

## Bitkilerde Aktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Ali Doğru<sup>1\*</sup> 

### ÖZET

Aerobik organizmalar için oksijen vazgeçilmez bir moleküldür. Biyotik ve abiyotik stres faktörleri altında bitkilerde elektron taşınımı ile ilgili reaksiyonlar aktif oksijen türlerinin oluşum hızını artırır. Bu reaksiyonlarda elektronlar stres faktörlerinin etkisiyle asıl hedef molekül yerine oksijene verilir. Bu şekilde başlayan zincirleme reaksiyonlar bitki dokularında süperoksit radikali, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi aktif oksijen türlerinin birikim göstermeye başlamasına yol açar. Antioksidant sistemin yeterince aktive edilememesi durumunda oldukça reaktif olan aktif oksijen türleri hücrel bileşenlere zarar vermeye başlar. Bu olay oksidatif stres olarak bilinir. Aktif oksijen türleri bitki hücrelerindeki birçok organelde oluşabilir. Kloroplastlar bitki hücrelerinde aktif oksijen türlerini oluşturma kapasitesi bakımından en aktif organellerdir. Bunun dışında mitokondriler, peroksizomlar, endoplazmik retikulum gibi organellerle apoplastik bölgede de aktif oksijen oluşumu gözlenir. Stres koşulları altında sekonder bir stres olarak ortaya çıkan oksidatif stres tarımsal verimliliği tehdit eden en önemli faktör olarak kabul edilmektedir. Bu derlemede bitki hücrelerinde aktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olan metabolik olaylar, bu bileşiklerin kimyasal özellikleri ve oksidatif hasar oluşturma mekanizmaları tartışılmıştır.

### MAKALE GEÇMİŞİ

**Geliş**  
20 Şubat 2020  
**Kabul**  
10 Mayıs 2020

### ANAHTAR KELİMELER

Aktif oksijen türleri,  
bitki,  
oksidatif stres

## Active Oxygen Species and Oxidative Stress in Plants

### ABSTRACT

Oxygen has been an indispensable molecule for aerobic organisms. The reactions related to electron transport in plants under biotic and abiotic stress factors may cause acceleration of the formation rate of active oxygen species. In these reactions, electrons are delivered to the oxygen instead of main target molecule as the result of stressful conditions. Thus, a chain reaction starts and this leads to the accumulation of the active oxygen species in plant tissues, such as superoxide, hydrogen peroxide and hydroxyl radical. In the case of lower antioxidant activity, active oxygen species begin to be harmful to cell components, which is known as oxidative stress. Active oxygen species may be produced in several cell compartments in plant cells. Chloroplasts, for example, are known to have the highest potential to produce active oxygen species in plant cells. In addition, mitochondria, peroxisomes, endoplasmic reticulum and apoplast are included in the formation of active oxygen species in plants. Oxidative stress, which appears secondary stress under stressful conditions, has been accepted as the most serious threat for agricultural productivity. In this review, metabolic reactions leading to the formation of active oxygen species in plants, the chemistry of these reactive compounds and their mechanism to produce oxidative stress are discussed.

### ARTICLE HISTORY

**Received**  
20 February 2020  
**Accepted**  
10 May 2020

### KEY WORDS

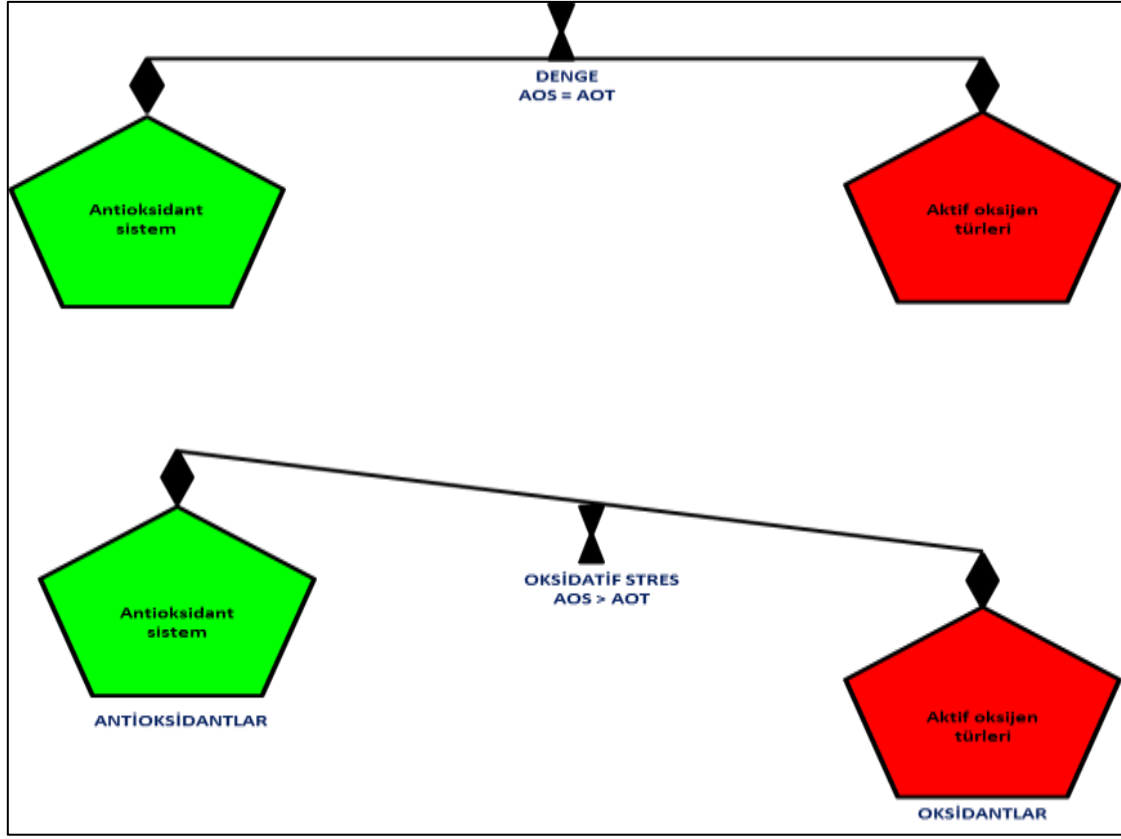
Active oxygen species,  
plant,  
oxidative stress

<sup>1</sup> Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Esentepe Kampüsü, 54187, Sakarya

## Giriş

Diğer aerobik organizmalar gibi bitkiler de etkili bir şekilde enerji üretebilmek için oksijene ihtiyaç duymaktadırlar. Moleküler oksijen ( $O_2$ ) ilk olarak yaklaşık 2,7 milyar yıl önce fotosentetik organizmalardaki oksijen evolüsyonu reaksiyonu sonucu oluşmuş ve aktif oksijen türleri (AOT) aerobik yaşamın bir parçası haline gelmiştir [1]. Ancak oksijenin varlığı hücrel yapıların ve reaksiyonların sürekli oksidatif bir tehdit altında olmasına yol açmaktadır [2]. Bitki hücrelerinde oksijenin suya tam olarak indirgenmesi; gerekli enerjinin açığa çıkmasını sağlarken, oksijenin tam olarak indirgenememesi ise oldukça reaktif olan ve DNA, proteinler ve lipidler gibi birçok makromoleküle zarar veren AOT'lerin oluşumuna neden olmaktadır [3]. AOT'lerin hücrel yapılarda hasar oluşturması ise "oksidatif stres" olarak tanımlanmaktadır. Kloroplast ve mitokondrilerdeki redoks reaksiyonları sırasında, bazı stres faktörleri nedeniyle elektronların asıl alıcı molekül yerine moleküler oksijene verilmesi sonucu AOT'ler oluşmaya başlar. Ağır metaller, kuraklık, yüksek ve düşük sıcaklık, mekanik yaralanma, ultraviyole (UV) ışık, fotoinhibisyona yol açan yüksek ışık yoğunluğu, patojen enfeksiyonu ve hava kirliliği gibi stres faktörlerinin de AOT oluşumuna ve oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir [4,5]. Bu durumda oksidatif stres, bitkilerde biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin etkisiyle ortaya çıkan sekonder bir stres olarak nitelendirilebilir.

AOT'ler peroksizomlar, kloroplastlar ve mitokondri gibi farklı hücrel organellerde lokalize olan metabolik reaksiyonlar sırasında ara ürün olarak da meydana gelebilir [6,7]. Gelişmiş bitkilerde fotosentez olayı; oldukça iyi organize olmuş tilakoid membranlara sahip olan kloroplastlarda meydana gelen bir olaydır. Tilakoid membranlar optimum ışık absorpsiyonu için gerekli yapısal özelliklere ve bileşenlere sahiptir. Fotosentez boyunca kloroplastlarda oluşan oksijen, elektron taşınım reaksiyonlarından gelen elektronları alarak süperoksit radikalini ( $O_2^{\cdot-}$ ) oluşturabilir. Normal koşullar altında AOT'ler çeşitli antioksidant savunma mekanizmaları ile detoksifiye edilir [8]. Ancak tuzluluk, UV radyasyonu, kuraklık, ağır metaller, aşırı yüksek ve düşük sıcaklıklar, besin eksikliği, hava kirliliği, herbisitler ve patojen saldırıları gibi biyotik ve abiyotik stres faktörleri, AOT'lerin oluşum ve detoksifikasyon hızı arasındaki dengeyi bozabilir. Bu da hücrel yapılarda hasarlara neden olan AOT'lerin hücre içindeki miktarının hızla artmasına yol açar (Şekil 1) [9].



