

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HİDROJEN PEROKSİT ÖN MUAMELESİNİN BAKIR STRESİ TOLERANSI  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyolog Şule GÜZEL**

**HAZİRAN 2011  
TRABZON**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HİDROJEN PEROKSİT ÖN MUAMELESİNİN BAKIR STRESİ TOLERANSI**  
**ÜZERİNE ETKİSİ**

**Biyolog Şule GÜZEL**

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde**  
**"YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)"**  
**Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 20.05.2011**  
**Tezin Savunma Tarihi : 16.06.2011**

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Rabiye TERZİ**

**Trabzon 2011**

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalında

Şule GÜZEL tarafından hazırlanan

**HİDROJEN PEROKSİT ÖN MUAMELESİNİN BAKIR STRESİ TOLERANSI  
ÜZERİNE ETKİSİ**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 31 / 05 / 2011 gün ve 1407 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 16/ 06 / 2011 tarihinde yapılan sınavda

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

**Başkan : Prof. Dr. Asım KADIOĞLU**

**Üye : Prof. Dr. Lokman ALTUN**

**Üye : Yrd. Doç. Dr. Rabiye TERZİ**

*A. Kadioğlu*  
*Lokman Altun*  
*R. Terzi*

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

“Bakır stresi boyunca iki farklı mısır (*Zea mays* L.) çeşidi üzerine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin etkisi ile bazı biyokimyasal değişimlerin araştırıldığı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmanın planlanması ve değerlendirilmesinde her türlü yardımını gördüğüm sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Rabiye TERZİ’ye teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmayı yapabilmem için her türlü laboratuvar imkanlarını kullanmamı sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Asım KADIOĞLU’na, çalışmalarım sırasında metot öğrenmemde yardımcı olan sayın Arş. Gör. Aykut SAĞLAM’a, her konuda bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Savaş İZMİRLİ’ye, Arş. Gör. Tuba ACET’e, doktora öğrencisi Ersan BEKTAŞ’a, Onur TOSUN’a, tüm bölüm arkadaşlarıma ve sonsuz hoşgörülerinden dolayı benden destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli aileme teşekkür ederim.

Şule GÜZEL

Trabzon 2011

## **TEZ BEYANNAMESİ**

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Hidrojen Peroksit Ön Muamelesinin Bakır Stresi Toleransı Üzerine Etkisi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Yrd. Doç. Dr. Rabiye TERZİ ‘nin sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 16/06/2011

Şule Güzel

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VII
SUMMARY.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Ağır Metaller.....	3
1.2.1. Ağır Metallerin Genel Özellikleri.....	3
1.2.2. Ağır Metallerin Biyokimyasal Özellikleri.....	4
1.2.3. Ağır Metallerin Bitkiler Tarafından Alınımı ve Taşınması.....	4
1.2.3.1. Ağır Metallerin Köklerle Alınımı.....	4
1.2.3.2. Ağır Metallerin Köklerle Taşınması.....	5
1.3. Bakır.....	5
1.3.1. Bakırın Özellikleri ve Kullanımları.....	6
1.3.2. Bakırın Bitkilere Toksik Etkisi.....	6
1.4. Stres ve Stres Çeşitleri.....	7
1.4.1. Ağır Metal Stresi.....	8
1.5. Stres Dayanıklılığı.....	8
1.5.1. Ağır Metal Stresine Dayanıklılık.....	9
1.6. Stresin Yaprak Su İçeriği Üzerine Etkisi.....	9
1.7. Oransal Su İçeriği (RWC).....	10
1.8. Streste Prolinin Rolü.....	10
1.9. Stresin İndirgen Şekerler Üzerine Etkisi.....	11
1.10. Stresin Proteinler Üzerine Etkisi.....	12
1.11. Stresin Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi.....	13
1.12. Stresin İyonlar Üzerine Etkisi.....	13
1.13. Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	14

2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	15
2.1.	Materyalin Sağlanması ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /CuSO <sub>4</sub> Uygulanması.....	15
2.2.	Yaprak Su Potansiyeli.....	15
2.3.	Oransal Su İçeriği (RWC).....	16
2.4.	Proteinlerin Analizi.....	16
2.4.1.	Protein Ekstraksiyonu.....	16
2.4.2.	Çözülebilir Protein Tayini.....	16
2.5.	Prolin Tayini.....	17
2.6.	Yapraklarda İndirgen Şeker Tayini.....	17
2.7.	Yapraklarda Kuru Ağırlık Tayini.....	18
2.8.	İyon Ölçümü.....	18
2.9.	İstatistiksel Analiz.....	18
3.	BULGULAR.....	19
3.1.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Kuru Ağırlık Miktarı Üzerine Etkisi .....	19
3.2.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Yaprak Su Potansiyeli Üzerine Etkisi .....	20
3.3.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Oransal Su İçeriği (RWC) Üzerine Etkisi .....	22
3.4.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Çözülebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi .....	24
3.5.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Prolin Miktarı Üzerine Etkisi .....	26
3.6.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin İndirgen Şeker Miktarı Üzerine Etkisi .....	28
3.7.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Sodyum Miktarı Üzerine Etkisi.....	30
3.8.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Kalsiyum Miktarı Üzerine Etkisi.....	32
3.9.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Potasyum Miktarı Üzerine Etkisi.....	34
3.10.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Ön Muamelesinin Magnezyum Miktarı Üzerine Etkisi.....	36
4.	TARTIŞMA.....	39
5.	SONUÇLAR.....	44
6.	ÖNERİLER.....	45
7.	KAYNAKLAR.....	46
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans

ÖZET

HİDROJEN PEROKSİT ÖN MUAMELESİNİN BAKIR STRESİ TOLERANSI  
ÜZERİNE ETKİSİ

Şule GÜZEL

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Rabiye TERZİ  
2011, 55 Sayfa,

Bakır stresine maruz bırakılan mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin iki farklı çeşidinde (Akpınar ve Pegaso) düşük konsantrasyonda hidrojen peroksit ön uygulamasının bitki yapraklarının su içeriği, prolin ve çözülebilir toplam protein miktarları, indirgen şeker seviyesi, mineral madde miktarları ile kuru ağırlıkları üzerine etkisi araştırıldı.

Bu amaçla bitkilerin yaprak su potansiyeli psikometrik, indirgen şeker, prolin, çözülebilir protein ve iyon miktarları spektrofotometrik olarak incelendi.

Yapılan analizler sonucunda, bakır stresinin prolin ve indirgen şeker miktarlarını artırdığı, su içeriği, kuru ağırlık, iyon ve çözülebilir toplam protein içeriğini azalttığı belirlendi. Dıştan uygulanan hidrojen peroksit ön uygulamasının, bitkilerin su içeriği, kuru ağırlık, iyon ve çözülebilir protein miktarındaki kaybı önemli derecede azalttığı görüldü. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının, prolin ve indirgen şeker miktarını kontrollerine göre daha fazla artırdığı bulundu.

Elde edilen verilere göre, düşük konsantrasyonda uygulanan hidrojen peroksitin osmotik ayarlama sağlayarak stresin olumsuz etkisini azaltabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Bakır Stresi, Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), İndirgen Şeker, Mısır (*Zea mays* L.), Prolin, Protein, Su İçeriği.



Master Thesis

SUMMARY

THE EFFECT OF HYDROGEN PEROXIDE PRE-TREATMENT ON COPPER STRESS  
TOLERANCE

Şule GÜZEL

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Biology Graduate Program

Supervisor: Asisst. Prof. Dr. Rabiye TERZİ  
2011, 55 Pages,

The effect of low concentration of hydrogen peroxide pre-treatment on leaf water potential, proline and total soluble protein contents, the level of reducing sugar, the amount of ions and dry weight of plant leaves were investigated in two different species (Akpınar and Pegaso) of maize (*Zea mays* L.) plants exposed to copper stress.

For this purpose, leaf water potential of plants were measured psychometrically, the amount of reducing sugar, proline, soluble protein and ions were determined spectrophotometrically.

Although copper stress increased the amount of reducing sugar and proline, it decreased water content, dry weight, ions and total soluble protein contents compared to control. Exogenous hydrogen peroxide pre-treatment significantly reduced the loss of water content, dry weight, ions and soluble protein of plants. Hydrogen peroxide pre-treatment increased the amounts of reducing sugar and proline more than control plants.

According to these results, it was concluded that low concentration of hydrogen peroxide pre-treatment reduced the negative impact of stress by providing osmotic adjustment.

**Key Words:** Copper Stres, Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Maize (*Zea mays* L.), Proline, Protein, Reducing Sugar, Water Content.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>SayfaNo</u>
Şekil 1. Başlıca çevresel stres tipleri.....	7
Şekil 2. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin kuru ağırlık üzerine etkisi.....	19
Şekil 3. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin kuru ağırlık üzerine etkisi.....	20
Şekil 4. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin yaprak su potansiyeli üzerine etkisi.....	21
Şekil 5. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin yaprak su potansiyeli üzerine etkisi.....	22
Şekil 6. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin oransal su içeriği üzerine etkisi.....	23
Şekil 7. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin oransal su içeriği üzerine etkisi.....	24
Şekil 8. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin çözülebilir proteinler üzerine etkisi.....	25
Şekil 9. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin çözülebilir proteinler üzerine etkisi.....	26
Şekil 10. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin prolin üzerine etkisi.....	27
Şekil 11. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin prolin üzerine etkisi.....	28
Şekil 12. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin indirgen şeker üzerine etkisi.....	29
Şekil 13. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin indirgen şeker üzerine etkisi.....	30
Şekil 14. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin sodyum miktarı üzerine etkisi.....	31
Şekil 15. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin sodyum miktarı üzerine etkisi.....	32
Şekil 16. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin kalsiyum miktarı üzerine etkisi.....	33

Şekil 17. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin kalsiyum miktarı üzerine etkisi.....	34
Şekil 18. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin potasyum miktarı üzerine etkisi.....	35
Şekil 19. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin potasyum miktarı üzerine etkisi.....	36
Şekil 20. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin magnezyum miktarı üzerine etkisi.....	37
Şekil 21. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön muamelesinin magnezyum miktarı üzerine etkisi.....	38

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen Peroksit
MPa	: Megapaskal
RWC	: Oransal Su İçeriği
CuSO <sub>4</sub>	: Bakır Sülfat
CBB	: Coomassie Brilliant Blue
BSA	: Bovin Serum Albumin
hsp	: Sıcak Şok Proteinleri
mM	: Milimolar

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Toprak, su ve havada değişik oranlarda bulunan ağır metaller belirli konsantrasyonun üzerinde kirliliğe yol açarlar. Ağır metallerin çevrede yaygın bir şekilde birikmesi, tüm canlılar için boyutları giderek artan bir tehlike oluşturmaktadır. Çevreyi kirleten bütün unsurlar bitkilerde strese neden olmaktadır. Stres ise bitkilerin fizyolojisini etkiler, onların genetik potansiyellerini değiştirir, verimliliklerini kısıtlar ve ölümlerine yol açarak büyük oranlarda ürün kayıpları oluşturur (Kırbağ Zengin ve Munzuroğlu, 2003).

Bitkilerde stres oluşturan faktörlerden biri ağır metallerdir. Ağır metallerin özellikle belirli dozlardan itibaren bitkilerdeki fizyolojik fonksiyonları ve biyokimyasal olayları direkt veya dolaylı olarak etkilediği bilinmektedir. Bitki dokularında ağır metal birikimi fazla olursa mineral besin alınımı (Ouzounidou vd., 1992), transpirasyon (Poschenrieder vd., 1989), fotosentez (Lidon vd., 1993), nükleik asit yapısı (Doncheva vd., 1996), klorofil biyosentezi (Somashekaraiyah vd., 1992), çimlenme (Munzuroğlu ve Geçkil, 2002), membran hasarı (Kennedy ve Gonsalves, 2002), enzim aktivitesi (Nussbaum vd., 1998) ve hormon dengesinin bozulması, su ilişkisinin değişmesi gibi çok sayıda fizyolojik olay olumsuz yönde etkilenir. Ağır metaller yüksek konsantrasyonda bitki büyümesini inhibe edebilirler (Monni vd., 2000). Dünyada mısır, buğday ve arpa gibi hububat bitkileri farklı büyüme dönemlerinde ağır metal stresine maruz kalabilmektedir. Bitkilerin tohum ve diğer toprak üstü kısımlarında biriken bu ağır metaller tarım ve insan sağlığı için ciddi bir sorun oluşturmaktadır (Tanyolaç vd., 2007).

