



## DERLEME /REVIEW

### FOTOSENTETİK ETKİNLİĞİ ÖLÇME YÖNTEMLERİ: KLOROFİL FLUORESANSI

Nuran Çiçek<sup>1</sup>, Hüsnü Çakırlar<sup>2</sup>

#### ÖZ

Bu çalışmada, fotosentetik etkinliği ölçme yöntemlerinden klorofil fluoressansı üzerine bir derleme yapılmıştır. Geçmişten günümüze kullanılan yöntemlerden kısaca bahsedilmiş, bizim için yeni bir teknik olan klorofil fluoressansı hakkında temel bilgiler verilmiştir. Klorofil fluoressansı, çok uzun zamandan beri bilinmesine rağmen, kullanımı son on yıldır yaygın hale gelmiştir. Özellikle bitki stres fizyolojisinde kullanılan önemli tekniklerden birisidir. Kullanım kolaylığı, hızlı, doğru ve güvenilir olması, canlı örneğe zarar vermemesi bu tekniğin en önemli özelliklerindedir.

**Anahtar Kelimeler** : Klorofil fluoressansı, Fotosentez, Bitki stres fizyolojisi

### THE MEASUREMENT METHODS OF PHOTOSYNTHETIC EFFICIENCY: CHOROPHYLL FLUORESCENCE

#### ABSTRACT

In this study, chlorophyll fluorescence from measurement methods of photosynthetic efficiency was reviewed. Techniques used from previous to now were shortly mentioned and basic information about chlorophyll fluorescence that is new technique for us was given. Although chlorophyll fluorescence has been known for a long time, its usage has been common last decade. It is one of the most important techniques used in especially plant stress physiology. Being rapid, reliable and accurate, non-destructive are the most important features of this technique.

**Keywords:** Chlorophyll fluorescence, Photosynthesis, Plant stress physiology

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06800, Beytepe, Ankara.

**Tel:** 0 312 297 80 07; **Faks:** 0 312 299 20 28; **E-posta:** ncicek@hacettepe.edu.tr

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06800, Beytepe, Ankara.

## 1. GİRİŞ

Bitkilerin büyüme ve gelişmesinde gerekli olan materyallerin üretimi için fotosentez çok önemlidir. Fotosentez tüm canlılar için önemli bir olay olduğundan, bu konuda pek çok çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Fotosentetik etkinliğin ölçülmesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Eskiden bu yöntemler genellikle gaz alış verişinin, absorbe edilen karbondioksitin, havaya verilen oksijenin ya da fotosentez anında oluşturulan karbohidratlardan ileri gelen ağırlık artışının ölçülmesi ilkesine dayandırılmıştır (Kacar, 1996). Günümüzdeki yöntemlerden bazıları da bu ilk yöntemlerden geliştirilmesine rağmen, o zamanlarda tüm bu yöntemler solunumdan dolayı meydana gelen hataya sahiptir. Çünkü solunumda meydana gelen gaz alış verişinin fotosentez üzerindeki etkisi göz ardı ediliyordu. Fotosentetik etkinliğin ölçülmesinde, fotosentezi ifade eden basit bir denklemden yola çıkılarak metotlar geliştirilmiştir. Alınan karbondioksit, verilen oksijen ya da sentezlenen madde miktarı veya elektron taşınım (ışık) reaksiyonlarındaki ışık enerjisi kullanımı belirleterek fotosentetik etkinlik ölçülmeye çalışılmıştır.

Bu derlemedeki amaç, fotosentetik etkinliğin ölçüldüğü metotları kısaca özetleyip bu metotlardan klorofil fluoresansının temel mekanizması, bazı parametreleri ve uygulaması hakkında bilgi vermektir.

## 2. FOTOSENTETİK ETKİNLİĞİ ÖLÇMEDE KULLANILAN BAZI YÖNTEMLER

Bu derlemede daha çok klorofil fluoresansı hakkında temel bilgiler verilmesi amaçlandığından, diğer yöntemlerden çok kısa bahsedilecektir. Fotosentetik etkinliği ölçme yöntemlerini, eski yöntemler ve modern yöntemler olmak üzere iki başlık altında incelemek mümkündür (Hunt, 2003). İlk zamanlarda, teknik alt yapının gelişmemesi nedeniyle ilk geliştirilen yöntem, fotosentezde organik madde yapımını esas alan ve buna göre ağırlık değişimleri ile karbohidrat belirlenmesine dayanan klasik yarım yaprak ve disk yöntemidir (Sebanek, 1992). Diğer eski yöntemlerden biri de, manometrik yöntemdir. Bu yöntemde, fotosentez sırasında meydana gelen gaz alış verişinde ortaya çıkan basınç farklarının kapalı sistemde özel bir manometre ile ölçülmesi esasına dayanır (Hunt, 2003). Radyoaktiviteyi ölçme yöntemi de, fotosentez miktarını belirlemede kullanılan eski bir yöntemdir. Belirli koşullarda bulundurulmuş bitkilere radyoaktif karbon içeren  $C^{14}O_2$  verilip belli bir süre sonunda bitkide radyoaktif karbon miktarı özel cihazlarla belirlenir ve bitkideki fotosentez hızı saptanabilir (Hunt, 2003). Fotosistem II (PS II) aktivitesinin ölçülmesi ile de fotosentetik aktivite belirlenebilir. İzole edilen kloroplast özütlerinde, diklorofenol indofenol (DCPIP) gibi indirgeyici maddeler kullanılarak fotosentetik aktivite spektrofotometrik olarak saptanabilir. Bu yöntem diğer yöntemlere göre daha yenidir ve genellikle fotosentetik aktivitenin belirlendiği çalışmalarda kullanılmaktadır (Chetti ve Nobel, 1987; Çiçek ve Çakırlar, 2004). Yukarıda açıklanan metotlar daha çok fotosentetik materyallerden özütler hazırlanarak materyalin fotosentetik