Şekil 1 AOS (antioksidant sistem) ve AOT (aktif oksijen türleri) arasındaki denge [13]

$O_2^-$  radikali çeşitli reaksiyonlar sonucunda hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ( $OH^-$ ) ve diğer AOT'lerin oluşmasına yol açar.  $O_2^-$  radikali,  $H_2O_2$ ,  $^1O_2$  (singlet oksijen),  $HO_2^-$  (perhidroksi radikali) ve  $OH^-$  radikali gibi AOT'ler oldukça reaktiftir ve toksik etkilere sahiptir. Farklı çevresel stres faktörlerinin etkisiyle bitki dokularında meydana gelen AOT'ler ürün kayıplarının temel sebebidir [10-12]. AOT'ler nükleik asitlerde hasar oluşturarak, proteinleri okside ederek ve lipid peroksidasyonuna neden olarak birçok hücre fonksiyonunda bozulmalara neden olur [8].

Bitkilerde, AOT'lerin toksik etkilerinden korunmak için etkili bir antioksidant savunma sistemi bulunmaktadır. Bu sistemin enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri AOT'lerin oluşumunu engelleyerek ya da oluşuktan sonra AOT'leri detoksifiye ederek hücre yapılarının oksidatif stres hasarlarından korunmasını sağlar.

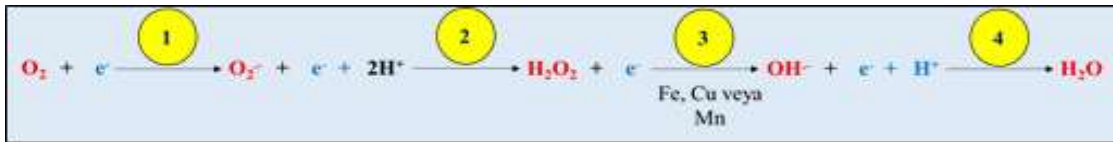
Bu derlemede çeşitli AOT'lerin oluşum reaksiyonları ve lokasyonları, AOT'lerin bitki hücrelerinde meydana getirdikleri hasarlar tartışılmıştır.

## Okside Edici Bileşiklerin Kimyası

Oksijen yer kabuğunda en yaygın olarak bulunan elementtir [14]. Aynı zamanda suyun kütle olarak %89'unu oluşturduğundan canlı organizmalarda da kütle bazında en fazla miktarda bulunan elementtir [15]. Oksitleme yeteneği bakımından ise flordan sonra ikinci sırada bulunmaktadır [16,17]. Atmosferde bulunan oksijenin temel formu  $O_2$ 'dir. Bu molekülün paylaşılmamış iki elektronu vardır ve bu elektronların paralel spinli olmasından dolayı temel durumdaki oksijen ( $O_2$ ) düşük bir reaktiviteye sahiptir. Bu olaya "spin kısıtlaması" adı verilir. Yani  $O_2$  kimyasal olarak çok fazla aktif olmadığı gibi aynı zamanda aerobik organizmalar için toksik de değildir. Yüksek bir reaktiviteye sahip olması için  $O_2$ 'ye spin kısıtlamasını ortadan kaldıracak bir enerji girişinin gerçekleşmesi gerekir. Bu enerji birçok kimyasal ve biyokimyasal reaksiyondan, elektron taşınım reaksiyonlarından, UV ve iyonize radyasyondan sağlanabilir. Biyolojik sistemlerde bulunan birçok AOT arasında  $^1O_2$ ,  $OH^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$  ve nitrik oksit ( $NO^-$ ) oksidatif stresi indükleyen en önemli AOT'lerdir [11]. Bunun dışında peroksil, alkoksil ve hidroperoksil radikalleri ile peroksinitrit, ozon ve hipoklorik asit de diğer önemli AOT'lerdendir.

## Moleküler Oksijenin İndirgenmesi ve Aktivasyonu

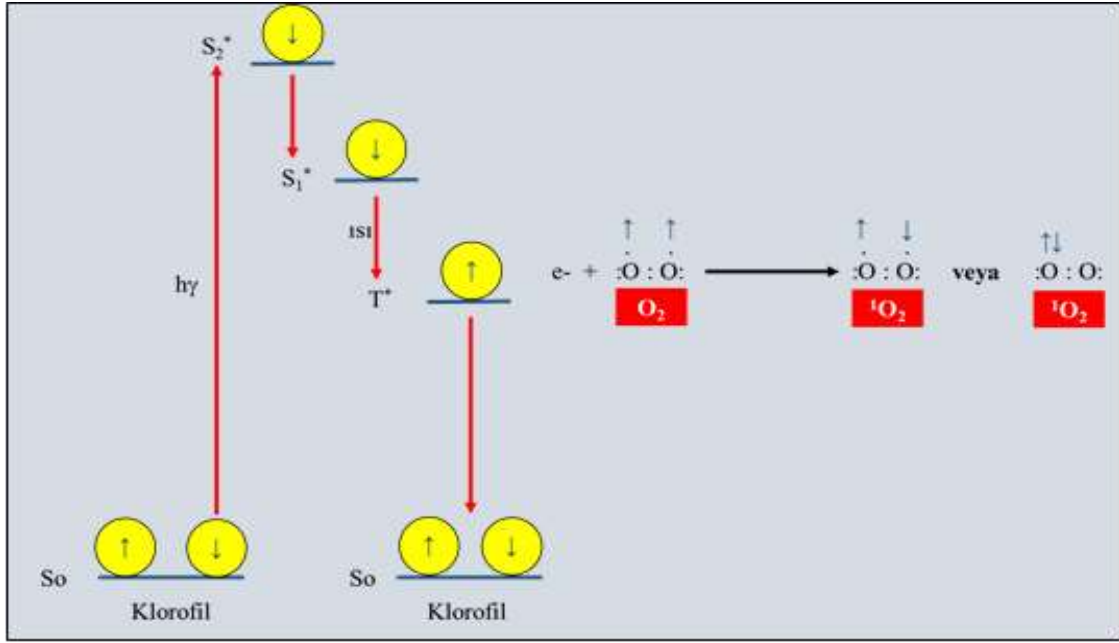
Moleküler oksijenin indirgenmesi, birbirini takip eden, her basamakta tek bir elektronun oksijen tarafından alınmasını ve farklı AOT'lerin oluşumunu sağlayan dört aşamadan ibarettir. Bu olaya "monovalent redüksiyon" adı verilir [18,3,19]. Monovalent oksijen redüksiyonu yoluyla oluşan çeşitli AOT'ler şekil 2' de görülmektedir. Bu reaksiyon zincirinin ilk basamağı enerji gerektirmektedir. Ancak diğer basamakları ekzotermik özelliğe sahiptir ve bu nedenle kendiliğinden veya kataliz yoluyla gerçekleşebilmektedir [20].



Şekil 2 Monovalent oksijen redüksiyonu sonucunda meydana gelen AOT' ler [21]

Oksijenin aktivasyonu, klorofil molekülünün uyarılması (eksitasyonu) aracılığıyla ışığa bağımlı reaksiyonlarla da sağlanabilmektedir [22]. Bu reaksiyonda ışık enerjisinin absorblanması ile klorofil molekülündeki bir elektron temel durumundan ( $Kl_0$ ,  $S_0$ ), yüksek enerjili bir duruma ( $Kl_0^*$ ,  $S_2$ ) fırlatılmaktadır. Klorofil molekülü çok kısa bir süre

içerisinde bu elektronunun enerjisinin bir kısmını kaybederek daha düşük enerjili bir duruma ( $S_1$ ) ve daha sonra yine enerji kaybı ile triplet ( $T^*$ ) duruma geçmektedir.  $S_1$  durumundan triplet durumuna dönüşüm sırasında, klorofil molekülünün uyarılmış elektronunun spini de değişmektedir. Enerjinin triplet klorofil molekülünden temel durumdaki oksijene transferi ile klorofil molekülü temel durumuna dönerken; bu kez de temel durumdaki oksijenin elektronlarından birinin spini değişmekte ve sonuçta  $^1O_2$  (singlet oksijen) oluşmaktadır [23]. Şekil 3'te singlet oksijenin oluşum mekanizması görülmektedir.