Ağır metallerden biri olan bakırın Karadeniz Bölgesi'nde bolca rezervi bulunmakta ve ülkemiz bakır üretiminde dünyada altıncı sırada yer almaktadır. Maden Tetkik ve Arama Bölge Müdürlüğü'nün çalışmaları sonucu ortaya çıkarılan işletilmiş veya işletilmekte olan maden yatakları Artvin-Murgul, Çayeli-Madenköy, Sürmene-Kutlular, Espiye-Killik, Espiye-Lahanos, Tirebolu-Hartköy, Trabzon-Yomra-Kayabaşı bakır yatağı ile Tirebolu-Köprübaşı bakır-kurşun yataklarıdır (URL-1, 2011). Bu ağır metal rezervlerinin işletilmesi bu bölgedeki tarım alanlarına ağır metal bulaşmasına neden olmaktadır. Ayrıca Karadeniz Sahil Yolu'ndaki motorlu taşıtların egzoz gazları, tarımda

gübreleme ve ilaçlama, ağır metal içeren sulama suyunun kullanılması gibi pek çok etken bitkilerde ağır metal stresi oluşturmaktadır (Tanyolaç vd., 2007).

Diğer taraftan, Mısır Türkiye’de buğday ve arpadan sonra özellikle Karadeniz Bölgesi’nde yaklaşık 600.000 hektar alanda tarımı yapılmaktadır (Tanyolaç vd., 2007). Mısır tarımı, yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı ağır metal stresinden olumsuz etkilenmektedir. Yine belirtildiği gibi ağır metaller bitkilerde bazı olumsuz koşullar oluşturabilmektedir. Bu olumsuz koşulları gidermek için bitkilere çeşitli ekzojenik uygulamalar yapılmaktadır. Bu uygulamalardan biri de son yıllarda üzerinde çalışılmakta olan çeşitli stres koşullarında dıştan hidrojen peroksit uygulamalarıdır. Örneğin, düşük konsantrasyonda uygulanan  $H_2O_2$ ’in bitkilerde strese karşı toleransı uyardığı rapor edilmiştir. *Arabidopsis* ve tütün bitkilerine ön  $H_2O_2$  uygulamasının ise yüksek ışık yoğunluğunun sebep olduğu oksidatif zararlardan bitkileri koruduğu kaydedilmiştir (Karpinski vd., 1999; Gechev vd., 2002). Benzer şekilde, düşük konsantrasyonlarda  $H_2O_2$  uygulamasının *Zea mays*, *Vigna radiata*’da yüksek sıcaklığa toleransı artırdığı ileri sürülmüştür (Prasad vd., 1994; Yu vd., 2002, 2003). Parakuat püskürtülmüş ve  $H_2O_2$  ön muamelesi yapılmış genç bezelye yapraklarındaki sağ kalım oranının sadece parakuat uygulananlara göre çok daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Moskova vd., 2007). Ayrıca,  $H_2O_2$  ön uygulamasının, mısır bitkilerinde tuz stresinin etkilerini azalttığı kaydedilmiştir (Dias de Azevedo Neto vd., 2005).

Bitkinin strese karşı tolerans sağlamasında bazı bileşikler rol oynamaktadır. Nitekim birçok organizmanın düşük ozmotik potansiyel ya da kuraklık altında ozmotik bileşiklerin hücrel konsantrasyonunu artırdığı bilinmektedir. Bu ozmotik bileşikler genellikle ozmolit olarak adlandırılırlar. Bilinen tüm ozmolitler başta prolin olmak üzere aminoasitler ve türevleri, poliyoller, çözülebilir şekerler ve iyonlardır. (Sağlam vd., 2010). Ozmolitler enzim aktivitesi ve membran yapısının korunması, reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi gibi birçok işleve sahiptirler. Literatürde, ağır metal stresi koşullarında ozmolit ve proteinlerdeki değişikliklerin araştırıldığı birçok çalışma mevcuttur. Örneğin, *Lemma minor*’da bakır muamelesi sonucunda prolin miktarında artış olduğu görülmüştür (Bassi ve Sharma, 1993a). Bakır stresine cevap olarak, buğday köklerindeki prolin birikiminde dalgalanmanın olduğu belirlenmiştir (Bassi ve Sharma, 1993b). Bakıra maruz kalmış *Vitis vinifera*’da nişasta ya da sakkarozda herhangi bir değişim olmaksızın çözülebilir şeker miktarında azalma görülmüştür (Romeu-Moreno ve Mas, 1999). Benzer şekilde, bakırın arpa bitkisinde çözülebilir şekerlerde artış meydana getirdiği belirlenmiştir (Guo vd.,

2007). Kadmiyum uygulaması altında buğday yapraklarının (*Triticum aestivum* L.) toprak üstü kısımlarında demir, magnezyum, kalsiyum ve potasyum miktarlarında azalma görülmüştür (Ouzounidou vd., 1997). Bakır uygulaması yapılmış mısır bitkisinin kök ve gövdesinde önemli derecede azot, fosfor ve potasyum miktarının azaldığı bulunmuştur (Ait-Ali vd., 2002). Bakıra maruz bırakılan mısır bitkisinin üçüncü yapraklarında kalsiyum ve magnezyum miktarlarında artış gözlenirken, magnezyum miktarında ise hafif bir düşüş kaydedilmiştir (Mocquoti vd., 1996). Ayrıca bakırın *Triticum aestivum* ve *Zea mays*'da protein miktarını azalttığı bildirilmiştir (Lanaras vd., 1993; Stiborova vd., 1986).

Bütün bu literatür bilgileri ışığında, değişik stres koşullarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin rolü çalışılmakla birlikte, ağır metal stresi koşullarında ise herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle mevcut araştırmada, iki farklı mısır çeşidinde bakır stresi koşullarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin su içeriği, ozmolitler, protein seviyesi ve kuru ağırlık üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 1.2. Ağır Metaller

### 1.2.1. Ağır Metallerin Genel Özellikleri

Ağır metaller atomik yoğunluğu 6 g/cm<sup>3</sup>'den büyük olan metal ve metaloidler grubu için kullanılan genel bir isimdir.

Bitkilerde stres oluşturan ağır metaller bakır, kadmiyum, kurşun, civa, nikel, selenyum, gümüş, çinko, talyum, antimon, arsenik, berilyum ve kromdur (EPA, 1990). Bazı ağır metaller bitki beslenmesi için önemli oldukları halde yüksek konsantrasyonlarda fitotoksiktirler. Bunlar bakır, demir, mangan, molibden, çinko, kobalt ve nikeldir. Bununla birlikte kadmiyum, krom, civa ve kurşun gibi ağır metaller de çeşitli yollardan tarımsal ekosisteme girerler. Bunların bitki bünyesinde bulunmaları konsantrasyonlarına ve çözünübilirliklerine bağlıdır (Bergmann, 1920).

Bütün atık su ve çamurlarda rastlanan ağır metallerin başlıca kaynakları endüstriyel ve ticari aktivitelerdir. Evsel atık sulara bile önemli miktarlarda metal bulunur. Endüstriden gelen en önemli metaller bakır, nikel, kurşun, çinko ve kadmiyumdur. En önemli sorun bu metallerin besin zincirine girme ve kullanma suyuna karışma olasılığıdır (Dinges, 1982; Jamil vd., 1987).

### **1.2.2. Ağır Metallerin Biyokimyasal Özellikleri**

Bu gruptaki bazı elementler yaşayan organizmaların çoğu için eser miktarda da olsa gereklidir. Şüphesiz gerekli olan bu metallerin eksikliğinde canlılar zarar görür. Hem bitki hem de hayvanlar için bakır, çinko, mangan, demir gerekli iken bunlara ek olarak yalnız hayvanlar için kobalt, krom, selenyum, iyot ve yalnız bitkiler için bor ve molibden gereklidir. Biyokimyasal işlevleri bilinmeyen, canlılar için birinci derecede önemli olmayan fakat toksik olan elementler de vardır. Bunlar arsenik, kadmiyum, kurşun, antimon, titanyum ve uranyumdur. Bunlar organizmaların toleransını aşan konsantrasyonlarda toksik etkiye neden olmaktadır.

Biyokimyasal düzeyde bu metallerin aşırı konsantrasyonlarının neden olduğu olumsuz etkiler ATP ve ADP'nin fosfat gruplarıyla olan reaksiyonları, hücre membranlarının zarar görmesi, SH gruplarıyla olan reaksiyonları, iyonların yerine geçmesi ve metabolitlerle rekabet etmesidir (Alloway ve Ayres, 1993).

### **1.2.3. Ağır Metallerin Bitkiler Tarafından Alınımı ve Taşınması**

Bitkilerde ağır metal alınımı ve taşınması kökler tarafından gerçekleştirilir.

#### **1.2.3.1. Ağır Metallerin Köklerle Alınımı**

Topraktaki metallerin bir kısmı bitkiler tarafından alınıp depolanırken bir kısmı da toprakta kalır. Bu metalleri depo eden bitkiler öncelikle metalleri toprakta harekete geçirmelidir. İlk olarak metal şelatlandırıcı moleküller (fitosiderofor) rizosfere salınır. Bunun amacı toprağa bağlı olan metalleri topraktan koparmak içindir. Örneğin mugineik asit ve avenik asit Gramine türlerinin fitosideroforu olarak görev yaparlar (Kinnerseley, 1993). Bu fitosideroforlar demir ve çinko eksikliğinde serbest bırakılırlar ve bakır, çinko ve manganın toprakta hareketini sağlarlar (Romheld, 1991). İkinci olarak kökler spesifik plazma membranına bağlı metal redüktazlar ile metal iyonlarını azaltabilirler. Üçüncü olarak da bitki kökleri saldıkları protonlar ile toprak ortamını asitleştirerek ağır metalleri çözebilirler. Düşük pH toprak içindeki bağlı metal iyonlarının serbest kalmasına neden olur. Kök içine intraselüler veya ekstraselüler yollarla giren metal iyonları spesifik veya genel iyon taşıyıcıları vasıtasıyla ya da kanallarla bitki hücrelerine girerler (Clarkson ve



Luttge, 1989). Bitki için gerekli olmayan ağır metaller de aynı transmembran taşıyıcılarını kullandıklarından dolayı aralarında rekabet ederler (Salt vd., 1995).

### 1.2.3.2. Ağır Metallerin Köklerle Taşınması

Metal iyonları köke girdiğinde ya akümüle edilirler ya da sürgünlere taşınırlar. Sürgünlere metal taşınımı ksilem veya floem yoluyla gerçekleşebilir (Stephan ve Scholz 1993). Ksilem kanallarına giren metal iyonları, ilk olarak endodermis ve epidermisi bölen kaspari şeridine girerler. Kaspari şeridi nedeniyle ekstraselüler geçiş bloke edildiğinden suyun hareketi engellenir ve metal iyonları intraselüler olarak hareket ederler (Salt vd., 1995).

*Brassica juncea* gibi belirli metal akümülatörü olan bitkilerin ksilem özlerinin analizi yapıldığında metal geçişinde organik asitlerin ilişkisi olduğu ortaya çıkmıştır (Baker ve Brooks, 1989). Floemde de metaller ya organik asitlerle şelatlı olarak ya da fitoşelatinlerle veya metalotiyoninlerle taşınabilirler (Salt vd., 1995).

## 1.3. Bakır

Atmosfer koşullarında metalik gri tonunda bulunmayan iki metalden biri olan bakır, M.Ö. 5000 yılından beri tanınmaktadır ve adını ilk bulunduğu yer olan Kıbrıs'ın latincesinden (aes cyprum = Kıbrıs cevheri, cyprum ve daha sonra cuprum) almıştır. İlk kez Mısırlılar tarafından üretilen bakır, M.Ö. 3000 yılından itibaren (Bronz Çağı) Anadolu, Yunanistan ve Hindistan'da mekanik özellikleri alaşımlandırma yolu ile artırılarak kullanılmıştır. Doğada 200'den fazla bakır minerali bulunmakla beraber sadece 20 tanesi bakır cevheri olarak endüstriyel öneme sahiptir. Dünya bakır rezervlerinin % 68'i Şili, ABD, Sovyetler Birliği, Zambiya, Peru, Zaire ve Kanada, % 32'si ise diğer ülkeler olmak üzere yaklaşık  $650 \times 10^6$  ton olduğu tahmin edilmektedir. Yıllık üretim miktarı, 14 milyon ton (2001 yılı) civarındadır (URL-2,3,4,5,6, 2011; Mertz, 1987; Geneva, 1996; Habashi, 1997).