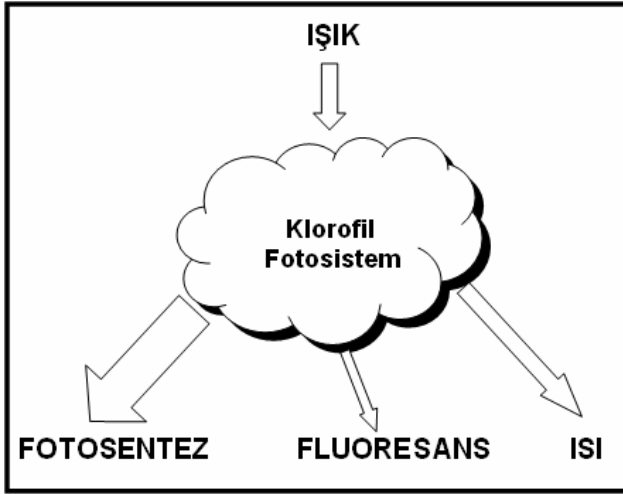
aktivitesinin belirlendiği yöntemlerdir. Aynı materyal üzerinde daha sonra inceleme yapmaya olanak yoktur ve materyalin o andaki fotosentetik etkinliği hakkında bilgi verir. Mikroelektronikteki gelişmeler daha ileri ve hassas sistemlerin geliştirilmesine olanak vermiştir.

Modern yöntemlerde fotosentetik ölçümler, sistem ve hesaplamalar hakkında bilgiye gerek kalmaksızın sadece doğru düğmeye basılarak yapılabilmektedir (Long vd., 1996). Fotosentetik etkinliğin ölçüldüğü modern yöntemlerden birisi gaz değişiminin belirlenmesidir. İki şekilde yapılabilir. Birincisi, oksijen değişiminin ölçülmesidir. Bitkilerde, ışık varlığında salınan ve ışık yokluğunda harcanan oksijenin belirlenmesinin fotosentez ve solunumu ölçmede iyi bir yaklaşım olduğu bildirilmektedir (Hall ve Rao, 1999). Bu yöntem eskiden de kullanılmış ancak sonraları teknikte çok büyük değişiklikler yapılmıştır. Günümüzde, canlılardaki metabolik olaylar sırasındaki oksijen alınışını veya verilmesini belirleyen hassas oksijen elektrotları geliştirilmiştir (Hunt, 2003). Elektrot, polarograf prensibine göre çalışır ve çok düşük konsantrasyonlardaki oksijen miktarını saptayabilecek hassaslıktadır. Bu metotta, genellikle Clark tip oksijen elektrodu kullanılmaktadır (Hall ve Rao, 1999; Gonzalez vd., 2001). Gaz değişiminin ölçüldüğü ikinci metot ise karbondioksit alımının ölçülmesidir. Son yıllarda, daha hassas ve yoğun olarak kullanılan infra-red gaz analizatörü cihazı geliştirilmiştir. Bu cihazla,  $CO_2$ 'in absorbladığı belirli dalga boyuna sahip ışıkta, kullanılan ve salınan  $CO_2$  miktarı belirlenmektedir (Newman, 1994; Long vd., 1996; Tamayo vd., 2001; Hunt, 2003).

## 3. KLOROFİL FLUORENSANSI

Klorofil fluoresansı, fotosentetik etkinliği ölçmek için kullanılan en hassas ve modern yöntemlerden birisidir (Krause ve Weis, 1991; Strasser vd., 2000; Hunt, 2003). Klorofil fluoresansı, değişik şekillerde ölçülebilir. Hızlı fluoresans kinetik ölçümü, modüle fluoresans ölçümü, görüntüleme fluoresans ölçümü bunlardan bazılarıdır. Bir bitki yaprağı ışık absorbladığında, reaksiyonlar zinciri çalışmaya başlar. Fotosentezin bu aşamasında, ışık enerjisi çeşitli fiziksel ve kimyasal mekanizmalarla kimyasal enerjiye çevrilir. Bu süreç, ışık toplayıcı birimlerde (ITK) anten moleküllerinin ışığı absorblamasıyla başlar. Işık enerjisi uyarılma enerjisi olarak transfer edilir ve büyük bir bölümü kimyasal işler için reaksiyon merkezlerinde kullanılır. Geri kalan kısmı, daha çok ısı ve daha az olmak üzere ışık şeklinde yayılarak yitilir (Şekil 1.). Böylece, yakalanan foton enerjisi; redoks enerjisini, infrared ışımayı ve fluoresansı oluşturur (Lichtenthaler, 1996; Reigosa ve Weiss, 2001). Işık fotonunun yaprağa ulaştıktan sonraki akıbeti aşağıda daha ayrıntılı olarak verilmiştir.