**Şekil 3** Moleküler oksijen ( $O_2$ ) ile triplet klorofilin ( $T^*$ ) etkileşimi sonucu singlet oksijenin ( $^1O_2$ ) oluşumu [21]

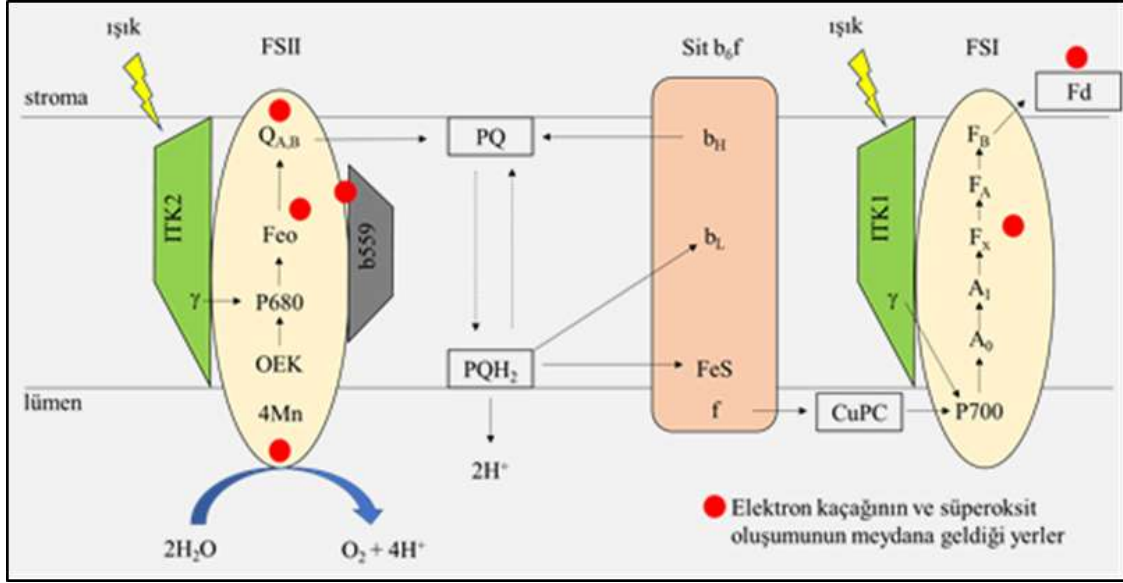
## Bitkilerdeki Aktif Oksijen Türleri

### Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )

Temel durumdaki oksijen ( $O_2$ ) bir elektron alarak spin kısıtlama özelliğini kaybedebilir. Bu elektron bitki hücrelerindeki elektron taşınım reaksiyonları veya nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz enziminin katalizlediği reaksiyon sırasında gerçek hedefine ulaştırılmayan bir elektrondur. Oksijenin bu şekilde bir elektron alması ile süperoksit radikali veya süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ) oluşur. Süperoksit radikalinin yarı ömrü 1-1000  $\mu s$  arasındadır ve oluştuğu yerden difüzyonla ancak birkaç  $\mu m$ 'lik mesafeyi kat edebilir [24].

Süperoksit radikali birçok reaksiyona katılabilir ancak öncelikle bir  $H^+$  olarak hidroperoksit radikalinin ( $HO_2^-$ ) oluşumuna neden olur. Bu bileşik süperoksit radikaline göre hem daha reaktif hem de daha stabil bir yapıya sahiptir ve biyolojik membranları geçebilir. İki molekül hidroperoksitin reaksiyona girmesi ile  $O_2$  ve  $H_2O_2$  meydana gelir. Bu reaksiyona “süperoksit dismutasyonu” adı verilir. Yani dismutasyon reaksiyonu sonucunda aynı maddeden yapısal olarak iki farklı ürün meydana gelir. Süperoksit radikali biyolojik makromoleküllerde kimyasal bir değişime yol açmaz ancak oksidatif stresin ana kaynağı olarak kabul edilir. Aynı zamanda diğer AOT’leri indirgeyerek daha kuvvetli oksitleyici moleküllerin oluşumuna yol açar [25]. Süperoksit radikali  $Fe^{+3}$  ve  $Cu^{+2}$  iyonlarını  $Fe^{+2}$  ve  $Cu^+$  formuna indirgeyebilir. Oluşan indirgenmiş demir ve bakır iyonları da  $H_2O_2$  ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturabilir. Hidroksil radikali de neredeyse bütün makromoleküllerde yapısal değişimlere neden olduğu için oksidatif stres için merkezi bir role sahiptir. Ayrıca süperoksit ve hidroperoksit radikalleri nitrik oksitle reaksiyona girerek aşırı derecede reaktif olan peroksinitrit ve alkil peroksinitrit radikallerini oluşturabilir.

Bitki hücrelerinde oluşan süperoksit radikallerinin temel kaynağının kloroplast ve mitokondrilerdeki elektron taşınım sistemlerindeki elektron kaçakları olduğuna inanılmaktadır [26-30]. Elektron taşınım sistemlerindeki elektronların yaklaşık %1-5’inin sistemden çıkabileceği ve bunların bir kısmının  $O_2$  ile reaksiyona girerek süperoksit radikalinin oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir [31]. Süperoksit radikali biyosentezi stres altında olmayan bitkilerin dokularında da gerçekleşen bir olaydır. Ancak stres altındaki bitkilerde bu radikalın sentez hızı artar ve antioksidant sistemin detoksifikasyon kapasitesinin üzerine çıkar. Kloroplastların tilakoid membranlarındaki fotosistem I (FSI) ve fotosistem II’ de (FSII) meydana gelen elektron kaçaklarının lokasyonları şekil 4’ te gösterilmiştir [32,33]. Bunun dışında mitokondriyal kompleks I ve kompleks II de elektron kaçaklarının meydana gelebileceği bölgelerdendir [29,34].



**Şekil 4** FSI ve FSII’de süperoksit oluşumunun gerçekleştiği bölgeler (ITK: ışık toplayıcı kompleks; OEK: oksijen evölüsyon kompleksi; Mn: mangan; Feo: feofitin; Q<sub>A,B</sub>: kinon<sub>A</sub> ve kinon<sub>B</sub>; PQ: plastokinon; Fd: ferrodoksin) [15]

Yapılan araştırmalar feofitin, kinon<sub>A</sub> ve sitokrom b559’ un FSII’nin akseptör bölgesinde O<sub>2</sub>’yi indirgeyerek süperoksit radikali oluşturma kapasitesine sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır [35,36, 33,37]. Bunun dışında FSII’nin donör bölgesinde de süperoksit radikalinin üretildiği rapor edilmiştir [38,39]. Ancak FSI kloroplastlardaki süperoksit radikalinin üretimi bakımından en aktif bölgedir [32,40]. Süperoksit radikali FSI’in akseptör bölgesinde bulunan psaA ve psaB üzerindeki 4F-4S (Fx), psaC üzerindeki A/B birimleri ve ferrodoksin (Fd) tarafından oluşturulur [41].

Peroksizomlar normal koşullarda fotorespirasyon, yağ asitlerinin oksidasyonu, azotlu bileşiklerin metabolizması ve AOT detoksifikasyonu gibi fonksiyonlardan sorumludur. Ancak patojen saldırısı, kadmiyum toksisitesi, tuzluluk, herbisit ve ksenobiyotik maddelerin uygulanması sonucunda peroksizomlarda süperoksit oluşumu gözlenir [6,42]. Peroksizomlarda süperoksit radikalinin oluşumu ile ilgili iki farklı mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan birincisi hücrel matriksteki ksantin oksidaz enziminin katalizlediği reaksiyondur. İkincisi ise peroksizom membranındaki NADH/NADPH-bağımlı küçük elektron taşıyım kompleksidir. Bu kompleks NADH ferrisiyanit redüktaz, sitokrom b, monodehidroaskorbat redüktaz ve NADPH:sitokrom P450 redüktaz enzimlerini içerir ve belli oranda sitosoldeki süperoksit radikali üretiminden sorumludur [43,6,44].

Yüksek ışık yoğunluğu, UV ışınlar, herbisitler ve ksenobiyotikler bitkilerde kloroplastlar, mitokondriler ve peroksizomlardaki elektron taşınım olaylarını olumsuz yönde etkileyerek süperoksit radikalinin oluşum hızını artırır. Bu stres tiplerinde elektron taşınım sisteminden gerçekleşen elektron kaçakları oksidatif stresin primer sebebinin oluşturur. Ancak tuzluluk, patojen saldırıları, mekanik yaralanma, kuraklık, yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, ağır metaller, ozon ve sel stresi durumunda elektron taşınım sistemlerinde meydana gelen anormallikler stres cevabının sonraki basamaklarında ortaya çıkan sekonder etkiler olarak kabul edilmektedir. Bu durum muhtemelen stres oluşumundan hemen sonraki dönemde ortaya çıkan aşırı oksidatif stres yüzünden antioksidant etkinliğin azalmasından kaynaklanmaktadır.

### **Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Hidrojen peroksit bitki hücrelerinde önemli fizyolojik fonksiyonlara sahip olan en stabil AOT'dir [25,40]. Hidrojen peroksit paylaşılmamış elektronları bulunmayan zayıf asit karakterinde bir bileşiktir. Süperoksit, hidroksil ve singlet oksijen radikalleri ile karşılaştırıldığında daha kararlı bir yapıya sahiptir. Yine de canlı dokulardaki yarı ömrü, hidrojen peroksidi parçalayan enzimlerin aktivitelerinden dolayı bir saniyeden daha azdır [25]. Sitoplazma oldukça indirgenmiş, antioksidantlar bakımından zengin bazik bir yapıya sahiptir. Hücre dışı boşluklar ise asidik karakterdedir ve hem hidrojen peroksidi hem de süperoksit radikali gibi hidrojen peroksidin öncüsü olan bileşikler parçalayan enzimler bakımından fakirdir [45,46]. Bu nedenle apoplastik bölgede hidrojen peroksit birikimi ve oksidatif stresin derecesi fazladır.

Bitkilerde hücre hacminin yaklaşık %95'ini vakuol oluşturduğundan sitoplazma oldukça ince bir tabaka halindedir. Bu nedenle hücre içinde üretilen hidrojen peroksit, plazma zarındaki akuaporinlerden geçerek hızla hücre dışına difüze olabilir [47]. Bitki hücrelerinde hidrojen peroksidin diğer kaynakları ise apoplastik bölgedeki NADPH oksidazlar ve hem içeren sınıf-III peroksidazlardır [11].