Bakır, çeşitli kaya ve minerallerde bol bulunan esansiyel mikrobese elementlerinden biridir ve hem prokaryot hem de ökaryotlardaki metabolik süreçlerin geniş bir yelpazesi için gereklidir (Bowen, 1985). Oksijen taşıyıcıları (hemosiyanin) ya da redoks katalizörleri (sitokrom oksidaz, nitrat redüktaz) gibi fonksiyonları olan, bilenen en az 30 tane bakır

içeren enzim vardır (Weser, 1979). Bakır;  $Cu^0$ ,  $Cu^{+1}$  ve  $Cu^{+2}$  değerlikli üç oksidasyon durumu ile bir geçiş metalidir. Ayrıca  $5g/cm^3$  den daha ağır bir yoğunluğa sahip olmasından dolayı ağır metal olarak sınıflandırılmıştır (Forstner ve Wittmann, 1979).

### 1.3.1. Bakırın Özellikleri ve Kullanımları

Endüstride bakırın önemli rol oynamasının ve çeşitli alanlarda kullanılmasının nedeni çok farklı özelliklere sahip olmasıdır. Bakırın en önemli özelliklerinin arasında yüksek elektrik ve ısı iletkenliği, korozyon ve aşınmaya direnci, çekilebilme ve dövülebilme özellikleri sayılabilir. Ayrıca alaşımları çok çeşitli olup endüstride (otomotiv, basınçlı sistemler, borular, vanalar, elektrik santralleri ve elektrik, elektronik vd.) değişik amaçlı kullanılmaktadır (URL-2, 2011).

### 1.3.2. Bakırın Bitkilere Toksik Etkisi

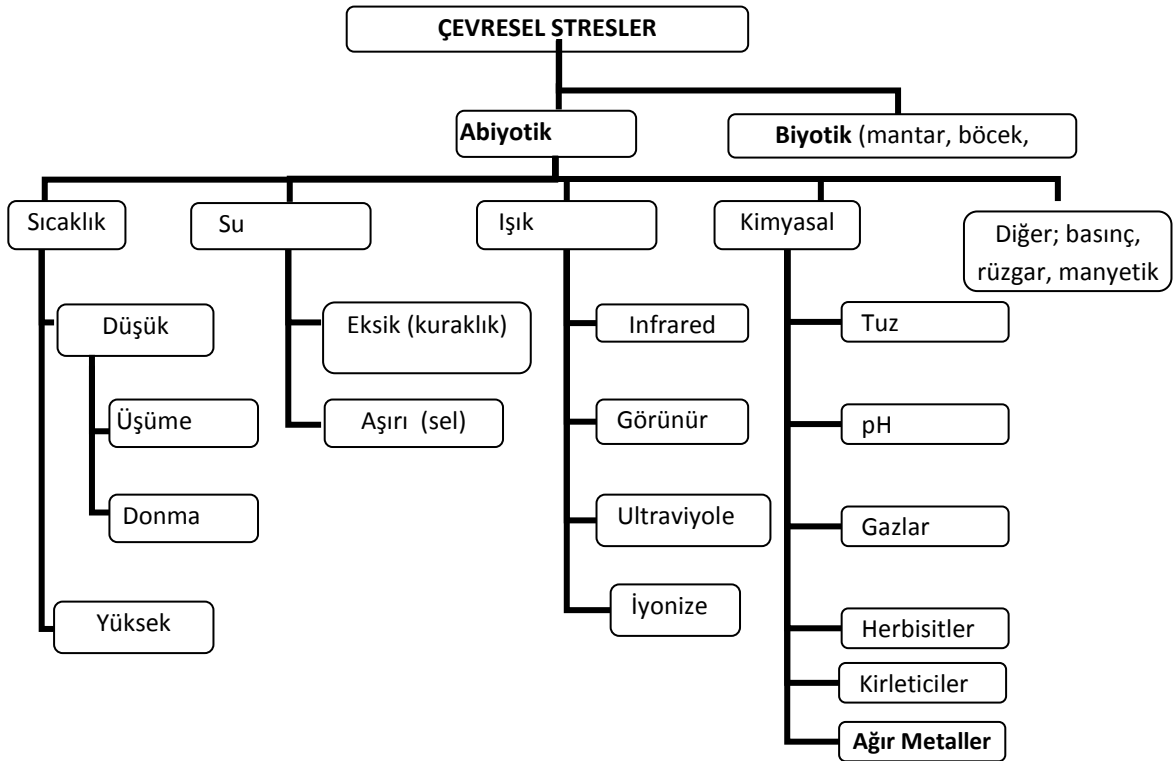
Yapraklar arası klorozis, bakır toksisitesinin yaygın başlangıç belirtilerinden birisidir (Taylor ve Foy, 1985). Klorozis genellikle krem rengi veya beyaz noktalar ya da lezyon halini alır (Lee vd., 1996). Artan stres etkiyle birlikte, yaprak uçları ve kenarlarında nekrotik alanlar oluşabilir (Taylor ve Foy, 1985). Aşırı bakır toksisitesinde, yapraklarda nekrotik olmadan önce solgunluk olabilir (Yau vd., 1991). Ayrıca bakır toksisitesi yaprakların morlaşmasıyla da alakalı olabilir (Choi vd., 1996) ama bu bütün türlerde belirgin değildir (O'Sullivan vd., 1997).

Toksik miktardaki bakırın, dikotil fidelerde kısa radikulaya, koyu kahverengi-siyah renklenmeye (nekrotik), küt uçlara ve mantar saldırılarına karşı bir eğilime sebep olduğu görülmüştür (Patterson ve Olson, 1983). *Citrus paradisi* ve *Poncirus trifoliata* hibrit tohumlarının bakır stresine maruz bırakıldığında birkaç tane yeni kök ürettiği ve kalın bir kazık köke sahip olduğu belirtilmiştir (Zhu ve Alva, 1993). Kök kalınlaşması *Pinus* fidelerinde de görülmüştür (Arduini vd., 1995). *Betula papyrifera* ve *Lonicera tatarica* fidelerinde ise aşırı bakır konsantrasyonunda saçak köklerin inhibe edildiği rapor edilmiştir (Patterson ve Olson, 1983). Diğer taraftan, aşırı bakır varlığında demir alınımının azaldığı belirlenmiştir (Lexmond ve Van der Vorm, 1981). Bakır toksisitesinin yaşandığı bitkinin genç yaprakları üzerindeki klorotik semptomların demir eksikliğiyle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Luo ve Rimmer, 1995). Ayrıca, aşırı bakır bulunan ortamda büyütülen

*Banksia ericifolia*, *Casuarina distyla* ve *Eucalyptus eximia* da klorozis görülmüştür (Mitchell vd., 1988).

#### 1.4. Stres ve Stres Çeşitleri

Stres çoğunlukla bitkinin üzerinde olumsuz etki oluşturan dışsal bir etmen olarak tanımlanır. Bitkilerin maruz kaldığı başlıca stres faktörleri, biyotik ve abiyotik olmak üzere ikiye ayrılabilir (Şekil 1). Biyotik ve abiyotik stres etmenlerinin etkisi altında bitkilerde ortaya çıkan değişimler de stres olarak ifade edilir. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, üründe nitelik ve nicelik kaybına (ürün kalitesinin ve miktarının azalmasına), bitkinin veya organlarının ölümüne neden olur.



Şekil 1. Başlıca çevresel stres tipleri

Bu stres tiplerinin etkileri birbirleri ile ilişkilidir. Örneğin yüksek sıcaklığa dayanıklılık, genellikle onunla birlikte oluşan kuraklık koşullarına dayanıklılığa bağlıdır. Benzer şekilde donmaya dayanıklılık, dokunun dehidrasyona dayanıklılığı ile önemli derecede bağlantılıdır (Hale ve Orcutt, 1987).

Stres etmenlerinin oluşturduğu zarar bitkinin çevreye genetik adaptasyon derecesine bağlı olarak değişir. Bu olgu değişik bitkilerin değişik bölgelerde en iyi şekilde yetişmelerini belirleyen temel faktördür. Strese dayanıklılık mekanizması bitkilerde iki şekilde etkili olmaktadır. Bitkiler ya geliştirdikleri önleyici mekanizmalarla stres faktörlerinin etkinliğini önlemekte ya da tolerans mekanizmalarıyla karşı koymakta ve yaşamlarını sürdürmektedirler (URL-7, 2011).

#### **1.4.1. Ağır Metal Stresi**

Atık maddelerle topraklar, yer altı ve yer üstü suları giderek daha fazla kirlenmektedir. Özellikle ağır metal kirliliği uzun süreli sorunlara neden olmaktadır. Organizmalarda birikerek besin zincirinde yer almakta ve zararlarını yıllarca sürdürmektedirler.

Çinko, kurşun, nikel, kobalt, krom, bakır, mangan, kadmiyum, selenyum, arsenik ve alüminyum gibi metaller belirli bir miktarı aştıklarında zehir etkisi yapan kirleticilerdir. Bunların birçoğu belirli bir miktarda bitkiler için hayati öneme sahip olsalar da fazla miktarda bulunmaları birçok zarara yol açmaktadır.

Ağır metaller genellikle elektron aktarımında devreye girerek solunum ve fotosentez üzerine olumsuz etki yaparlar. Hayati öneme sahip enzimleri inhibe ederler ve böylece bitkilerin enerji üretme ve kaliteli ürün oluşturma yeteneklerini de engellerler (URL-7, 2011).

#### **1.5. Stres Dayanıklılığı**

Tüm bitkiler belirli derecelerde stres hasarlarına karşı koyma ve canlı kalabilme özelliğindedirler. Bir bitkinin bazı kısımları (tohumlar, tomurcuklar ve dormant hücreler) strese dayanıklı iken, diğer kısımları (meristemler, sukkulent organlar ve fideler) duyarlı olabilir. Ayrıca bitkiler yaşamak zorunda oldukları çevreye adapte olabilme veya tam olarak uyabilme özelliğine sahiptirler (Bidwell vd., 1987).

Strese dayanıklılık sakınma ve tolerans olmak üzere ikiye ayrılır (Lewitt, 1980). Eğer bir bitki fiziksel ya da metabolik bir engellemeyle oluşan stresi dışarıda bırakabiliyorsa, bu olay stres sakınması olarak adlandırılır. Kısaca stres sakınması bitkiye dıştan uygulanan olumsuz bir faktörün etkisini, stres oluşturmadan önleme yeteneğidir (Street ve Öpik, 1984). Örneğin bir bitkinin yaprağı, transpirasyon yaparak iç sıcaklığını korur ve böylece sıcaklıktan sakınır (Ayaz, 1999). Benzer şekilde kaktüs bitkisi su stresi esnasında hücre içindeki su miktarını koruyarak kuraklıktan sakınabilir (Bidwell vd., 1987). Eğer bir bitki stres sonucu oluşan hasarları azaltabilme veya hiç hasar oluşturmama özelliğinde ise bu durum stres toleransı olarak isimlendirilir. Diğer bir deyişle stres toleransı dıştan uygulanan bir strese canlının dayanabilme yeteneğidir (Street ve Öpik, 1984). Örneğin; birçok organizmanın yaşayamadığı sıcaklıklarda hayatlarını devam ettirebilen yosun, alg ve bakteriler sıcaklık toleransına sahiptirler. Yukarıda belirtilen sakınma ve tolerans mekanizmaları birçok stres durumunda gelişebilir ve her ikisi de aynı bitkide bulunabilir (Bidwell vd., 1987).

### 1.5.1. Ağır Metal Stresine Dayanıklılık

Bitkiler ağır metal stresini bazı enzimleri sentezleyerek, vakuol içerisinde biriktirerek ya da şelatlanma oluşturarak ortadan kaldırma yoluna giderler. Toksik etkili ağır metallere dayanıklı olan bir bitki, ya hücreye giren ağır metalleri derhal detoksifiye etmeli ya da hücreye alınımını sınırlamalıdır (Cumming ve Taylor, 1990). Ağır metaller hücre içinde alındıklarında detoksifiye edilmeleri gerekir. Bu da metale bağlı olan şelatlanma, alınımın sınırlanması ve çöktürme şeklinde olur. Örneğin, çinkonun organik asitlerle şelatlanıp vakuolde biriktirildiği tespit edilmiştir (Brooks vd., 1981). Kurşun detoksifikasyonu için ise *Brassica juncea*'nın köklerinde olduğu gibi fitoşelatinlerin üretildiği belirlenmiştir (Salt vd., 1995). Ayrıca, ağır metallerle kirlenmiş topraklarda yetişen bazı endemik bitkilerin asit fosfatazlar gibi ağır metale dayanıklı enzimler ürettiği görülmüştür (Thurman, 1981).