Belirli dalga boyundaki ışık fotonu, fotosistemdeki bir klorofil molekülüne ulaştığında; fotonun enerjisi elektronları daha yüksek enerji düzeyine uyarır (Şekil 2.). Bu yüksek enerji düzeyindeki orbitalde sadece tek bir elektron bulunduğundan bu uyarılma durumuna singlet denir. Klorofilin iki ana uyarılma durumu, 1. singlet ve 2. singlet olarak adlan

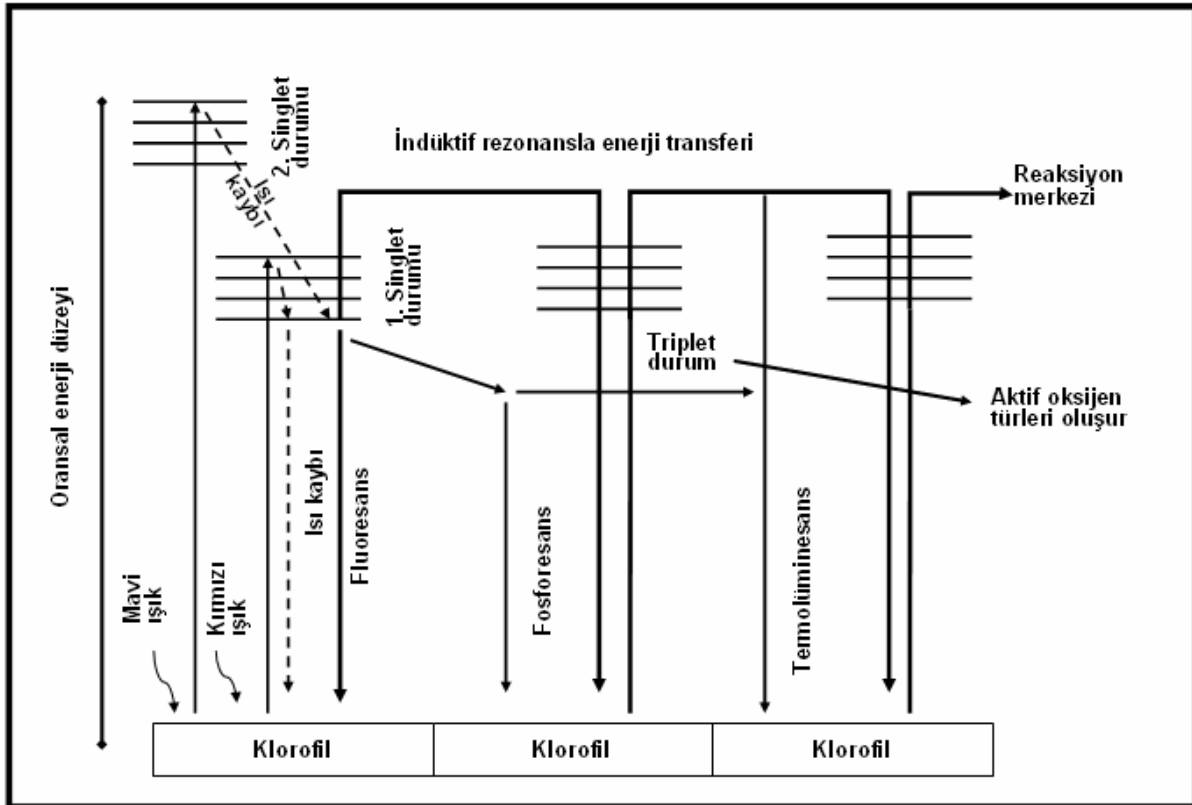


Şekil 1. Klorofilin uyarılmasından sonra enerjinin yitilmesine neden olan temel olaylar

dırılır (Heldt, 1997). Eğer klorofil molekülü mavi bölgedeki maksimum absorpsiyonu ile ışık absorblarsa, elektronlar 2. singlet durumuna yükseltilir, çünkü mavi bölgedeki ışığın enerjisi yüksektir (Şekil 2.). 2. singlet durumu, çok kısa sürer ( $10^{-12}$  saniye) ve enerjisi kimyasal iş yapmak için durağan değildir. Uyarılmış durumdaki molekül enerjisini, 1. singlet durumuna ulaşmaya kadar ısı olarak kaybeder (Heldt, 1997). 1. singlet durumuna klorofilin kırmızı ışık absorblamasıyla da ulaşılabilir. 1. singlet durumu, 2. singlet durumuna göre daha karardır, ancak bu durumda  $5 \times 10^{-9}$  saniye gibi kısa bir süre kalır ve molekülün bu

durumdan kararlı durumuna geri dönerken uyarılma enerjisi değişik süreçlerde kullanılır (Şekil 2.). Daha önce kısaca değinildiği gibi bunlar; 1. Uyarılma enerjisi, diğer alıcı moleküle transfer edilerek kimyasal iş için kullanılır. 2. Uyarılma enerjisinin bir kısmı ısı olarak ortama yayılır. 3. Enerjinin geri kalan kısmı ışık şeklinde ortama verilir. Bu ışık yayılımı fluoresans olarak tanımlanır. 4. Uyarılan klorofil molekülü enerjisini, orijinal uyarılmış singlet durumdan triplet durumuna enerjisini transfer ederek de kaybeder. Molekül, sistem içi geçiş denilen bir mekanizma olan triplet durumunda daha uzun süre kalabilir ve bu durumda elektron spinleri ters döner. Molekül bu durumdan kararlı durumuna ancak fosforesans ışık yayarak geçebilir (Heldt, 1997; Hall ve Rao, 1999). Triplet durumdaki klorofil molekülü oksijeni uyararak organizma için zararlı olan aktif oksijen oluşmasına da neden olabilir (Heldt, 1997; Lawlor, 2001). Eğer yapraklar, alg hücreleri veya izole kloroplastlar ışıklandırmadan sonra hızlıca dondurulup daha sonra karanlıkta ısıtılırsa, belirli karakteristik sıcaklıklarda ani ışık çıkışı gözlenir. Bu olgu, termoluminesans olarak tanımlanır ve termal olarak teşvik edilen özel bir ışık yayılımıdır (Hall ve Rao, 1999).