Bitki hücrelerinde süperoksit radikalinin olduğu bölgeler aynı zamanda hidrojen peroksit oluşumunun da orijini olarak kabul edilmektedir. Peroksidaz grubu enzimler biyotik stres faktörlerine maruz kalan bitkilerde hidrojen peroksit oluşumundan sorumlu tutulmaktadır [48,49]. Yapılan birçok araştırma bakır içeren amino oksidazlar ve poliamin oksidazlarla, glutatyon ve askorbat oksidazlar gibi sınıf-III peroksidazların tuzluluk, ağır metal, yüksek ışık yoğunluğu ve diğer abiyotik stres faktörlerinin etkisiyle



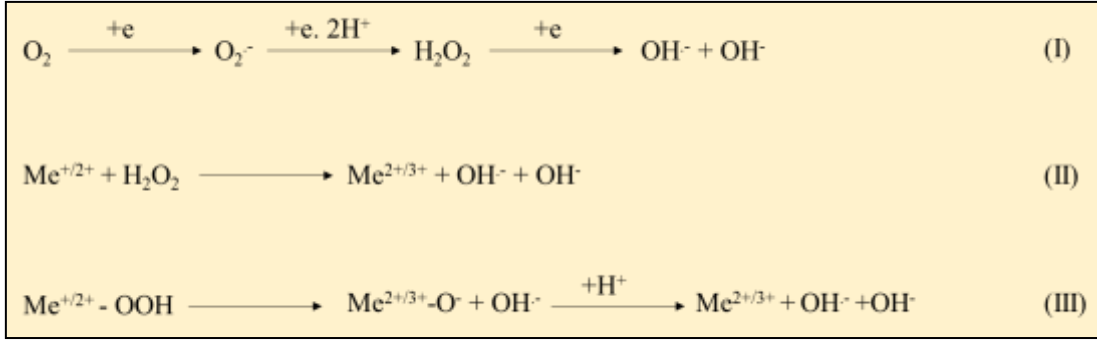
aktivitelerinin arttığını ve bitki dokularında AOT üretimi için önemli olduğunu göstermiştir [50-52].

Bitkilerde oksidatif stresin hidrojen peroksit molekülü ile indüklendiğine inanılmaktadır. Hidrojen peroksidin oksitleyici özelliği zayıftır. DNA, amino asitler ve lipidlerde kimyasal bir değişime neden olmaz. Ancak hidrojen peroksit doğrudan doğruya sülfidril grupları ile etkileşime girer ve asıl hedefi hidroksil radikaline dönüşmesini sağlayacak olan geçiş metallerini bağlayan bölgelerdir [53,54]. Hidrojen peroksidin fruktoz bifosfat gibi bazı enzimleri inaktif hale getirdiği rapor edilmiştir. Ancak bu inaktivasyonun sebebinin aslında çözeltilerdeki geçiş metalleri olduğu ortaya çıkarılmıştır ve birçok proteinin geçiş metali içermeyen çözeltilerde 100 mM'lık hidrojen peroksit konsantrasyonunda stabil kalabildiği bildirilmiştir [25].

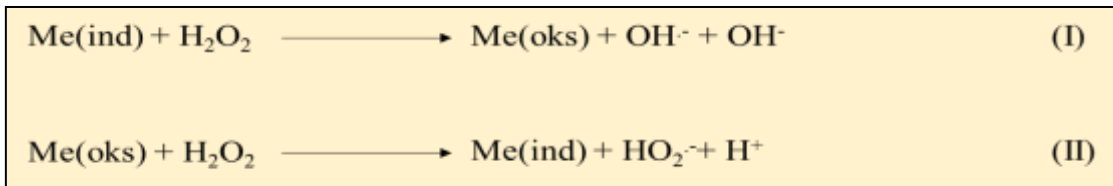
### **Hidroksil radikali (OH<sup>·</sup>)**

Hidroksil radikali oksidatif stres boyunca lipid peroksidasyonu ile nükleik asitler ve proteinlerde meydana gelen oksidatif hasardan en fazla sorumlu olan AOT'dir. Bunun dışında, oksidatif stres sinyali ve programlanmış hücre ölümleri ile doğrudan ilişkili olduğu da rapor edilmiştir [55,56]. Hidroksil radikali bitkilerin strese maruz kalmasından hemen sonra oluşmaya başlar ve hem kalsiyum hem de potasyum kanallarını aktif hale getirerek kalsiyumun hücre içine girmesine, potasyumun da hücre dışına çıkmasına neden olur [56]. Hidroksil radikalının *in vivo* ortamdaki yarı ömrü yaklaşık 1 ns, difüzyonla katedebileceği mesafe ise 1 nm'den daha azdır [57]. Ancak birçok organik molekülle reaksiyona girme yeteneği oldukça yüksektir. Canlılarda hidroksil radikalini temizleyecek ya da detoksifiye edecek herhangi bir enzim sistemi yoktur. Mannitol, sorbitol, dimetil sulfoksit ve tiyüre gibi bazı bileşiklerin etkileri hidroksil radikalının detoksifikasyonu ile değil; bu bileşiklerin hidroksil radikali öncülleri ile reaksiyonu ve geçiş metallerini şelatlamaları ile ilgilidir.

Hidroksil radikali biyosentezi için Fenton reaksiyonları önemlidir (Şekil 5). On dokuzuncu yüzyılda Fenton tarafından gerçekleştirilen çalışmasına amacı Fe<sup>+2</sup> iyonlarının tartarik asit üzerindeki etkilerinin araştırılması idi [58]. Ancak elde edilen bulguların öneminden dolayı bir asırdan uzun süredir kullanılmaktadır. Günümüzde Fenton kimyası ve Fenton benzeri reaktifler gibi ifadeler, hidrojen peroksit ve geçiş metallerinin varlığında meydana gelen hidroksil radikali, su ve süperoksit radikali oluşturan reaksiyonlar için kullanılmaktadır [59].



**Şekil 5** Bitkilerde hidroksil radikalinin oluşmasına neden olan reaksiyonlar (Me: metal) [15]  
Fenton reaksiyonları sırasında birçok ara ürün oluşmasına rağmen, net reaksiyon şekil 6'daki gibidir [60, 61].



**Şekil 6** Fenton reaksiyonu (Me: metal; ind: indirgenmiş; oks: oksitlenmiş) [60]

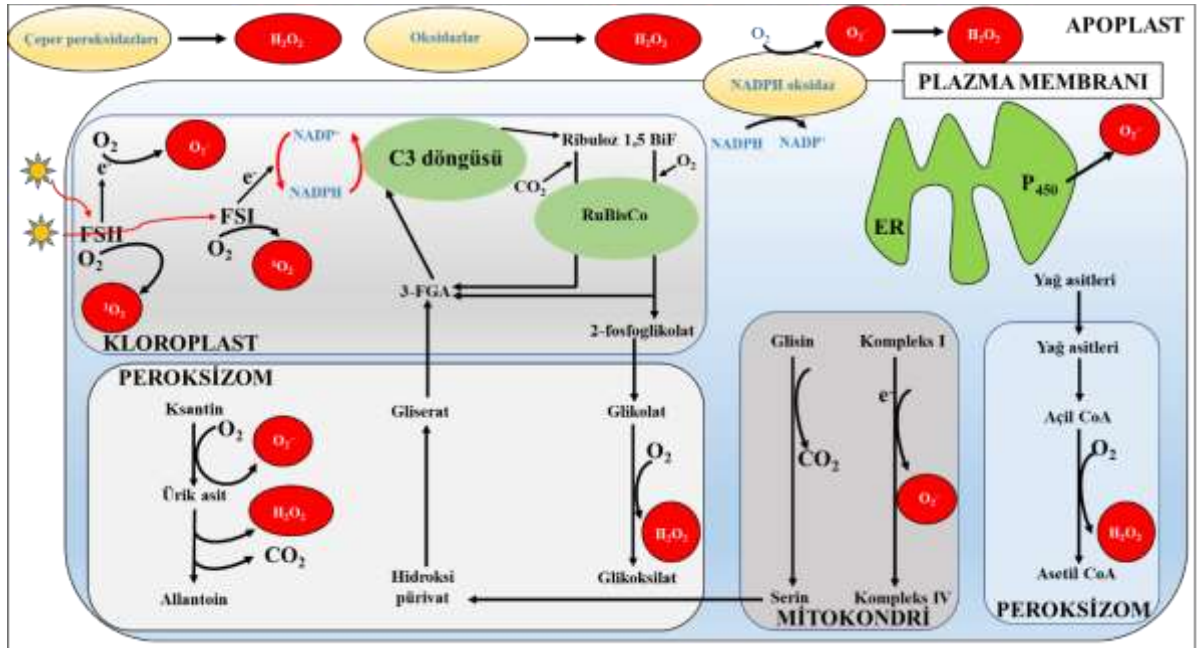
Bitkilere UV-B stresi uygulaması sonucunda hidroksil radikalinin bitki dokularındaki aşırı üretimi büyümenin inhibisyonuna neden olmaktadır [62,63]. *Arabidopsis thaliana* köklerinde de tuz stresi etkisiyle hidroksil radikali üretiminin arttığı rapor edilmiştir. Sonuçta hidroksil radikali birikimi potasyum kanallarını aktive ederek hücrelerin potasyum kaybetmesine, potasyuma bağımlı proteazların ve endonükleazların aktivasyonu da programlanmış hücre ölümlerine yol açmıştır [56]. Hidroksil radikali birikiminin fotosentetik aygıtta da önemli hasarlara yol açtığı belirlenmiştir [64]. Stres koşulları altında hidroksil radikali her iki fotosistem tarafından da üretilebilir. FSI'deki elektron kaçakları süperoksit birikimine neden olur. Oluşan süperoksit radikalleri dismutasyon reaksiyonu ile hidrojen peroksit'e dönüştürülür. Daha sonra stromada birikim gösteren hidrojen peroksit serbest geçiş metalleri ile hidroksil radikale dönüşür [65]. FSII'de muhtemelen geçiş metallerini bağlayan üç bölge hidrojen peroksitten hidroksil radikali oluşumuna neden olur [66]. Böylece oluşan oksidatif stres sonucunda kloroplastların fonksiyonu bozulur.