### 1.6. Stresin Yaprak Su İçeriği Üzerine Etkisi

Stresle ilgili çalışmalarda yaprak su potansiyelinin ölçülmesi önemlidir. Büyüme periyodundaki mısır bitkisinde yaprak su potansiyelinin -0,6 ile -0,7 MPa'dan düşük olmaması gerektiği ileri sürülmüştür (Padurariu vd., 1969). Örneğin, şekerpancarında bu

değer -0,5 MPa olarak kaydedilmiştir. Yaprak su potansiyeline en fazla etki eden olaylardan biri transpirasyondur. Kobalt, nikel ve kadmiyum etkisi altında lahana bitkisinde, su stresinin gelişmesini gösteren yayılma direncindeki artışla ilişkili olarak transpirasyon hızı ve su potansiyeli azalmıştır (Pandey ve Sharma, 2002). Karnabahar bitkisinde de bakır stresi koşulları altında transpirasyon hızında ve su potansiyelinde önemli ölçüde azalma gözlenmiştir (Chatterjee ve Chatterjee, 2002).

### **1.7. Oransal Su İçeriği (RWC)**

Oransal su içeriği (İngilizce kaynaklarda relative water content'in kısa yazılışı olan RWC, Türkçe kaynaklarda da yaygın olarak kullanılmaktadır), bitkinin su durumunun genel bir ifadesidir (Sivaramakrishnan vd., 1988). Diğer bir deyişle yaprağın su durumunu ve dokunun metabolik aktivitesini yansıtan, bitkideki su miktarının alternatif bir ölçümüdür (Flower ve Ludlow, 1986). Su potansiyeline benzer olarak oransal su içeriği de birçok çevresel parametreden etkilenen, transpirasyon ve topraktan su alınımı arasındaki dengenin sağlanmasına karşı oldukça duyarlıdır (Sivaramakrishnan vd., 1988). Stres çalışmalarında RWC'nin belirlenmesi oldukça önemlidir. Kadmiyum stresine maruz bırakılan fasulye bitkisinin yapraklarında oransal su içeriğinde kontrol bitkilerine göre azalma görülmüştür (Poschenrieder vd., 1989). Düşük nikel konsantrasyonuna maruz bırakılan buğday gövdelerinin oransal su içeriğinde önemli bir değişim görülmezken, yüksek nikel konsantrasyonunda azalma bulunmuştur (Gajewska vd., 2006). Bununla beraber, karnabahar bitkisinin yapraklarında bakır ve kadmiyum stresi altında oransal su içeriğinde önemli derecede artış olduğu, bakıra maruz bırakılan çeltik yapraklarındaki oransal su içeriğinde herhangi bir değişim görülmediği de rapor edilmiştir (Chatterjee ve Chatterjee, 2002; Chen vd., 2001).

### **1.8. Streste Prolinin Rolü**

Birçok bitki kuraklık ya da tuz stresine maruz bırakıldığı zaman prolin, glisin-betain ve şeker alkollerini gibi uygun osmolitleri biriktirir (Yordanov vd., 2000). Bu çözülebilir bileşikler arasında yaygın olarak bilinen prolin dir. Prolin birikimi sadece bitkilerde değil, öbakterilerde, protozoalarda, denizel omurgasızlar ve alglerde de gözlenmiştir (Yordanov vd., 2000).

Bitki dokularındaki prolin birikiminin prolin degradasyonundaki azalıştan, prolin sentezindeki artıştan, proteinlerin hidrolizinden, protein sentezindeki ya da prolin kullanımındaki azalıştan kaynaklandığı bilinmektedir (Charest ve Phan, 1990). Prolin birikimi, çevresel stresin bir indikatörü olarak kabul edilmiştir. Prolin birikimi su stresi koşulları altında bitkiler arasında yaygın bir olgudur ve çoğu kez osmoregülasyon ile bağlantılıdır (Henda vd., 1986). Böylece, bitkilerdeki ağır metal stresi ve prolin mekanizması arasında da makul bir bağlantı vardır. Hatta ağır metal stresine maruz kalmış birçok bitkide strese cevap olarak serbest prolin birikiminin olduğu görülmüştür (Alia-Saradhi, 1991). Örneğin, bakır stresine maruz bırakılan *Oryza sativa*'da prolin miktarının arttığı kaydedilmiştir (Chen vd., 2001). *Silene vulgaris*'in metale toleranslı olan ve olmayan ekotipleri bakır, kadmiyum ve çinkoyle muamele edildiğinde yapraklarda prolin miktarının oldukça arttığı ve özellikle de metale toleranslı olan ekotipte bu miktarın toleranslı olmayan ekotipe göre 5-6 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Schat vd., 1997). Buğday bitkisine çinko ve bakır uygulamasıyla prolin miktarının arttığı bildirilmiştir (Bassi ve Sharma, 1993a). *Lemma minor*'da bakır muamelesi sonucunda prolin miktarında artış olduğu görülmüştür (Bassi ve Sharma, 1993b). Saradhi ve Saradhi (1991) kadmiyum, kobalt, çinko ve kurşuna maruz bırakılmış *Cajanus cajan*, *Vigna mungo* ve *Triticum aestivum*'un köklerinde prolin biriktiğini bulmuştur. Chen ve Kao (1995) kadmiyuma maruz bırakılan çeltik köklerinde prolin miktarının arttığını belirlemişlerdir. Bassi ve Sharma (1993a) ise çinko ve bakır stresine cevap olarak, buğday köklerindeki prolin birikiminde dalgalanma gözlemlemişlerdir.

### 1.9. Stresin İndirgen Şekerler Üzerine Etkisi

Fehling ve Tollens reaktiflerini indirgeyen karbohidratlara “İndirgen Şekerler” denir. Bütün monosakkaritler, aldoz ve ketozlar ile disakkaridlerin birçoğu indirgen şekerlerdir. Polihidroksi aldehydler “Aldozlar” ve polihidroksi ketonlar “Ketoalar” olarak tanımlanırlar. Gerek aldozlar gerekse ketozlar “Sakkaridler” olarak bilinen bir grup karbohidratın temel bileşiklerini oluştururlar. Disakkaritler ise eşdeğer ya da farklı monosakkarit molekülünden oluşmuş bileşiklerdir. Bunların en önemlileri sakkaroz, maltoz, laktoz ve sellobioz'dur. Sakkaroz, adi şeker olarak bilinir. Sulu asitlerle ya da invertaz adı verilen enzim yardımıyla hidrolizinden eşit miktarda glukoz ve fruktoz oluşur. Nişastanın sulu asitlerle kısmi hidrolizinden ele geçen maltoz bir indirgen şekerdir. Arpa şekeri olarak adlandırılan

maltozun sulu asitlerle tam hidrolizinden sadece iki glukoz oluşur. Laktoz süt şekeri adını alır. Bir indirgen şeker olan laktoz'un hidrolizi ile eşit miktarda glukoz ve galaktoz oluşur. Selülozdan hidroliz yoluyla ele geçen sellobioz da bir disakkarittir ve iki molekül glukoz molekülünün birbirine maltozda olduğu gibi glukozit halinde bağlanmasıyla oluşur.

Şeker birikimi membran ve biyomolekülleri korumaya ve içsel ozmolaritenin düzenlenmesine mümkün olduğunca katkıda bulunur (Hayashi vd., 1997; Sinniah vd., 1998). Stres esnasında indirgen şekerlerdeki artış birçok çalışmada rapor edilmiştir. Örneğin, kavak ve söğüt yapraklarında kadmiyumun indirgenmiş şeker miktarını arttırdığı ileri sürülmüştür (Lunackova vd., 2003). Greger ve Bertell (1992), Vassilev vd., (1997) ve Stoyanova ve Tschakalova (1997), kadmiyumun çözülebilir sakkarit veya nişasta miktarını arttırdığını belirlemişlerdir. İki çeltik kültüründe, ağır metallerin etkisiyle indirgen şeker miktarının kök ve gövdelerde arttığı kaydedilmiştir (Verma ve Dubey, 2001). Bakıra maruz kalmış *Vitis vinifera*'da nişasta ya da sakkarozda herhangi bir değişim olmaksızın çözülebilir şeker miktarında azalma görülmüştür (Romeu-Moreno ve Mas, 1999). Aliminyum, kadmiyum ve bakırın arpa bitkisinde çözülebilir şekerlerde zayıf bir artış meydana getirdiği belirlenmiştir (Guo vd., 2007).

### 1.10. Stresin Proteinler Üzerine Etkisi

Bitkiler üzerindeki ağır metallerin en önemli etkilerinden biri, protein sentezini inhibe ederek protein miktarını azaltmalarıdır. Ağır metallerin bitkilerdeki protein miktarını azalttığı hususunda çok sayıda rapor mevcuttur. Sıcaklık, metal ve soğuk stresi etkisiyle haşhaş (*Papaver somniferum* L.) bitkisinde bazı stres proteinlerinin sentezlendiği belirlenmiştir (Öktem vd., 1992). Kurşun, çinko ve kadmiyumun *Hordeum vulgare*'de (Stiborova vd., 1986), kobalt, krom ve bakırın karnabahar fidelerinde (Chatterjee ve Chatterjee, 2000), bakır ve kurşunun *Zea mays*'da (Stiborova vd., 1986); kurşun ve kadmiyumun *Lemna minor*'da (Mohan ve Hosetti, 1997), bakır ve çinkonun *Scenedesmus acutus*'da (Abd-El Monem vd., 1998) ve ayrıca bakırın *Triticum aestivum*'da protein miktarını azalttığı bildirilmiştir (Lanaras vd., 1993). Genç *Zea mays* bitkisinde, kadmiyum stresinin yapraklardan ziyade köklerde protein miktarını daha çok azalttığı kaydedilmiştir (Lagriffoul vd., 1998).



### 1.11. Stresin Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi

Stres esnasında kuru ağırlık miktarındaki azalış birçok çalışmada rapor edilmiştir. Örneğin; bakır stresine maruz bırakılan mısır bitkisinin kuru ağırlık miktarında hafif bir oranda azalma görülmüştür (Mocquoti vd., 1996) Kadmiyum, nikel ve kurşuna maruz bırakılan bitkilerde kuru ağırlığın artan stres yoğunluğuyla önemli derecede azaldığı gözlenmiştir (Ewais, 1997). Soya fasulyesinin yapraklarında kuru ağırlık, nikel stresinin varlığıyla önemli derecede azalmıştır (Ewais, 1997). Genç mısır bitkisi kadmiyum stresiyile birlikte önemli derecede kuru ağırlık kaybetmiştir (Lagriffoul vd., 1998). Kontrol bitkilerine oranla, tuz stresine maruz bırakılan ıspanak bitkisinin kök ve gövde kuru ağırlığında % 50'lere kadar azalma görülmüştür (Robinson vd., 1983). Diğer taraftan, tuz stresine maruz bırakılan *Phaseolus vulgaris*, *Atriplex patula* ve *Panicum virgatum* bitkilerinin kuru ağırlığında da bir azalma olduğu rapor edilmiştir (Seman ve Critchley, 1985; Ungar, 1996; Bernstein vd., 1995).

### 1.12. Stresin İyonlar Üzerine Etkisi

Bakır uygulaması yapılmış mısır bitkisinin kök ve gövdesinde önemli derecede azot, fosfor ve potasyum miktarının azaldığı bulunmuştur (Ait-Ali vd., 2002). Kadmiyum uygulaması altında buğday yapraklarının (*Triticum aestivum* L.) toprak üstü kısımlarında demir, magnezyum, kalsiyum ve potasyum miktarlarında azalma görülmüştür (Ouzounidou vd., 1997). Bakıra maruz bırakılan mısır bitkisinin üçüncü yapraklarında kalsiyum ve magnezyum miktarlarında artış gözlenirken, magnezyum miktarında ise hafif bir düşüş kaydedilmiştir (Mocquoti vd., 1996). İyonların diğer stres koşullarından da etkilendikleri birçok raporda sunulmuştur. Örneğin, tuz stresi altındayken bitkilerin, sitosolünde düşük konsantrasyonda  $\text{Na}^+$  ve yüksek miktarda da  $\text{K}^+$  bulunduğu bilinmektedir (Zhu, 2003). Tuz stresine maruz bırakılan şeker pancarı kültürlerinin yapraklarında  $\text{K}^+$  konsantrasyonunda azalış,  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  konsantrasyonlarında ise yüksek derecede artış gözlenmiştir (Ghoulam vd., 2002). Kuraklık stresi altında yetiştirilmiş olan kuraklığa dayanıklı *Vicia faba* kültürünün yapraklarının apoplastik kısımlarında, kontrol bitkilerine göre daha düşük konsantrasyonlarda  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ve  $\text{Ca}^{+2}$  olduğu gösterilmiştir (El-Tayeb ve Ahmed, 2007). Su stresine bırakılmış *Sesuvium portulacastrum*'da  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  konsantrasyonlarında artış olduğu belirlenmiştir (Slama vd., 2006). Benzer şekilde, kuraklığa maruz bırakılan asma

bitkisinde  $Cl^-$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{+2}$  ve  $K^+$  miktarlarında önemli ölçüde artış olduğu kaydedilmiştir (Patakas vd., 2002).