Oda sıcaklığında fluoresansın çoğu PS II'deki klorofil a tarafından yayılır. Pigment solüsyonunda klorofil a %30 gibi yüksek bir fluoresans sergilerken fotosentetik yapılarda PS II'nin reaksiyon merkezi yeni elektron kabul edemeyecek yani redükte durumdayken ki bu durumda reaksiyon merkezi kapalı denilir,



Şekil 2. Fotosentetik materyallerde ışık absorpsiyonu ve enerji yayılımı (Salisbury ve Ross, 1992; Hall ve Rao, 1999'dan modifiye edilmiştir)

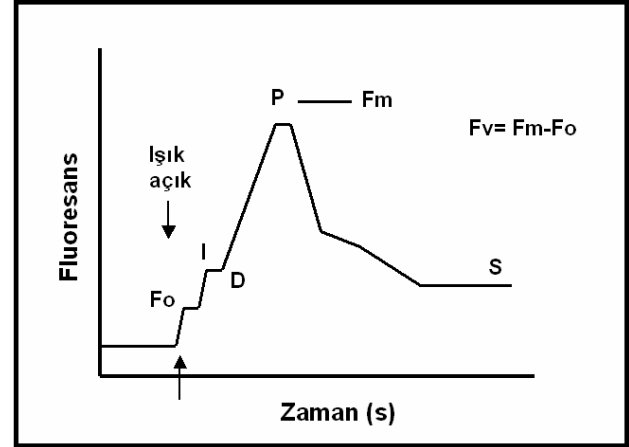
maksimum fluoresans absorblanan ışığın sadece %3'ü kadardır. Eğer reaksiyon merkezleri yeni elektron kabul edebilecek yani okside durumdayken ki bu duruma da reaksiyon merkezi açık denilir, fluoresans % 0.6 civarındadır (Krause ve Weis, 1991; Lawlor, 2001; Reigosa ve Weiss, 2001). Strasser vd. (2000) ve Lawlor (2001)'un bildirdiğine göre; fluoresans konusunda ilk detaylı bilgi 1930'larda Kautsky ve Hirsch tarafından verilmiştir. Bu araştırmacılar, karanlıkta tutulan fotosentetik bir örnek ışıklandırıldığında; klorofil a fluoresans yayılımının sabit olmadığını, maksimum bir değere ulaştığını, bu artışı bir azalmanın takip ettiğini ve sonunda sabit bir seviyeye ulaştığını belirlemişlerdir. Bu olaya daha sonraları "Kautsky Etkisi" denilmiştir ve bu cevap bilim dünyasında "Kautsky Eğrisi" olarak bilinmektedir (Şekil 3.). Aynı araştırmacılar, elde ettikleri bu sonuçta; artış fazının, fotosentezin birincil reaksiyonlarını, azalma fazının ise CO<sub>2</sub> asimilasyonundaki artışı yansıttığını ileri sürmüşlerdir (Maxwell ve Johnson, 2000; Strasser vd., 2000; Lawlor, 2001; Reigosa ve Weiss, 2001). Bu nedenle, klorofil fluoresansı konusunda yapılan tüm çalışmaların temelini Kautsky Etkisi Eğrisi oluşturmaktadır.

Karanlıkta tutulan yapraklarda, fotokimyasal reaksiyonlar meydana gelmez. Fluoresansta başlangıç basamağının yükselişi, Fo, uyarılma enerjisi reaksiyon merkezine iletilmeden önce esas olarak PS II'nin klorofillerinden yayılır (Şekil 3.). Bu seviyede, okside durumdaki PS II'deki reaksiyon merkezi, tüm klorofiller ve elektron taşıyıcıları foton almak için açıktır, yani fotokimyasal reaksiyonlar için hazırdır. PS II'deki klorofil molekülleri ve reaksiyon merkezi uyarıldığında, yük transferi başlar, Q<sub>A</sub> indirgenir ve fluoresans hızla I noktasına yükselir. Elektronlar, Q<sub>A</sub>'dan Q<sub>B</sub>'ye transfer edilirken fluoresans artışında bir azalma (D noktası) olur. Tüm Q<sub>A</sub> molekülleri indirgendiğinde, reaksiyon merkezinden Q<sub>A</sub>'ya daha fazla yük transfer edilemez ve bu yüzden reaksiyon merkezi artık foton kabul edemez. Bu durumda reaksiyon merkezi kapalı duruma gelir. Bu basamakta klorofil a'nın uyarılma enerjisi yayılımı maksimumdur ve Kautsky Eğrisi'nde maksimum fluoresansla P noktasını verir. Fluoresanstaki P'den S'ye yavaş azalma Q<sub>A</sub>'nın elektronlarını Q<sub>B</sub>'ye vererek okside olmasından kaynaklanır (Lawlor, 2001; Baker ve Rosenqvist, 2004; Lichtenthaler vd., 2004).