### **Singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ )**

Oksijenin kloroplastlarda FSII' nin reaksiyon merkezi olan P680'in ışığı absorbe etmesi sonucunda aktive edilmesi, oldukça reaktif olan singlet oksijen radikalinin oluşumuna yol

açar [67,32]. Singlet oksijen reaksiyon merkezinde bulunan  $\beta$ -karotenin yanı sıra su, tokoferol, indirgenmiş plastokinon ve flavonoidler yardımıyla hızla detoksifiye edilebilir [68,67,32,69,70]. Bitkilerde özellikle fotooksidatif stres gibi abiyotik stres koşulları altında singlet oksijenin üretim miktarı artış gösterebilir [11,32,70]. Sonuçta oksidatif hasar meydana gelir ve programlanmış hücre ölümleri tetiklenir [71,72].

Singlet oksijenin dokulardaki yarı ömrünün ve difüzyon mesafesinin sırasıyla yaklaşık 3,5  $\mu$ s ve 190 nm olduğu belirlenmiştir [32]. Bazı araştırmacılar da singlet oksijen için kloroplastlardaki difüzyon hızının sadece birkaç nm olduğunu belirtmiş buna gerekçe olarak da hücre öz suyunun yüksek viskozitesini ileri sürmüşlerdir [73]. Ancak son yıllarda özel sensörlerle yapılan araştırmalar singlet oksijenin bitki hücrelerinde sanıldığından daha stabil bir yapıya sahip olduğunu, difüzyonla kloroplastların dışına çıkarak hücre çeperine kadar ulaşabildiğini göstermiştir [74,75]. Buna göre singlet oksijenin bitki hücrelerinde birçok makromolekülle reaksiyona girerek oksidatif hasara neden olma kapasitesine sahip olduğu söylenebilir. Şekil 7’de bitki hücrelerindeki AOT’lerin oluşum bölgeleri ve reaksiyonları özetlenmiştir.



Şekil 7 Bitki hücrelerinde AOT'lerin oluşabileceği bölgeler (3-FGA: 3-fosfoglisarat; ER: endoplazmik retikulum; RuBisCo: ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz oksijenaz) [21]

## **Bitkilerde Oksidatif Stresin Temel Hasar Mekanizmaları**

### **Lipid peroksidasyonu**

Oksidatif stres proteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar ve lipidler gibi makromoleküllerde geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz modifikasyonlara yol açar [28, 76]. Bunlar arasında özellikle lipid oksidasyonu veya lipid peroksidasyonu oldukça tehlikelidir. Çünkü bu olay neden olduğu bir seri reaksiyon sonucunda daha farklı serbest radikallerin oluşumuna neden olur ve oksidatif stres göstergesi olarak kabul edilir [76].

Lipid peroksidasyonu başlama, yayılma ve sonlanma olmak üzere üç basamakta gerçekleşen bir olaydır [77,76]. Lipid peroksidasyonunun başlama evresi lipid molekülünden bir hidrojen atomunun hidroksil, alkoksil, peroksil radikalleri ile peroksinitrit yardımıyla uzaklaştırılması ile tetiklenir. Bu olayda hidrojen peroksit ve süperoksit radikali etkili değildir [25]. Hidrojen atomu moleküldeki metilen (-CH<sub>2</sub>-) grubundan çıkarılır ve sonuçta karbon merkezli bir lipid radikali (-CH·- veya L·) meydana gelir. Fosfolipidler radikallere ve peroksidasyona duyarlıdır çünkü yağ asitlerinin yapısındaki çift bağlar C-H bağlarını zayıflatır ve hidrojenin uzaklaştırılmasını kolaylaştırır. L· oksijeni aktive eder ve oksijen merkezli bir lipid peroksil radikali (LOO·) oluşturur. Bu radikal de komşu yağ asidinden bir hidrojen atomu uzaklaştırarak bir lipid hidroperoksit (LOOH) ve ikinci lipid radikalini (L·) meydana getirir [77]. Böylece yayılma evresi başlar. LOOH indirgenmiş demir ve bakır gibi geçiş metalleri ile indirgeyici bir kırılmaya uğrayabilir lipid alkoksil radikalini (LO·) meydana getirir. Bu radikal de oldukça reaktiftir ve başka bir yağ asidinden bir hidrojen atomu koparabilir. Lipid peroksidasyonunun diğer önemli bir mekanizması da çift bağların fotosistem II reaksiyon merkezindeki singlet oksijenle direkt reaksiyonu sonucunda LOOH oluşumudur [78,72,76].

Şiddetli lipid peroksidasyonu membranların zarar görmesine, seçici geçirgen özelliğın zayıflamasına, organellerin parçalanmasına, DNA, RNA ve proteinlerin fonksiyonlarını kaybetmesine neden olur [25,76]. Lipid peroksidasyonunun son ürünleri (malondialdehit 4-hidroksi-2-nonenal, 4-hidroksi-2-hegzanal ve akrolein) oksidatif stres markörü olarak kabul edilmektedir.

### **Protein modifikasyonları**

AOT'ler proteinogenik amino asitleri oksitleyebilir [79,80]. Proteinlerin yapısındaki bu tip modifikasyonlar spesifik metabolik, yapısal, düzenleyici ve taşıyım gibi proteinlerle

gerçekleştirilen fonksiyonların bozulmasına veya tamamen kaybolmasına yol açar. Protein oksidasyonu aynı zamanda toksik protein ürünlerinin oluşumuna ve sonuçta hücre ölümlerine yol açabilir [80]. 4-hidroksinonenal ve malondialdehit gibi lipid peroksidasyonu ürünleri lizin ve histidin gibi amino asitlerle reaksiyona girerek bu molekülleri oksitleyebilir. Proteinlerdeki oksidasyon sonucunda oluşan hasarların çoğunun geri dönüşümsüz olduğuna inanılmaktadır. Ancak metionin ve sistein gibi kükürt içeren amino asitler bu konuda istisnadır [81-83]. Birçok aminoasidin oksidasyonu patofizyolojik bir olay olarak kabul edilirken, kükürt içeren amino asitlerin oksidasyonunun, protein katlanması örneğinde olduğu gibi, düzenleyici bir rolü vardır. Sisteinin AOT'lerle reaksiyonunun geri dönüşümlü olması bu aminoasidin tam olarak oksitlenmemesi ile ilgilidir. Proteinlerin yapısındaki farklı amino asitlerin oksidasyona uğraması fonksiyonel olarak da farklı sonuçlar doğurmaktadır [81,84,83]. Örneğin metionin AOT'lere karşı oldukça duyarlıdır. Bu amino asit kolayca ve geri dönüşümlü bir şekilde oksitlenir ancak bu durum metioninin yapısında bulunduğu proteinin fonksiyonunu etkilemez. Metionin ayrıca bazı durumlarda proteinin yapısında bulunan diğer amino asitlerin oksidasyona uğramasını da engelleyebilir. Sisteinin oksidasyonu ise oldukça önemli düzenleyici sonuçlara neden olur.

Karbonil grubunun oluşumu (karbonilasyon) en yaygın oksidatif protein modifikasyonları arasındadır [85]. Karbonilasyonun meydana gelebilmesi için metionin ve sisteinin oksidasyonundan daha fazla enerji gerekir. Ayrıca karbonilasyon daha fazla amino asit üzerinde etkili olur ve proteinlerin yapı ve fonksiyonunda daha ciddi etkiler yaratır [86,85]. Karbonilasyon sonucunda genellikle reaktif ketonlar ve aldehitler oluşur. Lizin, arjinin, prolin ve treoninin yan zincirlerinde meydana gelen oksidasyonlar primer protein karbonilasyon reaksiyonları olarak kabul edilir. Sekonder protein karbonilasyon reaksiyonları ise lipid peroksidasyonu boyunca meydana gelen aldehitlerin ilavesi ile meydana gelir. Karbonilasyon, polipeptid zincirine büyük ve reaktif grupların eklenmesine neden olur. Protein yapısında moleküller arası kovalent çapraz bağlanma, kırılma veya protein degradasyon hızında değişimler gibi ciddi sonuçlara yol açar. Bu tip değişimler de proteinlerin fizyolojik ve enzimatik aktivitelerini inhibe eder. Tuzluluk, kuraklık ve ağır metal toksisitesi gibi birçok stres faktörünün bitkilerde protein karbonilasyonuna neden olduğu rapor edilmiştir [86-88].

### **Karbonhidratlar üzerindeki etkiler**

Karbonhidratlar bitkilerde en yaygın bulunan organik bileşiklerdendir. Ancak oksidatif stres ve stres sinyali bakımından en az çalışılan bileşiklerdir. Karbonhidratlar çeper yapısına girerek bitkilere mekanik destek ve şekil verir, indirgenmiş karbonun depolanmasını sağlar, enzim aktivitesini ve ozmotik basıncı düzenler ve enzimatik olmayan antioksidant savunma sağlar. Karbonhidratların oksidasyonu bitkiler için zararlıdır.