### 1.13. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )

Hidrojen peroksit, canlı sistemde oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucu oluşur. Süperoksitin oluştuğu yerlerde önemli miktarda  $H_2O_2$ 'de üretilir. Fotosentetik elektron transport zinciri  $H_2O_2$ 'nin üretiminden sorumludur.  $H_2O_2$ 'nin üretildiği başka bir kaynak fotorespirasyonla glikolatın oksidasyonunun meydana geldiği peroksizomlardır. Ayrıca biyokimyasal olarak oksijenin iki elektronlu indirgenmesinin gerçekleştiği solunum işlemleri sırasında ve genellikle flavoproteinlerle gerçekleştirilen reaksiyonlarla da oluşturulur. Diğer taraftan,  $H_2O_2$ 'nin üretildiği diğer önemli kaynaklar ise plazma membranı ve ekstrasellular matrikstir (Slesak vd., 2007). Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özellik taşımaz. Ayrıca,  $H_2O_2$  biyotik ve abiyotik stres altında bitki savunma mekanizmalarını harekete geçiren bir sinyal olarak kabul edilmektedir (Doke vd., 1994; Prasad vd., 1994; Foyer vd., 1997). Düşük konsantrasyonda uygulanan  $H_2O_2$ 'in bitkilerde strese karşı toleransı uyardığı rapor edilmiştir. Örneğin, düşük konsantrasyonlarda  $H_2O_2$  uygulamasının *Vigna radiata*'da yüksek sıcaklığa toleransı arttırdığı ileri sürülmüştür (Prasad vd., 1994; Yu vd., 2002; Yu vd., 2003). Aynı şekilde düşük konsantrasyonlarda uygulanan  $H_2O_2$  'nin patates göz eksplantlarında yüksek sıcaklığa dayanıklılığı arttırdığı rapor edilmiştir (Foyer vd., 1997; Lopez-Delgado vd., 1998).

## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Materyalin Sağlanması ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/CuSO<sub>4</sub> Uygulanması

Kuraklık stresine hassas (Akpınar) ve dayanıklı (Pegaso) olduğu bilinen iki farklı mısır (*Zea mays* L.) çeşidine ait tohumlar sırasıyla Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitü'sü ve Advanta Tohumculuk'dan temin edildi. Tohumlar dere kumu içeren eşit büyüklükteki saksılara (yükseklik 14 cm, üst çap 16 cm, alt çap 11 cm ) dikildi. Saksılara iki günde bir 15 gün boyunca Hoagland (pH:6.0) besin çözeltisi verilerek fideler büyütüldü. Her iki mısır çeşidi için saksılar dört gruba ayrıldıktan sonra, birinci gruptaki saksılara deney süresince (25 gün) sadece Hoagland besin çözeltisi uygulandı ve kontrol grubu olarak belirlendi. İkinci gruptaki saksılara ise 17. ve 19. günlerde olmak üzere 2 kez, 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland besin çözeltisinin ön uygulaması yapıldı. 21. ve 25. günler arasında 5 gün boyunca sadece Hoagland verildi. Üçüncü gruptaki saksılara, 21. güne kadar iki günde bir Hoagland verildikten sonra, 21. ve 25. günler arasında 5 gün boyunca 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> uygulandı. Dördüncü gruptaki saksılara ise 17. ve 19. günlerde 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapıldı ve saksılar, 21. ve 25. günler arasında 5 gün boyunca 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> stresine maruz bırakıldı. Bakır uygulamaları 0,5, 1 ve 1,5 mM olmak üzere üç farklı konsantrasyonda denendi ve en etkili konsantrasyonun 0,5 mM olduğu saptandı. Bitkilerden yaprak numuneleri alınarak aşağıdaki fizyolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı.

### 2.2. Yaprak Su Potansiyeli

Yaprak su potansiyeli C52 termokapıl psikometre ile ölçüldü (Terzi vd., 2010). Yaklaşık 6 mm çapındaki diskler yapraklardan kesildi ve C52 psikometre küveti içine yerleştirildi. Örnekler 60 dakika boyunca kalibrasyon için bekletildikten sonra okumalar psikometrik modunda Wescor PSYPRO su potansiyeli veri kayıt cihazı ile kaydedildi. Yaprak su potansiyel değerleri MPa olarak ifade edildi.

### 2.3. Oransal Su İçeriği (RWC)

Oransal su içeriği (RWC) tayini Castillo'ya göre yapıldı (Castillo 1996). Bitkilerin yapraklarının taze ağırlıkları ölçüldükten sonra gece boyunca suda bekletilerek turgid ağırlıkları alındı. Daha sonra 80 °C'ye ayarlı fırında 2 gün bekletilerek kuru ağırlıkları kaydedildi ve aşağıdaki formülde yerine koyularak oransal su içerikleri belirlendi.

$$\text{RWC (\%)} = (\text{Taze ağırlık} - \text{Kuru ağırlık} / \text{Turgid ağırlık} - \text{Kuru ağırlık}) \times 100$$

### 2.4. Proteinlerin Analizi

#### 2.4.1. Protein Ekstraksiyonu

Protein ekstraksiyonu için, bitkilerin yapraklarından alınan numuneler (0.5 g), 4 ml fosfat tamponu (pH:6.0) ile buz üzerinde homojenize edildi. Elde edilen homojenat kalın tülbentten süzüldü. Süzüntü 4 °C'de 14000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Bu işlemlerden sonra elde edilen süpernatant protein miktarı tayinleri için kullanıldı.

#### 2.4.2. Çözülebilir Protein Tayini

*Zea mays* bitkisinde çözülebilir protein miktarının tayini Bradford Metodu'na göre yapıldı (Bradford, 1976). Bu yöntem, fosforik asitli ortamda proteinlerin coomassie brilliant blue (CBB G-250) reaktifi ile kompleks oluşturması, oluşan kompleksin 595 nm'de maksimum absorbans göstermesi gerçeğine dayanır. Bu yöntemin diğer protein yöntemlerinden üstün tarafı, çok kısa sürede uygulanması, bozucu faktörlerin söz konusu olmaması ve protein boya kompleksinin çözeltilerde uzun süre kalmasıdır. Ayrıca proteine boyanın bağlanması, 2 dakika gibi çok kısa sürede gerçekleşir.

Protein tayini için 100 ml'sinde 0.01 µg protein ihtiva eden standart BSA (Bovin Serum Albumin) çözeltilisinden tüplere 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0; 1.2; 1.4; 1.6 ml alındı. 0.05 M fosfat tamponu (pH:6.0) ile tüplerin hacimleri 2 ml'ye tamamlandı. 1.5 ml coomassie brilliant blue G-250 reaktifi ile her bir tüpe ilave edildi. Tüpler vorteksle karıştırıldı. 2 dakika sonra 595 nm'de köre karşı absorbans değerleri okundu. Kör olarak 2 ml tampon ve

1.5 ml boya çözeltisi içine konmuş olan tüp kullanıldı. 595 nm’de okunan absorbanlara karşılık gelen µg protein değerleri belirlendi.

Numunedeki çözülebilir protein miktarını bulmak için hazırlanan protein özütünden 0.1 ml alınarak üzerine 0.05 M fosfat tamponu (pH:6.0) ilave edildi ve 1.5 ml Coomassie reaktifi kullanılarak vortekste karıştırıldı. 2 dakika sonra 595 nm’de spektrofotometrede absorbanları ölçüldü. Numunedeki protein miktarları “mg protein/g taze ağırlık” olarak ifade edildi.

## **2.5. Prolin Tayini**

Prolin miktarı spektrofotometrik olarak Asit-Ninhidrin Metodu ile belirlendi (Bates vd., 1973). Bu amaçla önce saf prolin kullanılarak standart hazırlandı. Bunun için 1 ml’inde 100 µg prolin içeren çözeltiden 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5 ml alınarak sülfosalisilik asitle 1 ml’ ye tamamlandı. Üzerine 1 ml glasiyal asetik asit ve 1 ml asit-ninhidrin çözeltisi (1.25 g ninhidrin, 30 ml glasiyal asetik asit ve 20 ml 6 M fosforik asit içinde hafif ısıtılarak çözüldü) ilave edildi. Numuneler 100 °C’ye ayarlı etüvde 1 saat bekletildikten sonra reaksiyonu durdurmak için buz banyosunda 10 dakika tutuldu. Her tüpe 3 ml toluen ilave edip, vorteksle karıştırıldıktan sonra 520 nm dalga boyunda absorbanları ölçüldü. Kör olarak toluen kullanıldı.

Stres etkisi ile prolin değişimini belirlemek için yukarıda belirtilen bitkilerden alınan yaprak numuneleri 60°C’ye ayarlı etüvde kurutuldu. Bunlardan 0.6 g alınarak 10 ml %3’lük sülfosalisilik asit içinde homojenize edildi ve homojenat 4 kat tülbentten süzüldü. Süzüntü 5000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Süzüntüden 1’er ml alınıp yukarıdaki aynı işlemlerden geçirildi. Elde edilen absorban değerleri spektrofotometrede hazır olan standart grafik üzerinden µg prolin olarak belirlendi ve buradan 1 g kuru ağırlıktaki prolin miktarı hesaplandı.

## **2.6. Yapraklarda İndirgen Şeker Tayini**

Toplam çözülebilir şeker miktarı fenol-sülfirik asit metoduna göre belirlendi (Dubois vd., 1956). Kuru yapraklar (0,1g) 5 ml % 80’lik etanol içerisinde ekstrakte edildi. Ekstraksiyonlar cam tüpler içerisinde 10 dakika boyunca 95°C’ lik su banyosunda

kaynatıldı. Ekstraksiyondan sonra, tüpler 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatantlar şeker ölçümü için kullanıldı. 100 ml örneğe 900 ml saf su eklendi ve daha sonra bu karışım vortekslendi. Bu karışıma 1 ml % 5'lik fenol ile 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklendi ve iyice karıştırıldı. 15 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldıktan sonra, örneklerin absorbanları 490 nm'de kaydedildi.

## **2.7. Yapraklarda Kuru Ağırlık Tayini**

Toplam kuru yaprak ağırlığı 24 saat boyunca 80 °C'lik etüve bırakılan yapraklarla belirlendi. Veriler g kuru ağırlık başına mg olarak ifade edildi.

## **2.8. İyon Ölçümü**

Yukarıda belirtilen her bir bitkiden 0,5 g taze yaprak örneği alınarak, 5 ml deiyonize su içerisinde sıvı azot ile homojenize edildi. Elde edilen homojenat 10 dakika su banyosunda kaynatıldı. 5000 rpm'de oda sıcaklığında 15 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi (Schroppel-Meier ve Kaiser, 1988). İyon içeriği (Na<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup>, K<sup>+</sup> ve Mg<sup>+2</sup>) pH/mV/Sıcaklık metre ile ölçüldü (JENCO 6230N).