Fluoresans yayılımı; F, absorblanan ışık (I<sub>a</sub>), fluoresans sabitesi (K<sub>F</sub>) ve klorofil molekülünün sabit düzeyine dönmesini sağlayan diğer tüm rakip reaksiyonların sabiteleri toplamı (Σk<sub>i</sub>) ile orantılıdır. Bu reaksiyonların en önemlileri, fotokimyasal reaksiyonlar (K<sub>P</sub>), ısı deaktivasyonu (K<sub>D</sub>) ve fluoresans özelliği olmayan pigmentlere uyarılma enerjisinin transferidir (K<sub>T</sub>) (Krause ve Weis, 1991; Lawlor, 2001). Buradan, fluoresans:

$$F = I_a \cdot K_F / \Sigma k_i$$

formülü ile hesaplanır.



Şekil 3. Kautsky Eğrisi

(I, induksiyon; D, düşüş; P, pik; S, sabit seviye) (Hall ve Rao, 1999 ve Lawlor, 2001'den modifiye edilmiştir)

Fluoresans verimi ise;

$$\Phi F = F / I_a = K_F / (K_F + K_D + K_T + K_P)$$

eşitliği ile belirlenebilir.

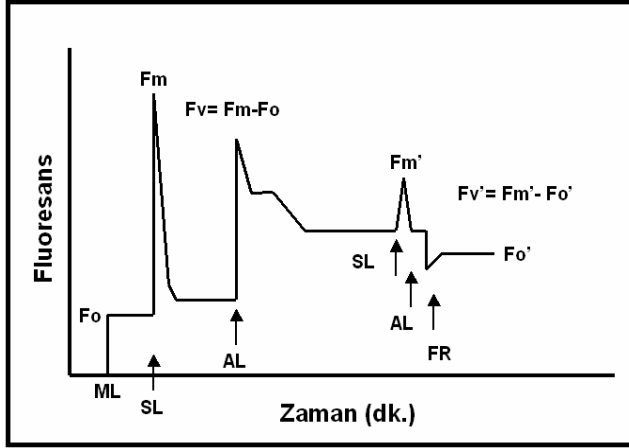
Daha öncede bahsedildiği gibi, Fo, reaksiyon merkezleri açıkken yani aktif durumdaki minimum fluoresanstır. Q<sub>A</sub> tamamen indirgendiğinde, PS II'nin uyarılması sabit yük dağılımını sağlayamaz. Buradan maksimum fluoresans (F<sub>m</sub>) elde edilir. Bu yaklaşımla, PS II'nin fotokimyasal reaksiyonunun verimi aşağıdaki formülle saptanabilir:

$$\Phi_{PS II} = K_P / (K_F + K_D + K_T + K_P) = (F_m - F_o) / F_m = F_v / F_m$$

burada F<sub>v</sub>, değişken fluoresans yayılımıdır (F<sub>v</sub> = F<sub>m</sub> - F<sub>o</sub>) ve bağımsız bir fluoresans bileşenini ifade etmez, sadece tanımlanan iki durum arasındaki fluoresans yayılışındaki değişikliği ifade eder.

Fluoresans, kullanılmadık (queching, indirgenme) yani çok sayıdaki prosesler tarafından uyarılma enerjisinin tüketilmesidir ve 0-1 arasındaki kullanılma katsayıları süreçleri tanımlar. Fizyolojik kullanılma mekanizmaları başlıca iki tiptir: Fotokimyasal kullanılma (q<sub>P</sub>) ve fotokimyasal olmayan kullanılma (q<sub>N</sub>) (Lawlor, 2001; Reigosa ve Weiss, 2001). Fotokimyasal kullanılma, okside Q<sub>A</sub>'ya bağlı olarak değişir ve PS II'de kimyasal enerjiye çevrilen uyarılma enerjisinin oranını gösterir. Fotokimyasal olmayan kullanılma ise enerjiye bağlı kullanılma (q<sub>E</sub>), geçiş sırasındaki kullanılma (q<sub>T</sub>) ve fotoinhibitör kullanılma (q<sub>I</sub>) olmak üzere üç esas bileşeni vardır. q<sub>E</sub>, tilakoid membranlardaki pH gradientinin gelişmesinden türemektedir. q<sub>T</sub>, enerjinin PS II'den PS I'e transfer edilmesiyle oluşmaktadır. q<sub>I</sub> ise aşırı ışık enerjisinin neden olduğu zararlı ilişkilidir (Krause ve Weis, 1991; Mohammed, vd., 1995; Lichtenthaler, 1996; Lawlor, 2001; Weiss ve Reigosa, 2001). Kullanılma analizi yapmak için modüle fluorometre kullanılması gereklidir (Şekil 4.) (Weiss ve Reigosa, 2001). Çünkü bu tip fluorometrelerle farklı ışık tiplerini (aktinik

ışık, doymun ışık, kırmızı ötesi ışık gibi) kullanarak iki fotosistem de uyarılmaktadır. Bu sayede fotokimyasal ( $q_P$ ) ve fotokimyasal olmayan kullanım ( $q_N$ ), elektron transport hızı (ETR), fotosistem II'nin gerçek etkinliği ( $F_v'/F_m'$ ) gibi parametreler belirlenebilmektedir.