Hidroksil radikallerinin ksiloglukanlarla ve pektinlerle enzimatik olmayan bir şekilde reaksiyona girdiği, bunları parçaladığı ve çeper yumuşamasına neden olduğu bildirilmiştir [53]. Bu olay aslında bitkilerde hücre büyümesi ve meyve olgunlaşması bakımından faydalıdır [53,54]. Ancak stres koşulları söz konusu olduğunda ve katalitik bakır ve demir aktiviteleri arttığında patofizyolojik sonuçlar ortaya çıkabilir [89,90].

Mono ve disakkaritlerin AOT temizleyicisi olarak rol oynadığı bildirilmiştir [91]. Buna göre AOT temizleme konusunda en etkili olan karbonhidrat maltoz, etkisi en zayıf olan ise sorbitoldür [92]. Birçok bitki türünde glukoz, fruktoz, sukroz, trehaloz ve mannitol gibi karbonhidratların birikimleri ile oksidatif strese direnç arasında bir korelasyon belirlenmiştir [93,91]. Bu karbonhidratların bazı antioksidant enzimlere ait genlerin ekspresyonunu olumlu yönde etkilediği rapor edilmiştir [93].

### **Nükleik asitler üzerindeki etkiler**

Oksidatif DNA hasarı tohum stoklarının yaşlanmasından ve tarımsal öneme sahip olan bitkilerin ölümünden sorumlu olabilir [94]. Bu hasarlar yanlış baz eşleşmeleri, çift zincirde meydana gelen kırılmalar ve bazlardaki kimyasal değişimler olmak üzere üç grupta incelenmektedir [95,96]. Hidroksil radikalleri nükleik asitlerde, nükleotid bazlarına çift bağ ilave ederek ve hem 2-deoksiribozun her bir C-H bağından ve timinin metil grubundan hidrojen atomunu çıkararak hasar oluşturur [97].

Bitkilerde DNA hasarlarının tamir edilmesini sağlayan bir onarım sistemi vardır. Bu sistem molekülün hasar gören kısmının doğrudan onarımını sağladığı gibi baz ve nükleotid değişimini de sağlar [98]. Bu koruma konusunda sitosol ve organellerdeki antioksidant savunma da önemli rol oynar. Yapılan araştırmalar nükleustaki AOT detoksifiye eden enzimlerin DNA' nın oksidatif stresten korunması konusunda yetersiz kaldığını göstermiştir [99]. Aynı zamanda stres koşulları altında katalaz ve sitosolik

askorbat peroksidaz enzimlerinin nükleer DNA'nın oksidatif hasardan korunmasını sağladığı bildirilmiştir [99].

## **Çevresel Faktörlerin Bitki Oksidatif Stresine Etkisi**

### **Tuz stresi**

Toprak tuzluluğu dünyanın kurak ve yarı kurak bölgelerinde tarımsal bitkilerin ürün miktarı ve kalitesini sınırlayan stres faktörlerinden biridir. Tuz stresi bitkilerde iyon toksisitesi, besin eksikliği, genotoksisite ve ozmotik stresin yanı sıra oksidatif strese yol açarak hasarlar oluşturmaktadır [100]. Bitkilerde tuz stresinin hakim olduğu süre boyunca stomaların iletkenliği azalmakta ve CO<sub>2</sub> alınımı kısıtlanmaktadır. Böylece Calvin döngüsünde kullanılacak hücreler arası CO<sub>2</sub> konsantrasyonu azalmakta ve oksitlenmiş NADP<sup>+</sup> miktarının azalması sonucunda NADP<sup>+</sup>'ye verilmesi gereken elektronlar oksijene verilerek O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalinin oluşumu gerçekleşmektedir [101]. O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikalinin enzimatik ya da enzimatik olmayan mekanizmalarla dismutasyonu sonucu meydana gelen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tuz stresi altındaki bitkilerde Fenton reaksiyonu sonucunda aşırı derecede reaktif olan hidroksil radikaline dönüşebilir. Bunun dışında fotosistem II'nin reaksiyon merkezinde, tuz stresi nedeniyle gözlenen yetersiz enerji dağıtımı sonucunda triplet klorofil moleküllerinden singlet oksijen oluşumu da gözlenmektedir [102]. Farklı bitki türlerinde yapılan araştırmalar tuz stresinin neden olduğu oksidatif stresin altında yatan temel sebebin dokulardaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve süperoksit birikimi olduğunu göstermiştir [103-109].

### **Kuraklık stresi**

Küresel ısınmanın bir sonucu olarak etkisi her geçen gün daha yoğun bir şekilde hissedilmeye başlayan kuraklık stresi, bitki büyümesini ve tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyen çevresel stres faktörleri arasındadır [110]. Bitkilerde kuraklık stresinin etkileri arasında dokulardaki su miktarının azalması, yaprak dokularının su potansiyelinin azalması ve turgor kaybı, stomaların kapanması, hücre büyümesinin yavaşlaması, enzim aktivitelerinin değişmesi ve fotosentetik aktivitenin azalması sayılabilir [111]. Ayrıca aktif oksijen türlerinin miktarındaki artış sonucunda ortaya çıkan oksidatif stres de bitkilerde kuraklık stresinin sekonder etkisi olarak kabul edilmektedir. Yapılan araştırmalar kuraklık stresi altındaki *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Helianthus annuus*, *Stevia rebaudiana*, *Triticum aestivum*, *Oryza sativa* and *Sorghum bicolor* gibi bitki türlerinin dokularında kuraklık stresi sonucu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub><sup>-</sup> miktarının belirgin şekilde arttığı belirlenmiştir [112-118].

### **Düşük sıcaklık stresi**

Düşük sıcaklıklar özellikle ılıman iklime sahip bölgelerde bitkilerin coğrafi dağılımını, büyüme ve gelişmesini, verimini ve canlılığını etkileyen abiyotik stres faktörlerinden biridir [119]. Düşük sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde birçok fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişim gözlenmektedir [120]. Düşük sıcaklıkların bitki metabolizmasına yol açtığı değişimlerin temelinde üretim hızı artan süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali gibi bileşiklerin neden olduğu oksidatif strestir [119]. Mercimek, domates, *Solanum lycopersicum*, arpa ve pirinç gibi bitkilerde düşük sıcaklık stresinin dokulardaki AOT miktarını artırdığı tespit edilmiştir [121-125].

### **Sonuç**

Metabolik olaylar sırasında bitki hücrelerinde farklı aktif oksijen türleri sürekli oluşmaktadır. Antioksidant sistemin enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri aktif oksijen türlerinin neden olabileceği oksidatif hasara karşı korumaktadır. Ancak biyotik ve abiyotik stres faktörleri bitki hücrelerindeki aktif oksijen türlerinin oluşum hızını artırmakta ve antioksidant sistemin kapasitesi hücrenel bileşenleri koruma konusunda yetersiz kalabilmektedir. Bu durumda tarımsal bitkiler söz konusu olduğunda ciddi verim kayıpları ortaya çıkmaktadır. Günümüzde ekonomik öneme sahip olan bitkilerin çeşitli stres faktörlerine karşı direncini artırmak ve ürün kayıplarını en düşük seviyeye indirmek için moleküler tekniklerle bitkilerin antioksidant kapasitesi artırılmaya çalışılmaktadır. Bunun dışında bitkilere antioksidant sistemi uyaracak hidrojen peroksit gibi bileşikler veya antioksidant sistemin metabolit gereksinimini daha iyi karşılamak amacıyla askorbik asit, glutatyon ve  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini) gibi antioksidant etkiye sahip bileşikler uygulanarak bitkiler oksidatif strese daha dirençli hale getirilmeye çalışılmaktadır. Buna göre, bitki dokularında aktif oksijen türlerinin oluşumu, kimyası ve oksidatif hasar oluşturma mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ürün kayıplarının da azaltılması bakımından faydalı olacaktır.

#### **Açıklama ve teşekkür**

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından 0201601005 numaralı proje ile desteklenmiş ve Ali Doğru'nun doktora tezinden üretilmiştir.

#### **Çıkar çatışması**

Yazar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.



## Kaynaklar

1. Halliwell, B., Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 2006. 141(2): p. 312-322.
2. Alscher, R.G., J.L. Donahue, and C.L. Cramer, Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. *Physiologia Plantarum*, 1997. 100(2): p. 224-233.
3. Dat, J., et al., Dual action of the active oxygen species during plant stress response. *Cell and Molecular Life Science*, 2000. 57(5): p. 779-795.
4. Bray, E.A., J. Bailey-Serres, and E. Weretylnik, *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 1. Baskı, American Society of Plant Physiologists, 2000.
5. Öncel, I., Y. Keleş, and A.S. Üstün, Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. *Environmental Pollution*, 2000. 107(3): p. 35-320.
6. del Rio, L.A., et al., Activated oxygen-mediated metabolic functions of leaf peroxisomes. *Plant Physiology*, 2006. 104(4): p. 673-680.
7. Navrot, N., et al., Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Plant Physiology*, 2007. 129(1): p. 185-195.
8. Foyer, C.H. and G. Noctor, Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *Plant Cell*, 2005. 17: p. 1866-1875.
9. Bhattacharjee, S., Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress senescence and signal transduction in plants. *Current Science*, 2005. 89(7): p. 1113-1121.
10. Mittler, R., Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 2002. 7(9): p. 405-410.
11. Apel, K. and H. Hirt, Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 2004. 55: p. 373-399.
12. Khan, N.A. and S. Singh, S, *Abiotic Stress and Plant Responses*, 1. Baskı, IK International, 2008.
13. Canavar, S., Bazı arpa (*Hordeum vulgare* L.) genotiplerinde tuz toleransının fizyolojik ve biyokimyasal olarak araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, Türkiye, 2018.
14. Guido, V., *Fundamentals of physics and chemistry of atmosphere*, 1. Baskı, Springer, 2001.
15. Demidchik, V., *Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology*. *Environmental and Experimental Botany*, 2015. 109: p. 212-228.
16. Renda, A., et al., On the origin of fluorine in milky way. *Monthly Notices of Royal Astronomy Society*, 2004. 354: p. 575-580.
17. Dowling, D. K., and L.W. Simmons, Reactive oxygen species as universal constraints in life-history evolution. *Proceeding of the Royal Society Part B Biological Science*, 2009. 276: p. 1737-1745.
18. Salin, M.L., Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiologia Plantarum*, 1987. 72: p. 681-689.
19. Edrewa, A., Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approaches. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 2005. 106: p. 119-133.
20. Vranova, E., et al., *Plant Signal Transduction*, 1. Baskı, Oxford University Press, 2003.
21. Doğru, A., Kolzanın (*Brassica napus* L. ssp. oleifera) bazı kışlık çeşitlerinde düşük sıcaklık toleransı ile ilgili fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırılması. Doktora Tezi, Biyoloji Bölümü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2006.
22. Hippeli, S., I. Heiser, and E.F. Elstner, Activated oxygen and free oxygen radicals in pathology: new insight and analogies between animals and plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1999. 37: p. 167-178.
23. Niyogi, K.K., Photoprotection revisited: geneic and molecular approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, 1999. 50: p. 333-359.