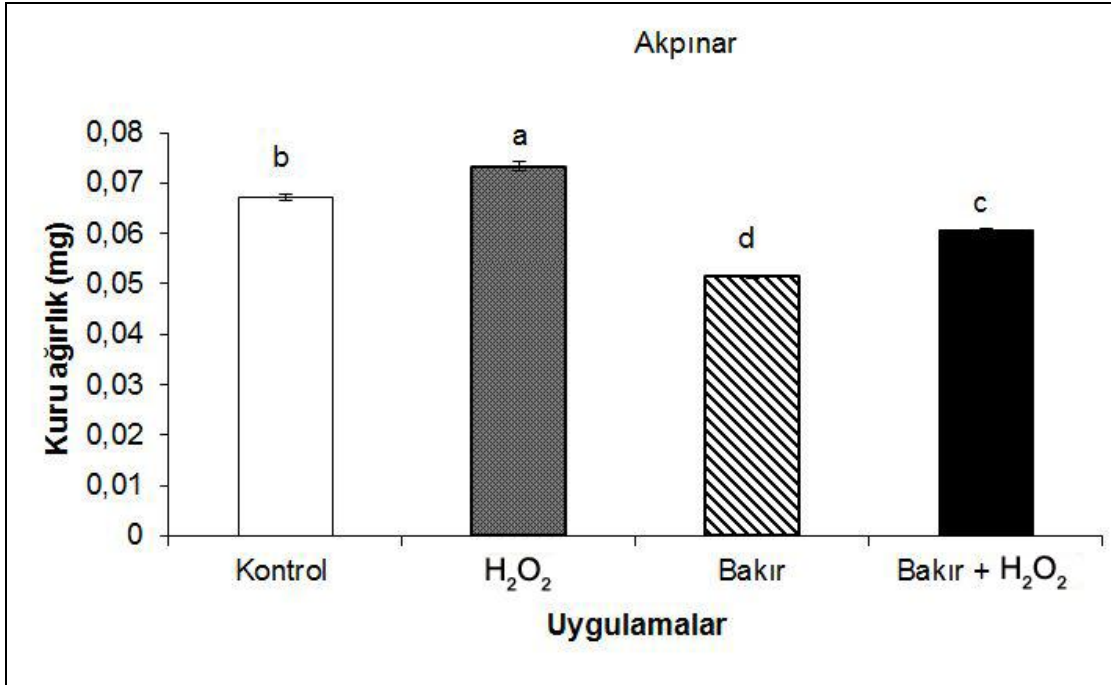
## **2.9. İstatistiksel Analiz**

Bütün analizler bağımsız üç ayrı ekstraksiyon ile üç tekerrür olarak yapıldı. Elde edilen ortalamaların varyansı, % 5' lik önemde (p< 0.05) Microsoft Windows versiyon 11.5 SPSS yazılımı kullanılarak Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak kontrol edildi.

### 3. BULGULAR

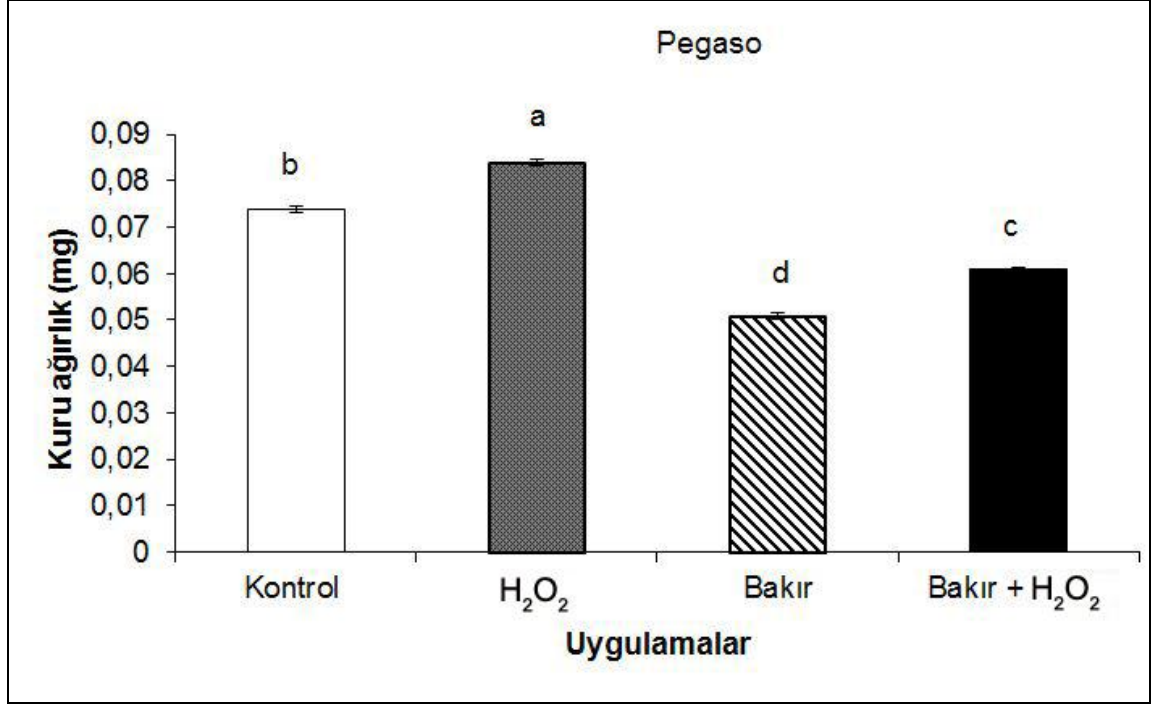
#### 3.1. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Kuru Ağırlık Miktarı Üzerine Etkisi

Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla öncelikle kuru ağırlık miktarındaki değişimler incelendi. Dayanıklı (Pegaso) ve hassas (Akpınar) mısır çeşitlerinin her ikisinde de sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte kuru ağırlık miktarı kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin kuru ağırlık miktarını önemli derecede artırdığı belirlendi (Şekil 2 ve 3). Akpınar çeşidine ait kontrol bitkilerinde kuru ağırlık miktarı 0,067 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulanması yapılmış olan bitkilerde bu değer 0,073 mg'a kadar yükseldi. Ağır metal stresine maruz bırakılan bitkilerde kuru ağırlık 0,051 mg'a düşerken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>' nin birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer 0,06' ya kadar arttı (Şekil 2).



Şekil 2. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin kuru ağırlık üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

Pegasoya ait kontrol bitkisinde kuru ağırlık miktarı 0,073 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkide 0,083 mg'a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer 0,05 mg'a düşerken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in birlikte uygulandığı bitkilerde 0,06 mg olarak belirlendi (Şekil 3).



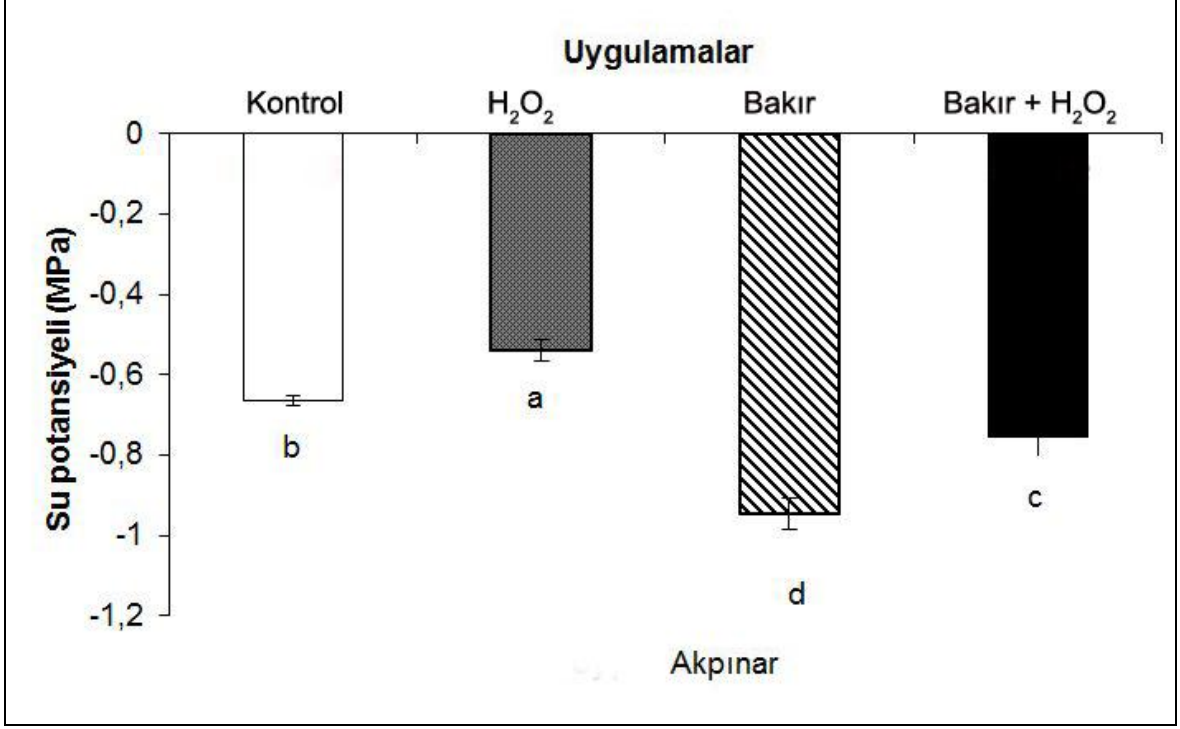
Şekil 3. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin kuru ağırlık üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

### 3.2. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Yaprak Su Potansiyeli Üzerine Etkisi

Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla yaprak su potansiyelindeki değişimler araştırıldı. Dayanıklı (Pegaso) ve hassas (Akpınar) mısır çeşitlerinin her ikisinde de yapılan denemeler sonucunda, sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte yaprak su potansiyeli kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin su kaybını önemli derecede azalttığı belirlendi (Şekil 4 ve 5). Akpınar çeşidine ait kontrol bitkilerinde su potansiyeli -0,66 MPa iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön

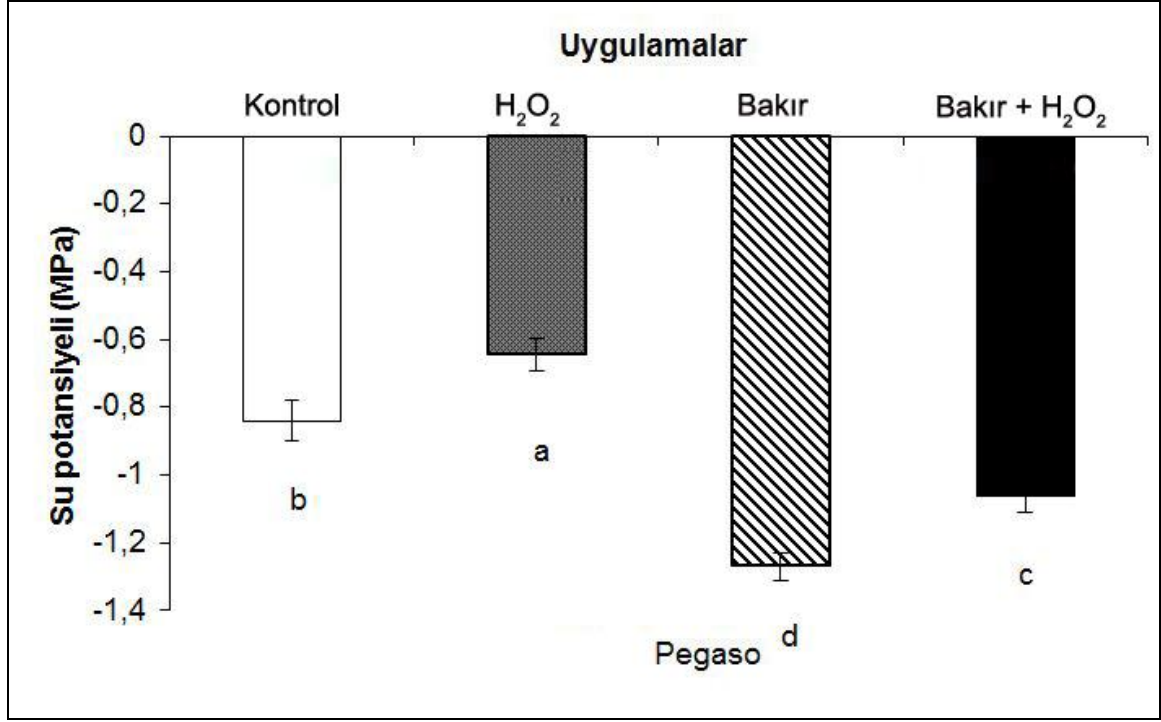


uygulaması yapılmış bitkilerde bu değer -0,54 MPa'a kadar yükseldi. Ağır metal stresine maruz bırakılan bitkilerde su potansiyeli -0,94 MPa'a düşerken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer -0,75 MPa'a kadar arttı (Şekil 4).