Şekil 4. Modüle fluorometrede fluoresans sinyalleri (ML, modüle ışık; SL, saturate ışık; AL, aktinik ışık; FR, far-red) (van Kooten ve Snel, 1990; Maxwell ve Johnson, 2000'den modifiye edilmiştir)

Literatürde pek çok fluoresans parametresi tanımlanmaktadır ve farklı şekillerde isimlendirilmektedir. Bazen farklı araştırmacılar aynı parametreleri değişik şekilde ifade ettiğinden yayınlarda tekrarlamalara rastlamakta mümkündür. Bu parametrelerin tümü Kautsky Eğrisi'nden orijin almaktadır ve fotosentetik etkinlik hakkında önemli bilgiler vermektedir. Fotosentetik etkinliğin yorumlanmasında kullanılan bazı temel parametreler Tablo 1'de sunulmuştur ve yukarıda da belirtildiği gibi bu parametreleri genişletmek mümkündür. Fluoresansın ifadesinde nicel bir ölçüm söz konusu olmadığından, birim olarak bazı bilim adamları relatif (r.u.) veya arbitrary birim (a.u.) kullanırken, bazı bilim adamları ise herhangi bir birim kullanmazlar.  $F_v/F_m$ ,  $q_P$ ,  $q_N$  vb. ifadelerin birimleri yoktur, çünkü bu değerler oransaldır. Yine elektron transport hızı için de bazı bilim adamları  $\mu\text{molektron m}^{-2}\text{s}^{-1}$  birimini kullanırken, bazıları da hiç birim kullanmazlar.

Klorofil fluoresansının ölçülmesi bitki fizyolojisinde önemli bir gelişme olarak kabul edilmektedir (van Kooten ve Snel, 1990; Krause ve Weis, 1991; Maxwell ve Johnson, 2000; Baker ve Rosenqvist, 2004). Bu metotla normal ve stres koşulları altındaki bitkilerde fotosentetik etkinlik hakkında önemli bilgiler elde edilebilmektedir (Lichtenthaler, 1996; Hall ve Rao, 1999). Normal koşullar altında  $F_v/F_m$  oranı ki bu oran PS II'nin potansiyel etkinliğini ifade eder,

Tablo 1. Önemli bazı fluoresans parametreleri ve tanımları ( $\Phi_{PS II}$ , PS II'nin potansiyel verimi; PAR, fotosentetik olarak aktif ışık) (van Kooten ve Snel, 1990; Mohammed vd., 1995; Reigosa ve Weiss, 2001; Baker ve Rosenqvist, 2004; Lichtenthaler vd., 2004'ten modifiye edilmiştir)

Fluoresans parametresi	Açık adı	Tanımı
<b>F</b>	Fluoresans	Her hangi bir zamandaki gerçek fluoresans
<b>F<sub>o</sub></b>	Karanlıktaki minimum fluoresans	Karanlık adaptasyonu yapılan örnekteki tüm PS II reaksiyon merkezlerinin açık olduğu andaki minimum fluoresans
<b>F<sub>o</sub>'</b>	Işıktaki minimum fluoresans	Işıklandırılan örnekteki tüm PS II'deki reaksiyon merkezlerinin açık olduğu andaki minimum fluoresans
<b>F<sub>m</sub></b>	Karanlıktaki maksimum fluoresans	Karanlık adaptasyonu yapılan örnekteki tüm PS II reaksiyon merkezlerinin kapalı olduğu andaki maksimum fluoresans
<b>F<sub>m</sub>'</b>	Işıktaki maksimum fluoresans	Işıklandırılan örnekteki tüm PS II'deki reaksiyon merkezlerinin kapalı olduğu andaki maksimum fluoresans
<b>F<sub>v</sub></b>	Karanlıktaki değişen fluoresans	Tüm fotokimyasal olmayan prosesler minimumda iken maksimum değişen fluoresans ( $F_m - F_o$ )
<b>F<sub>v</sub>'</b>	Işıktaki değişen fluoresans	Işıklandırılan örnekteki maksimum değişen fluoresans ( $F_m' - F_o'$ )
<b>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub></b>	PS II'nin fotokimyasal reaksiyonlarının maksimum maksimum quantum verimi	PS II'nin ışık toplayıcı anten molekülleri tarafından kimyasal enerjiye dönüştürülmek üzere absorblanan ışığın maksimum verimi yani PS II'nin maksimum potansiyel etkinliği
<b>F<sub>v</sub>'/F<sub>m</sub>'</b>	PS II'nin maksimum etkinliği	PS II'nin fotokimyasal reaksiyonlarının maksimum gerçek etkinliği
<b>q<sub>P</sub></b>	Fotokimyasal kullanılma	$(F_m' - F) / (F_m' - F_o')$
<b>q<sub>N</sub></b>	Fotokimyasal olmayan kullanılma	$1 - (F_m' - F) / (F_m' - F_o')$
<b>ETR</b>	Elektron transport hızı	$\Phi_{PS II} \times 0.84 \times 0.5 \times PAR$