24. Kavdia, M., A computational model for free radicals transport in the microcirculation. *Antioxidant Redox Signal*, 2006. 8: p. 1103-1111.
25. Halliwell, B., and J.M.C. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*, 1. Baski, Oxford University Press, 1999.
26. Smirnov, N., The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 1993, 125: p. 27-58.
27. Lesser, M.P., Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annual Review of Physiology*, 2006. 68: p. 253-278.
28. Moller, I.M., P.E. Jensen, and A. Hansson, Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2007. 58: p. 459-481.
29. Rinalducci, S., L. Murgiano, and L. Zolla, Redox proteomics: basic principles and further perspectives for the detection of protein oxidation in plants. *Journal of Experimental Botany*, 2008. 59: p. 3781-3801.
30. Takahashi, S., and M.R. Badger, Photoprotection in plants: a new light on photosystem II damage. *Trends in Plant Science*, 2011. 16: p. 53-60.
31. Moller, I.M., Plant mitochondria and oxidative stress. Electron transport, NADPH turnover and metabolism of reactive oxygen species. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001. 52: p. 561-591.
32. Asada, K., Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, 2006. 141: p. 391-396.
33. Pospisil, P., et al., Hydroxyl radical generation by photosystem II. *Biochemistry*, 2004. 43: p. 6783-6792.
34. Hirst, J., M.S. King, and K.R. Pryde, The production of reactive oxygen species by complex I. *Biochemical Society Transaction*, 2008. 36: p. 976-980.
35. Ananyev, G.M., et al., The production of superoxide radicals and the superoxide dismutase activity of photosystem II. The possible involvement of cytochrome b559. *Photosynthesis Research*, 1994. 41: p. 327-338.
36. Cleland, R.E., and S.C. Grace, Voltammetric detection of superoxide production by photosystem II. *FEBS Letter*, 1999. 457: p. 348-352.
37. Pospisil, P., et al., Evidence that cytochrome b559 is involved in superoxide production in photosystem II. Effect of synthetic short-chain plastoquinones in a cytochrome b559 tobacco mutant. *Biochemical Journal*, 2006. 397: p. 321-327.
38. Chen, G.X., J. Kazimir, and G.M. Cheniae, Photoinhibition of hydroxylamine-extracted photosystem II membranes: studies of the mechanism. *Biochemistry*, 1992. 31: p. 11072-11083.
39. Chen, G.X., et al., Superoxide contributes to the rapid inactivation of specific secondary donors of the photosystem II reaction center during photodamage of manganese-depleted photosystem II membranes. *Biochemistry*, 1995. 34: p. 2317-2332.
40. Foyer, C.H., and G. Noctor, Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation and practical implications. *Antioxidant Redox Signal*, 2009. 11: p. 861-710.
41. Asada, K., The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen species and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1999. 50: p. 601-639.
42. Reumann, S., and A.P.M. Weber, Plant peroxisomes respire in the light: Some gaps of the photorespiratory C2 cycle have become filled. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006. 1763: p. 1496-1510.
43. del Rio, L.A., et al., Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes. *Journal of Experimental Botany*, 2002. 53: p. 1255-1272.
44. Lopez-Huertas, E., et al., Stress induces peroxisomes biogenesis genes. *EMBO Journal*, 2000. 19: p. 6770-6777.

45. Hernandez, J.A., et al., Antioxidant systems and  $O_2^-/H_2O_2$  production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiology*, 2001. 127: p. 817-831.
46. Mhamdi, A., G. Noctor, and A. Baker, Plant catalases: peroxisomal redox guardians. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012. 15: p. 181-194.
47. Dynowsky, M., et al., Plant plasma membrane water channels conduct the signaling molecule  $H_2O_2$ . *Biochemical Journal*, 2008. 414: p. 53-61.
48. Bolwell, G.P., and P. Wojtaszek, Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence—a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1997. 51: p. 347-366.
49. Bindschedler, L.V., et al., Peroxidase-dependent apoplastic oxidative burst in *Arabidopsis* required for pathogen resistance. *Plant Journal*, 2006. 47: p. 851-863.
50. Rodriguez, A.A., K.A. Grunberg, and E. Taleisnik, Reactive oxygen species in the elongation zone of maize leaves are necessary for leaf extension. *Plant Physiology*, 2002. 129: p. 1627-1632.
51. Rodriguez, A.A., et al., Salinity-induced decrease in NADPH oxidase activity in the maize leaf blade elongation zone. *Journal of Plant Physiology*, 2007. 164: p. 223-230.
52. Chang, C.C.C., et al., *Arabidopsis* chloroplastic glutathione peroxidase play a role in crosstalk between photooxidative stress and immune response. *Plant Physiology*, 2009. 150: p. 670-683.
53. Fry, S.C., J.G. Miller, and J.C. Dumville, A proposed role of copper ions in cell wall loosening. *Plant and Soil*, 2002. 247: p. 57-67.
54. Fry, S.C., Primary cell wall metabolism: tracking the careers of the wall polymers in living plant cells. *New Phytologist*, 2004. 161: p. 641-675.
55. Demidchik, V., et al., Free oxygen radicals regulate plasma membrane  $Ca^{+2}$ - and  $K^+$  permeable channels in plant root cells. *Journal of Cell Science*, 2003. 116: p. 81-88.
56. Demidchik, V., *Reactive oxygen species, oxidative stress and plant ion channels*, 1. Baski, Springer-Verlag, 2010.
57. Sies, H., Strategies of antioxidant defence. *European Journal of Biochemistry*, 1993. 215: p. 213-219.
58. Fenton, H.J.H., Oxidation of tartaric acid in presence of iron. *Journal of Chemical Society Transactions*, 1894. 65: p. 899-911.
59. Goldstein, S., D. Meyerstein, and G. Czapski, The Fenton reagents. *Free Radical Biology and Medicine*, 1993. 15: p. 435-445.
60. Koppenol, W.H., The Haber-Weiss cycle-70 years later. *Redox Reports*, 2001. 6: p. 229-234.
61. Haber, F., and J. Weiss, On the catalysis of hydroperoxide. *Naturwissenschaften*, 1932. 20: p. 948-950.
62. Jain, K., S. Kataria, and K.N. Guruprasad, Oxyradicals under UV-B stress and their quenching by antioxidant. *Journal of Experimental Biology*, 2004. 42: p. 884-892.
63. Kataria, S., K. Jain, and K.N. Guruprasad, Involvement of oxyradicals in promotion/inhibition of expansion growth in cucumber cotyledons. *Journal of Experimental Biology*, 2005. 43: p. 910-915.
64. Sersen, F., and K. Kralova, *EPR spectroscopy—a valuable tool to study photosynthesizing organisms exposed to abiotic stresses*, 1. Baski, Intech, 2013.
65. Snyrychova, I., P. Pospisil, and J. Naus, Reaction pathways involved in the production of hydroxyl radicals in the thylakoid membrane: EPR spin-trapping study. *Photochemical and Photobiological Science*, 2006. 5: p. 472-476.
66. Pospisil, P., Production of reactive oxygen species by photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 2009. 1787: p. 1151-1160.
67. Schweitzer, C., and R. Schmidt, Physical mechanisms of generation and deactivation of singlet oxygen. *Chemical Reviews*, 2003. 103: p. 1685-1757.