Şekil 4. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin yaprak su potansiyeli üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

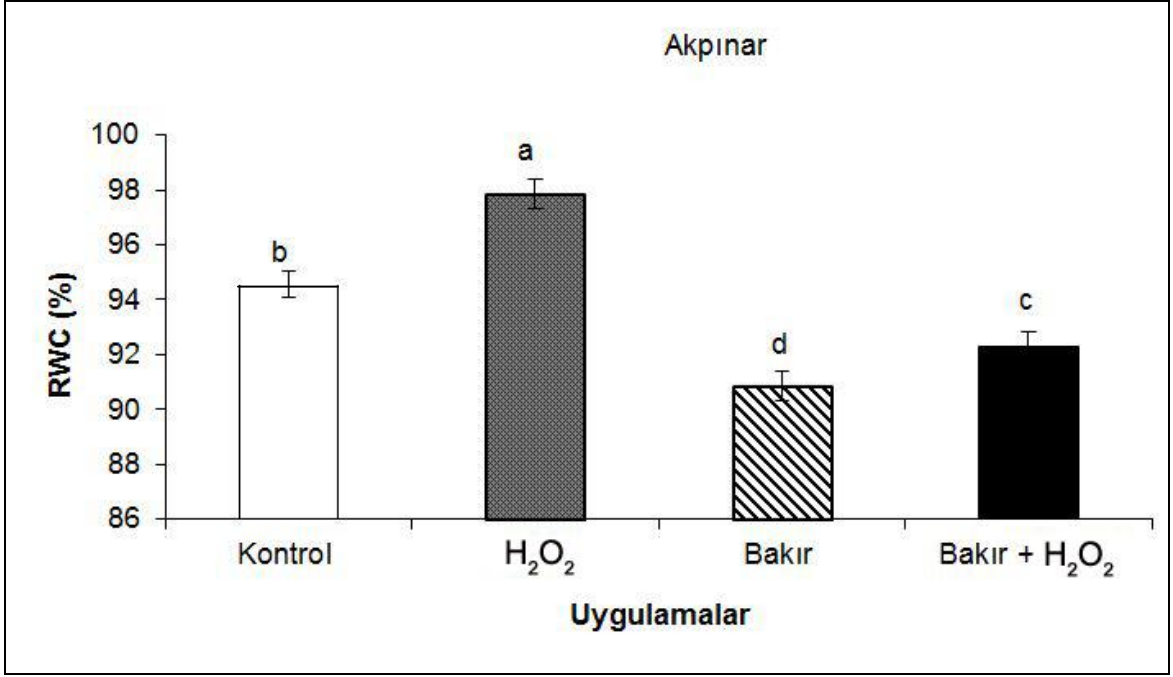
Pegaso çeşidine ait kontrol bitkisinde su potansiyeli -0,84 MPa iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkide -0,64 MPa'a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer -1,27 MPa'a düşerken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in birlikte uygulandığı bitkilerde -1,06 MPa olarak belirlendi (Şekil 5).



Şekil 5. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin yaprak su potansiyeli üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

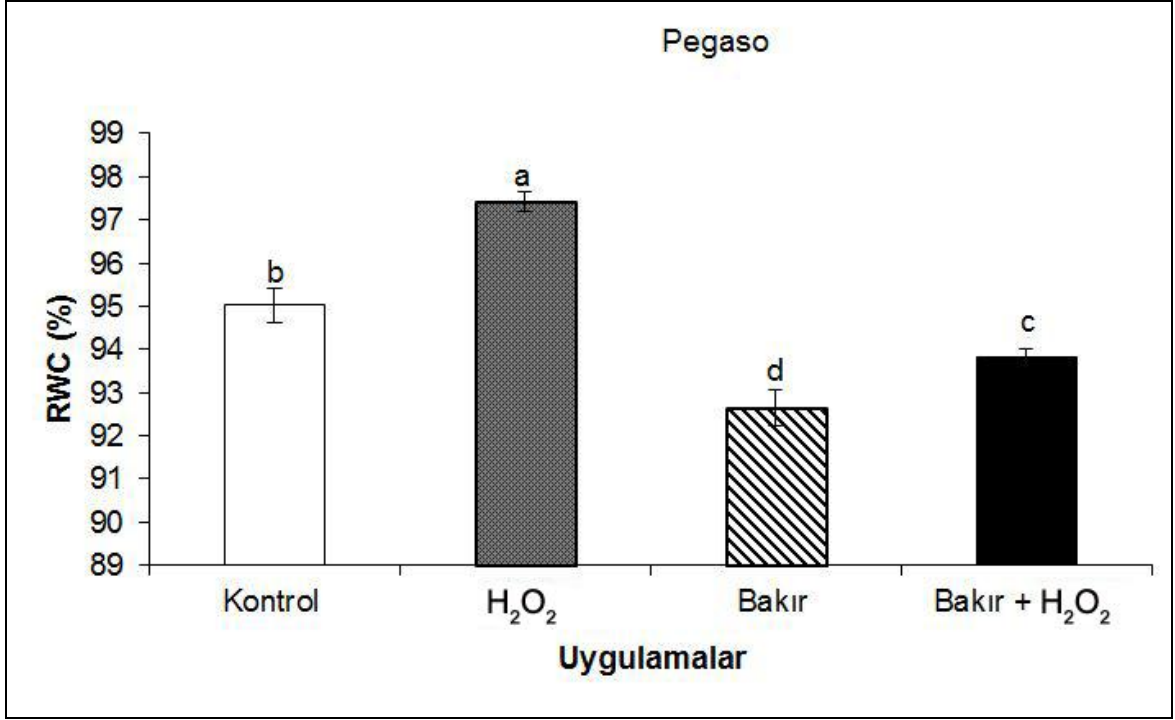
### 3.3. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Oransal Su İçeriği (RWC) Üzerine Etkisi

Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresi koşullarında oransal su içeriği üzerine etkisi incelendi. Hem Pegaso hem de Akpınar'da yapılan denemeler sonucunda, sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte oransal su içeriği kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin su kaybını önemli derecede azalttığı bulundu (Şekil 6 ve 7). Akpınar'ın kontrol bitkilerinde oransal su içeriği % 94,56 iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkilerde bu değer % 97,84'e kadar yükseldi. Ağır metal stresine maruz bırakılan bitkilerde oransal su içeriği % 90,85'e düşerken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer % 92,29'a kadar arttı (Şekil 6).



Şekil 6. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin oransal su içeriği üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

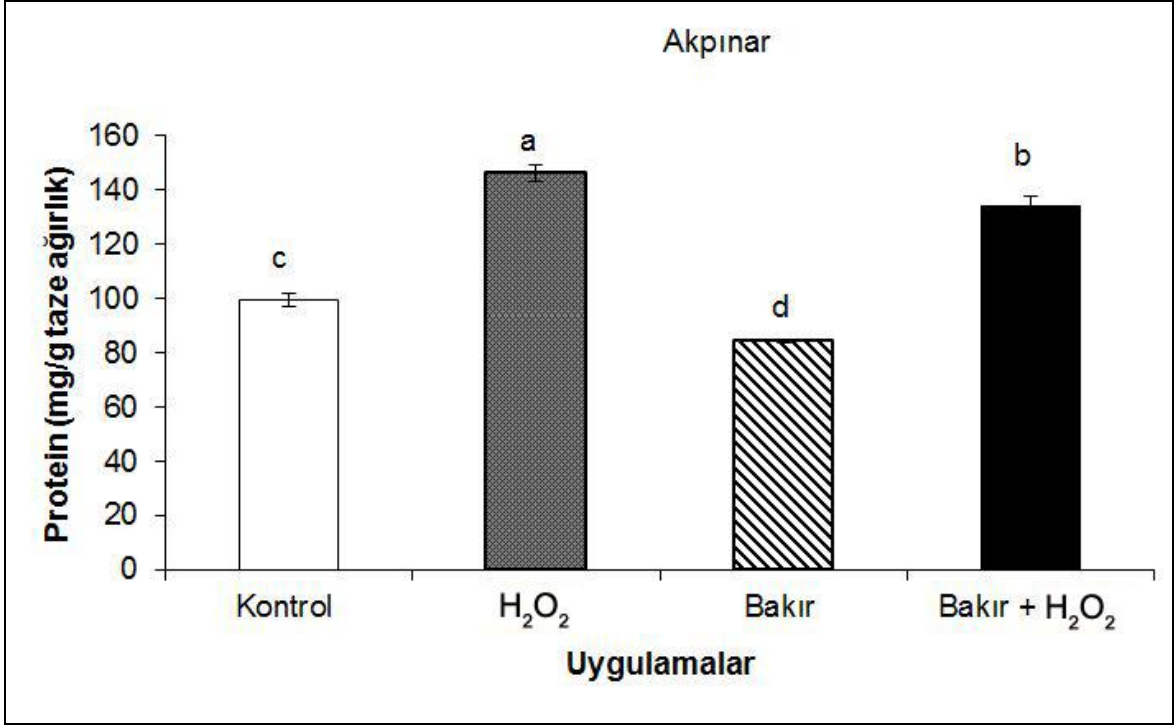
Pegaso çeşidine ait kontrol bitkisinde oransal su içeriği % 95,01 iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkide % 97,42'e kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer % 92,64'e düşerken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in birlikte uygulandığı bitkilerde % 93,82 olarak belirlendi (Şekil 7).



Şekil 7. Bakır stresi altındaki Pegaso’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin oransal su içeriği üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

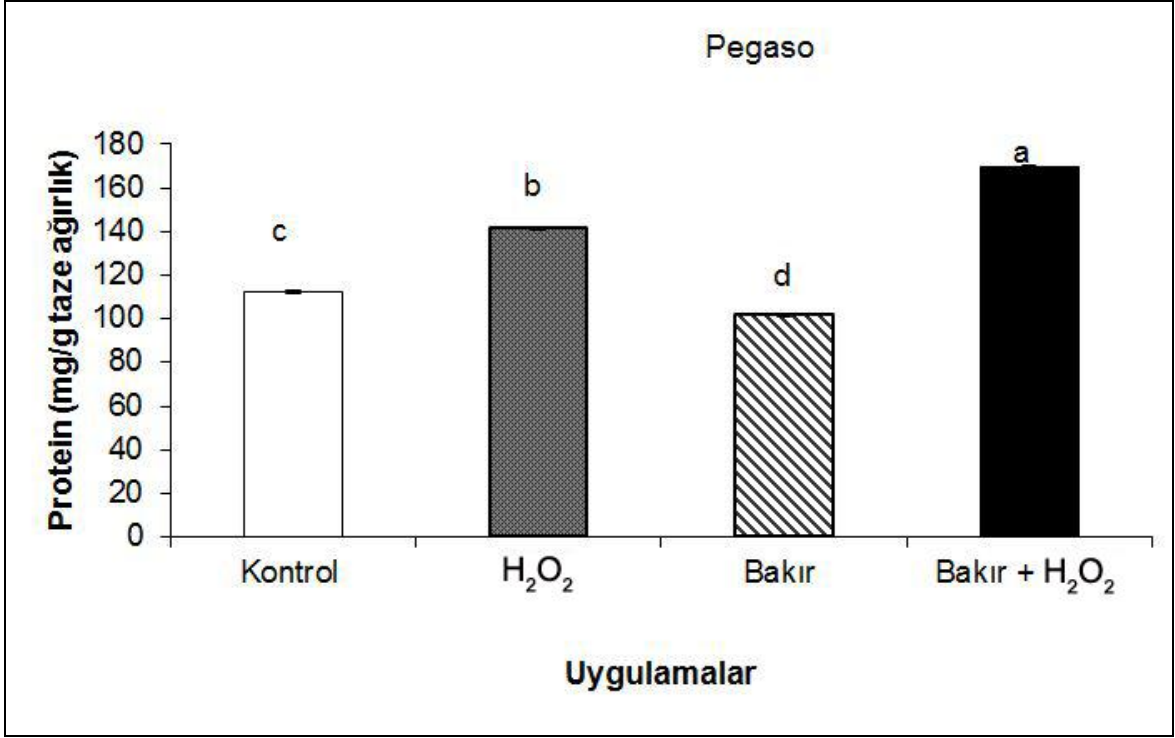
### 3.4. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Çözülebilir Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının bakır stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü saptamak amacıyla çözülebilir protein miktarlarındaki değişimler araştırıldı. Pegaso ve Akpınar’da sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte çözülebilir protein miktarı kontrol bitkilerine göre istatistiki açıdan önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının protein miktarındaki kaybı önemli derecede azalttığı bulundu (Şekil 8 ve 9). Akpınar çeşidine ait kontrol bitkilerinde g taze ağırlık başına 99,4 mg olarak tespit edilen çözülebilir protein miktarı, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkilerde 146,2 mg’ a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde çözülebilir protein 84,5 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve stresin birlikte uygulandığı bitkilerde ise bu değerler 134,3 mg’a kadar arttı (Şekil 8).