0.83 iken bu değer stres koşullarında azalmaktadır (Krause ve Weis, 1991; Hall ve Rao, 1999). Fv/Fm oranındaki bu azalma Fo ve Fm değerlerindeki değişiklikler nedeniyle ortaya çıkmaktadır ve diğer fluoresans parametreleri de ( $q_p$ ,  $q_N$ , ETR vs.) bu değişikliklerden etkilenmektedir. Farklı çevresel stres faktörlerinin, enerjinin klorofil a moleküllerinden reaksiyon merkezine etkili bir şekilde transferini azaltarak ve/veya reaksiyon merkezlerinin inaktivasyonuna yol açarak Fo değerini arttırdığı bildirilmiştir (Briantais vd., 1986). Bazı çalışmalarda Fo değerindeki artışın, elektronların  $Q_A$ 'dan  $Q_B$ 'ye geçişinin inhibisyonundan (Bilger vd., 1984; Du cruët ve Lemoine, 1985; Bukhov vd., 1990) ve PSII'nin enerji yakalama etkinliğindeki azalmadan kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Havaux, 1993).

Literatürde stres faktörlerinin klorofil fluoresansı üzerine etkilerinin araştırıldığı pek çok çalışma vardır. Su stresi (Guidi ve Soldatini, 1994; Baker ve Rosenqvist, 2004), su baskını (Guidi ve Soldatini, 1997), tuz stresi (Umezawa vd., 2000), yüksek sıcaklık (Doğru ve Çakırlar, 2005), yüksek sıcaklık-tuz stresi etkileşimi (Çiçek ve Çakırlar, 2005), yüksek ışık şiddeti (Ekmekçi vd., 2004), herbisit stresi (Ekmekçi ve Terzioğlu, 2005) bunlardan bazılarıdır.

Smillie ve Nott (1982) fluoresans parametrelerindeki değişikliklerin tuzlulukta erken uyarı sistemi olarak kullanıldığını bildirmektedirler. Bu hassas teknik, bitkilerin strese tepkilerinin belirlenip değerlendirilmesinin, strese dayanıklı genotiplerin seçilmesinin mümkün olduğu ileri sürülmektedir (Misra vd., 2001; Baker ve Rosenqvist, 2004). Ayrıca Strasser vd. (2000) klorofil fluoresansının, çevrenin kimyasal değişimlerinin ölçülmesinde ve fiziksel parametrelerinin çalışılmasında, bir sistemin canlılığının, veriminin v.s. araştırılmasında, ticari ürünlerin kalite kontrolünün yapılmasında kullanılabileceğini bildirmektedirler.

#### 4 SONUÇ

Bilim ve teknolojiye ilerlemeler sayesinde yeni cihazlarla daha doğru, güvenilir, hızlı ve canlılığın devamını etkilemeden sonuçlar elde etmek mümkün olmaktadır. Klorofil fluoresansı tekniği ile de değişen çevresel koşullarda bitkilerin durumu hakkında hızlı bir değerlendirme yapılabilmektedir. Böylece, yeni kültür bitkilerinin ıslahı, çevresel streslere dayanıklı çeşitlerin belirlenmesi gibi tarımsal amaçlı çalışmalarda bu teknik yaygın olarak kullanılabilmektedir. Bu nedenle, klorofil fluoresansı tekniği hakkında bu derleme konuya ilgi duyan araştırmacılara yardımcı olacaktır.

#### KAYNAKÇA

Baker, N.R. ve Rosenqvist, E. (2004). Application of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.* 55(403), 1607-1621.

- Bilger, H. W., Schreiber, U. ve Lange, O. L. (1984). Determination of leaf heat resistance: Comparative investigation of chlorophyll fluorescence changes and tissue necrosis methods. *Oecologia* 63, 256-262.
- Briantais, J. M., Verrotte, C., Krause, G. H. ve Weis, E. (1986). Chlorophyll a fluorescence of higher plants: chloroplasts and leaves. *Light emission by plants and bacteria*. Ed: A.J. Govindjee, D.C. Fork, ss.539-577, Academic Press, New York
- Bukhov, N. H., Sabat, S. C. ve Mohanty, P. (1990). Analysis of chlorophyll a changes in weak light in heat treated *Amaranthus* chloroplasts. *Photosynth. Res.* 23, 81-87.
- Chetti, M.B. ve Nobel, P.S. (1987). High-temperature sensitivity and its acclimation for photosynthetic electron transport reactions of desert succulents. *Plant Physiol.* 84, 1063-1067.
- Çiçek, N. ve Çakırlar, H. (2005). The effect of high temperature-salt stress interaction on some chlorophyll fluorescence parameters in soybean. *II. International Symposium on Protection of National Environment*, 8-10 September, 2005, Kütahya, Turkey, ss.33.
- Çiçek, N. ve Çakırlar, H., (2004). Effect of salt stress on photosynthetic responses in maize (*Zea mays* L.). *Hacettepe J. Biol. and Chem.* 33, 23-30.
- Doğru, A. ve Çakırlar, H. (2005). Determination of photosynthetic efficiency in winter rape plants under high temperature stress by chlorophyll fluorescence. *II. International Symposium on Protection of National Environment*, 8-10 September, 2005, Kütahya, Turkey, ss.27.
- Ducruët, J. M. ve Lemoine, Y. (1985). Increased heat sensitivity of the photosynthetic apparatus in triazine-resistant biotypes from different plant species. *Plant and Cell Physiol.* 26, 419-429.
- Ekmekçi, Y., Farrant, J.M., Thomson, J.A. ve Mundry, S.G. (2004). Antioxidant response and photosynthetic characteristics of *Xerophyta viscosa* Baker and *Digitaria sanguinalis* L. leaves induced by high light. *Israel J. Plant Sci.*, 52, 177-187.
- Ekmekçi, Y. ve Terzioğlu, S. (2005). Effects of oxidative stress induced by paraquat on wild and cultivated wheats. *Pesticide Biochem. and Physiol.* 83, 69-81.
- Gonzalez, L., Bolano, C. ve Pellissier, F. (2001). Use of oxygen electrode in measurements of photosynthesis and respiration. *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, Ed: M.J. Reigosa,