68. Trebst, A., and B. Depka, Role of carotene in the rapid turnover and assembly of photosystem II in *Chlamydomonas reinhardtii*. FEBS Letter, 1997. 400: p. 359-362.
69. Kruk, J., and A. Trebst, Plastoquinol as a singlet oxygen scavenger in photosystem II. Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics 2008. 1777: p. 154-162.
70. Fischer, B.B., E. Hideg, and A. Krieger-Liszkay, Production, detection, and signaling of singlet oxygen in photosynthetic organisms. Antioxidant Redox Signaling, 2013. 18: p. 2145-2162.
71. Fornazari, M., et al., Redox properties of the adenosine triphosphate sensitive K<sup>+</sup> channel in brain mitochondria. Journal of Neuroscience Research, 2008. 86: p. 1548-1556.
72. Przybyla, D., et al., Enzymatic, but not non-enzymatic <sup>1</sup>O<sub>2</sub>-mediated peroxidation of polyunsaturated fatty acids forms part of the Executer1-dependent stress response program in the flu mutant of *Arabidopsis thaliana*. Plant Journal, 2008. 54: p. 236-248.
73. Krasnovsky, A.A.J., Singlet molecular oxygen in photobiochemical systems: IR phosphorescence studies. Membrane Cell Biology, 1998. 12: p. 665-690.
74. Flors, C., et al., Imaging the production of singlet oxygen in vivo using a new fluorescent sensor, Singlet Oxygen Sensor Green (R.). Journal of Experimental Botany, 2006. 57: p. 1725-1734.
75. Driever, S.M., et al., Imaging of reactive oxygen species in vivo. Methods in Molecular Biology, 2009. 479: p. 109-116.
76. Farmer, E.E., and M.J. Mueller, ROS mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. Annual Review of Plant Biology, 2013. 64: p. 429-450.
77. Catala, A., An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 2006. 38: p. 1482-1495.
78. Krieger-Liszkay, A., C. Fufezan, and A. Trebst, Singlet oxygen production in photosystem II and related protection mechanisms. Photosynthesis Research, 2008. 98: p. 551-564.
79. Moller, L.M., P.E. Jensen, and A. Hansson, Oxidative modifications to cellular components in plants. Annual Review of Plant Biology, 2007. 58: p. 459-481.
80. Avery, S.V., Molecular targets of oxidative stress. Biochemical Journal, 2011. 434: p. 201-210.
81. Shacter, E., Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. Drug Metabolism Reviews, 2000. 32: p. 307-326.
82. Bechtold, U., D.J. Murphy, and P.M. Mullineaux, Arabidopsis peptide methionine sulfoxide reductase prevents cellular oxidative damage in long nights. Plant Cell, 2004. 16: p. 908-919.
83. Onda, Y., Oxidative protein-folding systems in plant cells. International Journal of Cell Biology, 2013. 585: p. 431-446.
84. Cecarini, V., et al., Protein oxidation and cellular homeostasis: emphasis on metabolism. Biochimica et Biophysica Acta, 2007. 1773: p. 93-104.
85. Lounifi, I., et al., Interplay between protein carbonylation and nitrosylation in plants. Proteomics, 2013. 13: p. 568-578.
86. Tanou, G., et al., Proteomics reveals the overlapping roles of hydrogen peroxide and nitric oxide in the acclimation of citrus plants to salinity. Plant Journal, 2009. 60: p. 795-804.
87. Bartoli, C.G., et al., Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Experimental Botany, 2004. 55: p. 1663-1669.
88. Romero-Puertas, M.C., et al., Cadmium causes the oxidative modification of proteins in pea plants. Plant Cell and Environment, 2002. 25: p. 677-686.
89. Becana, M., and R.V. Klucas, Transition metals in legume root nodules: iron-dependent free radical production increases during nodule senescence. Proceeding of the National Academy of Science USA, 1992. 89: p. 8958-8962.
90. Moran, J.F., et al., Drought induces oxidative stress in pea plants. Planta, 1994. 194: p. 1994-1999.
91. Couee, I., et al., Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and response to oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany, 2006. 57: p. 449-159.

92. Morelli, R., et al., Fenton-dependent damage to carbohydrates: free radical scavenging activity of some simple sugars. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2003. 51: p. 7418-7425.
93. Shen, B., R.G. Jensen, and H.J. Bohnert, Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants by targeting mannitol biosynthesis to chloroplasts. *Plant Physiology*, 1997. 113: p. 1177-1183.
94. Britt, A.B., DNA damage and repair in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1996. 47: p. 75-100.
95. Cooke, M.S., et al., Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB Journal*, 2003. 17: p. 1195-1214.
96. Yoshiyama, K.O., K. Sakaguchi, and S. Kimura, DNA damage response in plants: conserved and variable response compared to animals. *Biology*, 2013. 2: p. 1338-1356.
97. Wang, Z., et al., Characterization of the *Arabidopsis* heterotrimeric G protein. *Journal of Biological Chemistry*, 2008. 283: p. 13913-13922.
98. Tuteja, N., et al., Molecular mechanisms of DNA damage and repair: progress in plants. *Critical Review of Biochemistry and Molecular Biology*, 2001. 36: p. 337-397.
99. Vanderauwera, S., et al., Extranuclear protection of chromosomal DNA from oxidative stress. *Proceeding of the National Academy of Science USA*, 2011. 108: p. 1711-1716.
100. Shah, Z.H., H.M. Rehman, and T. Akhtar, Redox and ionic homeostasis regulations against oxidative, salinity and drought stress in wheat (a systems biology approaches). *Frontiers in Genetics*, 2017. 8: 141-148.
101. Hossain, M.S., and K.J. Dietz, Tuning of redox regulatory mechanisms, reactive oxygen species and redox homeostasis under salinity stress. *Frontiers in Plant Science*, 2016. 7: p. 548-554.
102. Krieger-Liszkay, A. Singlet oksijen production in photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 56, 33346, 2005.
103. Acosta-Motos, J.R., et al., Long-term resistance mechanisms and irrigation critical threshold showed by *Eugenia myrtifolia* plants in response to saline reclaimed water and relief capacity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017. 111: p. 244-256.
104. Hernandez, J.A., et al., Salt induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 1993. 89: p. 103-110.
105. Hernandez, J.A., et al., Salt-induced oxidative stress in chloroplast of pea plants. *Plant Science*, 1995. 105: p. 151-167.
106. Hernandez, J.A., et al., Antioxidant systems and O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production in the apoplast of *Pisum sativum* L. leaves: Its relation with NaCl-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiology*, 2001. 127: p. 817-831.
107. Mittova V., et al., Up-regulation of the leaf mitochondrial peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-tolerant tomato species. *Plant Cell and Environment*, 2003, 26: p. 845-856.
108. Gomez, J.M., et al., Differential response of antioxidative enzymes of chloroplasts and mitochondria to long-term NaCl stress of pea plants. *Free Radical Research*, 1999. 31: p. 11-18.
109. Mittova, V., et al., Salt stress induces up-regulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerant wild tomato species *Lycopersicon pennellii* but not in the cultivated species. *Physiologia Plantarum*, 2002. 115: p. 393-400.
110. Furlan, A.L., E. Bianucci, and S. Castro, Signaling role of ROS in modulating drought stress tolerance, in *Drought Stress Tolerance in Plants*, vol 1: Physiology and Biochemistry, Tran, L.S., Ed., Springer, Cham, Switzerland, 2016.
111. Mattos, L.M., and C.L. Moretti, Oxidative stress in plants under drought conditions and the role of different enzymes. *Enzyme Engineering*, 2015. 5: p. 1-6.
112. Ben Rejeb, K., et al., Hydrogen peroxide produced by NADPH oxidases increases proline accumulation during salt or mannitol stress in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 2015. 208: p. 1138-1148.

113. Hasanuzzaman, M., et al., Nitric oxide pretreatment enhances antioxidant defence and glyoxalase systems to confer PEG-induced oxidative stress in rapeseed. *Journal of Plant Interaction*, 2017. 12: p. 323-331.
114. Baloğlu, M.C., et al., Antioxidative and physiological responses of two sunflower (*Helianthus annuus*) cultivars under PEG-mediated drought stress. *Turkish Journal of Botany*, 2012. 36: p. 707-714.
115. Hajjhashemi, S., and A. Sofo, The effect of polyethylene glycol-induced drought stress on photosynthesis, carbohydrates and cell membrane in *Stevia rebaudiana* grown in greenhouse. *Acta Physiologia Plantarum*, 2018. 40: p. 142-151.
116. Gong, H., et al., Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. *Plant Science*, 2005. 169: p. 313-321.
117. Sharma, P., and R.S. Dubey, Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 2005. 46: p. 209-221.
118. Zhang, J., and M.B. Kirkham, Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, and propyl gallate. *Journal of Plant Physiology*, 1996. 149: p. 489-493.
119. Hu, Z.R., et al., Comparative photosynthetic and metabolic analysis reveal mechanism of improved cold stress tolerance in bermuda grass by exogenous melatonin. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016. 100: p. 94-104.
120. Bajwa, V.S., et al., Role of melatonin in alleviating cold stress in *Arabidopsis thaliana* *Journal of Pineal Research*, 2014. 56: p. 238-245.
121. Moalem, S.K., R.M. Amiri, and S.S.K. Shahandashti, Effect of cold stress on oxidative damage and mitochondrial respiratory properties in chickpea. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018. 122: p. 31-39.
122. Ding, F., M. Wang, and S. Zhang, Overexpression of Calvin cycle enzyme SBPase improves tolerance to chilling-induced oxidative stress in tomato plants. *Scientia Horticulturae*, 2017. 214: p. 27-33.
123. Liu, T., et al., Exogenous 5-aminolevulinic acid pretreatment ameliorates oxidative stress triggered by low temperature stress of *Solanum lycopersicum*. *Acta Physiologia Plantarum*, 2018. 40: p. 210-221.
124. Begovic, L., et al., Induction of oxidative stress in barley by drought and chilling. *Free Radical Biology and Medicine*, 2018. 124: p. 566-569.
125. Han, Q.H., et al., Effects of melatonin on antioxidative systems and photosystem II in cold-stressed rice seedlings. *Frontiers in Plant Sciences*, 2017. 8: p. 785-792.