 localizes to the vesicles of iron-deficient rice roots, and its mutation in the YXX ϕ or LL motif causes the disruption of vesicle formation or movement in rice. *Plant J.*, 77(2):246-60. doi: 10.1111/tpj.12383
- Nozoye T, Nagasaka S, Kobayashi T, Takahashi M, Sato Y, Uozumi N, Nakanishi H, Nishizawa NK, 2011. Phytosiderophore efflux transporters are crucial for iron acquisition in graminaceous plants. *J. Biol. Chem.*, 286(7):5446-5454.
- Ojeda M, Schaffer B, Davies FS, 2004. Root and leaf ferric chelate reductase activity in pond apple and soursop. *J. Plant Nutr.*, 27:1381-1393.
- Richardson AD, Duigan SP, Berlyn GP, 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytol.*, 153(1):185-194.
- Rogers EE, Guerinot ML, 2002. FRD3, a member of the multidrug and toxin efflux family, controls iron deficiency responses in Arabidopsis, *Plant Cell*, 14:1787-1799.
- Romheld V, Marschner, H, 1986. Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. *Plant Physiol.*, 80:175-180.
- Rong-li S, Hong-mei H, Xiao-yun F, Karim MR, Fu-suo Z, Chun-qin Z (2012) Responses of aerobic rice (*Oryza sativa* L.) to iron deficiency. *J. Integr Agric*, 11(6):938-945
- Rroco E, Kosegarten H, Harizaj F, Imani J, Mengel K, 2003. The importance of soil microbial activity for the supply of iron to sorghum and rape. *Eur. J. Agron.*, 19: 487-493.
- Takagi S, Kamei S, Takemoto T, 1984. Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. *J. Plant Nutr.*, 7:469-477.
- Torun A, Erdem H, Torun MB, 2017. Ayçiçeği genotiplerinin demir noksanlığına karşı tolerans düzeylerinin belirlenmesi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknolojisi Dergisi*, 5 (11):1323-1329.
- Vasconcelos MW, Musetti W, Li CM, Datta SK, Grusak MA, 2004. Functional analysis of transgenic rice (*Oryza Sativa* L.) transformed with and Arabidopsis thaliana ferric reductase (AtFRO2). *Soil Sci. Plant Nutr.*, 50(7):1151-1157.