- ss.141-153, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Guidi, L. ve Soldatini, G.F. (1994). Leaf fluorescence and gas exchange in water stressed sunflower and soybean plants. *Medecine Biol. Environ.* 22, 127-135.
- Guidi, L. ve Soldatini, G.F. (1997). Chlorophyll fluorescence and gas exchanges in flooded soybean and sunflower plants. *Plant Physiol. Biochem.* 35 (9), 713-717.
- Hall, D.O. ve Rao, K.K., (1999). *Photosynthesis*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Havaux, M. (1993). Characterization of thermal damage to the photosynthetic electron transport system in potato leaves. *Plant Sci.* 94, 19-33.
- Heldt, H.W. (1997). *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. Oxford University Press, New York.
- Hunt, S. (2003). Measurements of photosynthesis and respiration in plants. *Physiol. Plant.* 117, 314-325.
- Kacar, B., (1996). *Bitki Fizyolojisi*, A. Ü. Ziraat Fak., Yayın No: 1447, Ders Kitabı: 427, Ankara.
- Krause, G.H. ve Weis, E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 313-349.
- Lawlor, D.W. (2001). *Photosynthesis*. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford.
- Lichtenthaler, H.K. (1996). Vegetation Stress: An introduction to the stress concept in plants. *J. Plant Physiol.* 148, 4-14.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C. ve Knapp, M. (2004). Measurement of chlorophyll fluorescence kinetics (Kautsky Effect) and the chlorophyll fluorescence decrease ratio (RFD-values) with the PAM-fluorometer. *Analytical Methods in Plant Stress Biology*, Ed: M. Filek, J. Biesaga-Koscielniak, ve I. Marcinska, ss.93-111, Institute of Plant Physiology, Academy of Sciences, Krakow, Polve.
- Long, S.P., Farage, P.K. ve Garcia, R.L. (1996). Measurement of leaf and canopy photosynthetic CO<sub>2</sub> exchange in the field. *J. Exp. Bot.* 47(304), 1629-1642.
- Maxwell, K. ve Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51(345), 659-668.
- Misra, AN., Srivastava, A. ve Strasser, R.J., (2001). Utilization of fast chlorophyll a fluorescence technique in assessing the salt/ion sensitivity of mung bean and *Brassica* seedlings. *J. Plant Physiol.* 158, 1173-1181.
- Mohammed, G.H., Binder, W.D. ve Gillies, S.L. (1995). Chlorophyll fluorescence: A review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scand. J. For. Res.* 10, 383-410.
- Newman, R. (1994). Sensors employed in plant science research. *Sensor Review* 14(4), 24-27.
- Reigosa, M.J. ve Weiss, O. (2001). Fluorescence techniques. *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, Ed: M.J. Reigosa, ss.155-171, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Salisbury, F.B. ve Ross, C.W. (1992). *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Company, Belmont.
- Sebanek, J. (1992). *Plant Physiology*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands.
- Smillie, R.M. ve Nott, R., (1982). Salt tolerance in crop plants monitored by chlorophyll fluorescence in vivo. *Plant Physiol.* 70, 1049-1054.
- Strasser, R.J., Srivastava, A. ve Tsimilli-Michael, M. (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *Probing Photosynthesis*, Ed: M. Yunus, P. Pathre, ve P. Mohanty, ss.445-483, Taylor and Francis, London New York.
- Tamayo, P.R., Weiss, O. ve Sanchez-Moreiras, A.M. (2001). Gas exchanged techniques in photosynthesis and respiration infrared gas analyser. *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, Ed: M.J. Reigosa, ss.113-139, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Umezawa, T., Shimizu, K., Kato, M. ve Ueda, T. (2000). Enhancement of salt tolerance in soybean with NaCl pretreatment. *Physiol. Plant.* 110, 59-63.
- van Kooten, O. ve Snel, J.F.H. (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynt. Res.* 25, 147-150.
- Weiss, O. ve Reigosa, M.J. (2001). Modulated fluorescence. *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, Ed: M.J. Reigosa, ss.173-183, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands



**Nuran ÇİÇEK**, 1974 yılında Ordu'da doğdu. 1993 yılında Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. Aynı üniversitede, 1999 yılında Yüksek Lisans, 2005 yılında Doktora çalışmalarını tamamladı. 1996 yılında Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,

Botanik ABD'nda başladığı görevini halen sürdürmektedir.



**Hüsnü ÇAKIRLAR**, 1947 yılında Tekirdağ'da doğdu. 1967 yılında Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü'ne girdi. 1972'de Yüksek Lisans, 1979'da Doktora çalışmalarını aynı üniversitede tamamladı. 1979 yılında Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji

Bölümü, Botanik ABD'nda başladığı görevini 1990 yılından bu yana Doçent olarak sürdürmektedir.