Şekil 8. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin çözülebilir proteinler üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

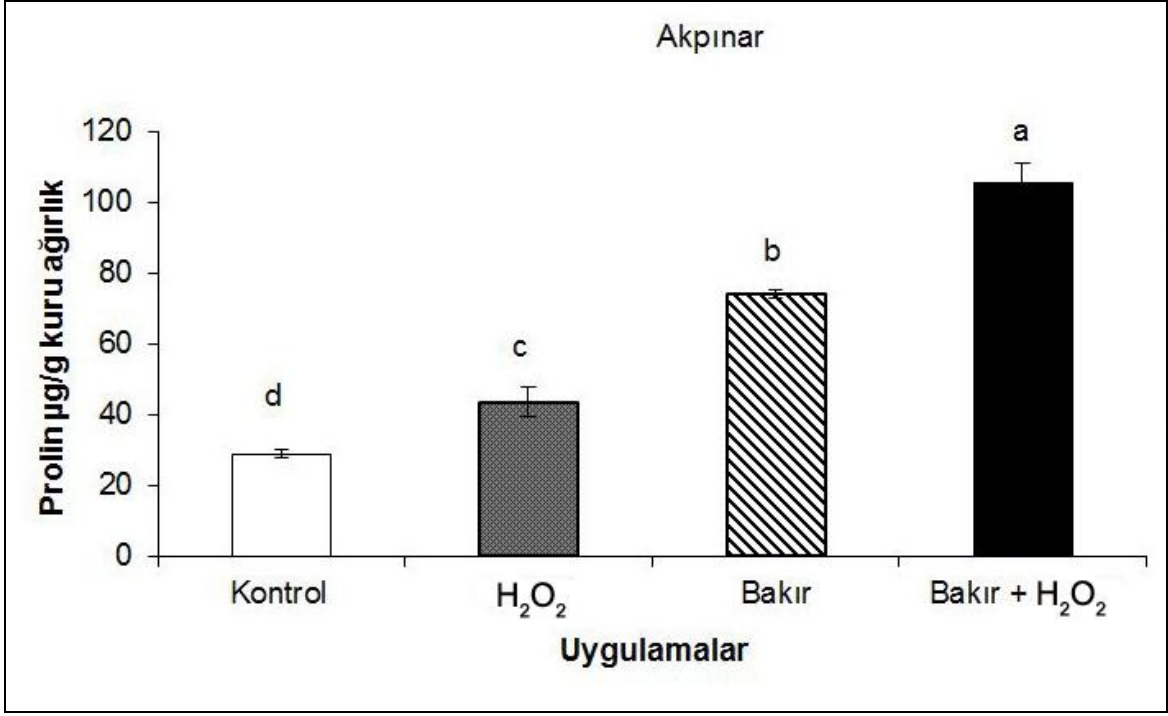
Pegaso çeşidine ait kontrol bitkisinde çözülebilir protein miktarı 112,6 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkilerde 141,4 mg' a kadar yükseldiği bulundu. Bakır stresine maruz bırakılmış bitkilerde bu değer 101,4 mg'a düşerken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in birlikte uygulandığı bitkilerde 169,3 mg olarak belirlendi (Şekil 9).



Şekil 9. Bakır stresi altındaki Pegaso’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin çözülebilir proteinler üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

### 3.5. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Prolin Miktarı Üzerine Etkisi

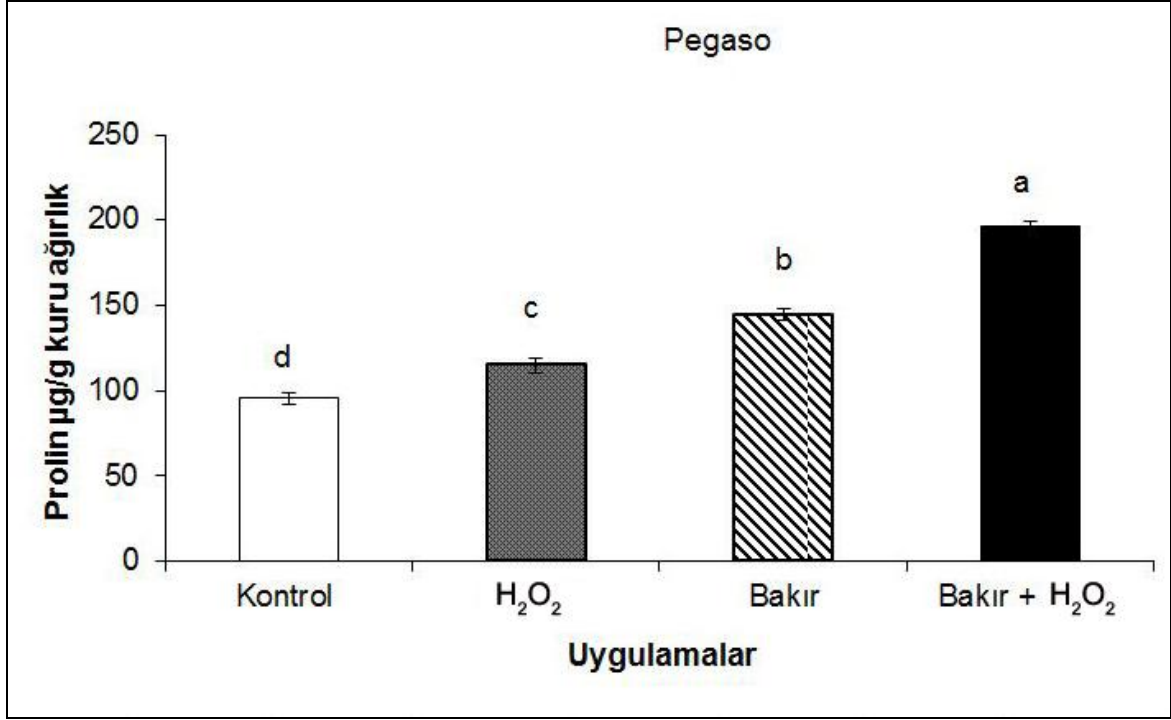
Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla bir ozmolit olan prolin miktarındaki değişimler incelendi. Hem Pegaso hem de Akpınar’da yapılan analizler sonucunda, sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte prolin miktarı kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede arttı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin prolin miktarını önemli derecede artırdığı kaydedildi (Şekil 10 ve 11). Akpınar çeşidine ait kontrol bitkilerinde g kuru ağırlık başına ölçülen prolin miktarı 28,9 µg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmış bitkilerde bu değer 43,6 µg’a yükseldi. Ağır metal stresine maruz bırakılan bitkilerde prolindeki miktar 74,08 µg olarak belirlenirken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’in birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer 105,5 µg’ lara kadar yükseldi (Şekil 10).



Şekil 10. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin prolin üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

Pegaso'nun kontrol gruplarında g kuru ağırlık başına tespit edilen prolin miktarı 95,5 µg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılan bitkilerde 114,9 µg'a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer 144,5 µg iken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının birlikte verildiği bitkilerde 196,2 µg olarak tespit edildi (Şekil 11).



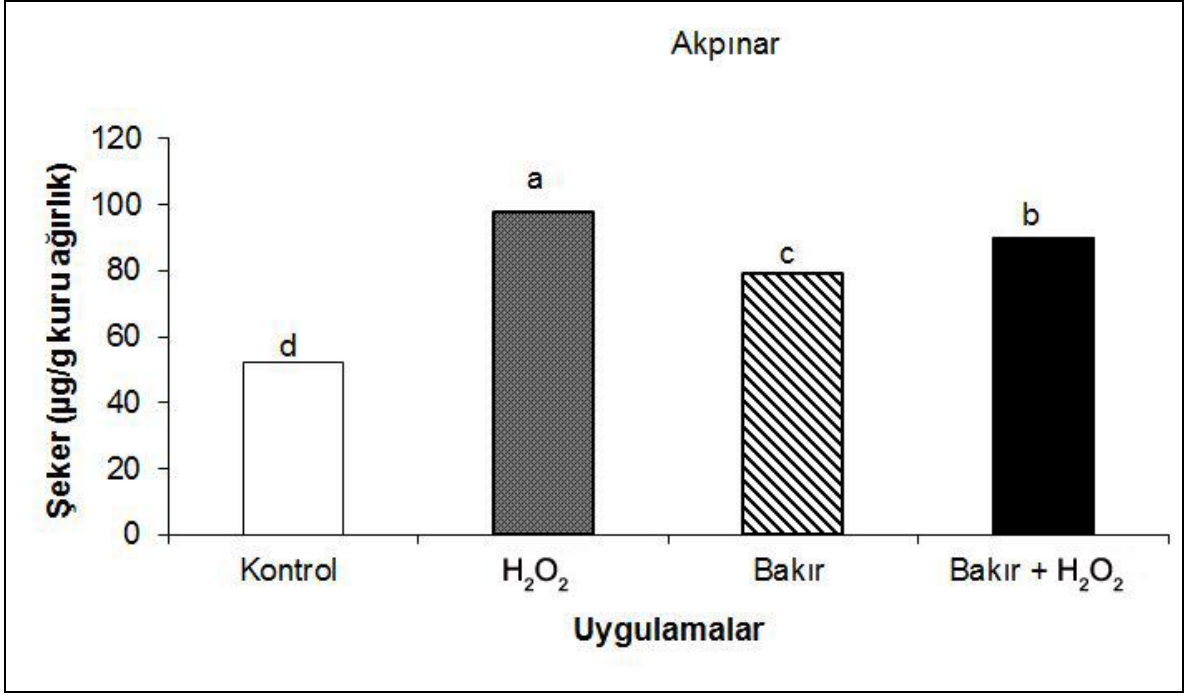


Şekil 11. Bakır stresi altındaki Pegaso’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin prolin üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

### 3.6. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin İndirgen Şeker Miktarı Üzerine Etkisi

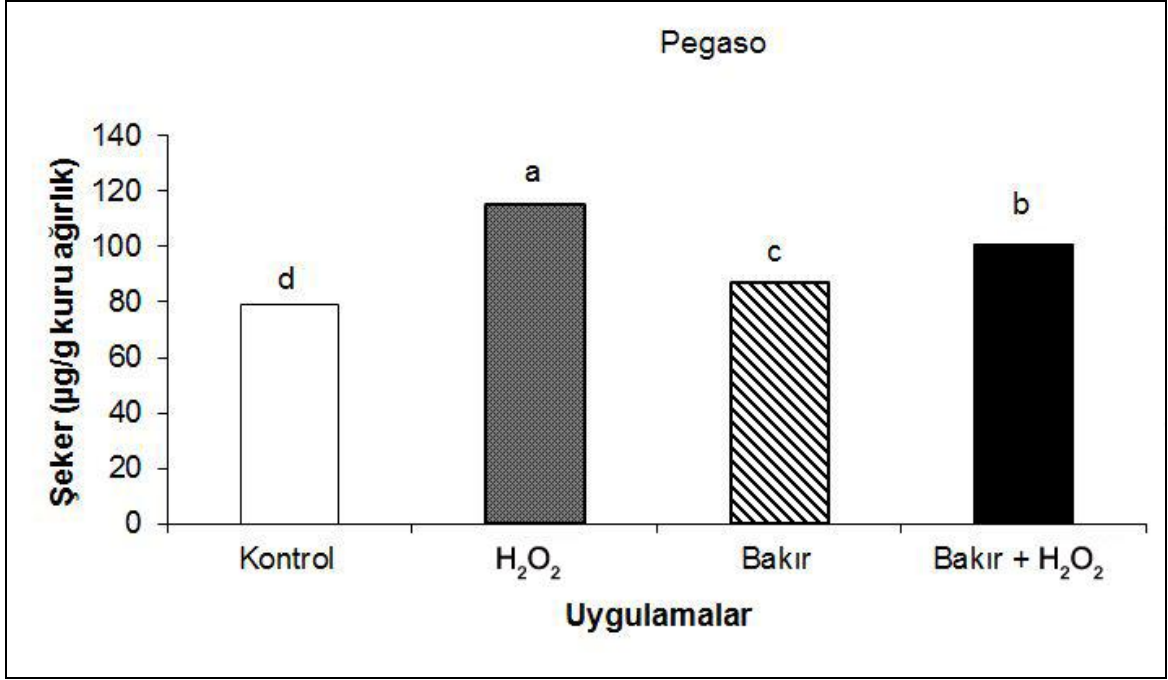
Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresi koşullarında indirgen şeker miktarı üzerine etkisi araştırıldı. Dayanıklı (Pegaso) ve hassas (Akpınar) mısır çeşitlerinin her ikisinde de sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte indirgen şeker miktarı kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede arttı. Pegaso ve Akpınar’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin indirgen şeker miktarını önemli derecede artırdığı belirlendi (Şekil 12 ve 13). Akpınar çeşidine ait kontrol bitkilerinde g kuru ağırlık başına ölçülen indirgen şeker miktarı 52 µg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmış bitkilerde 98 µg’a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılmış bitkilerde indirgen şeker miktarı 79 µg iken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’in birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer 90 µg olarak bulundu (Şekil 12).





Şekil 12. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin indirgen şeker üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

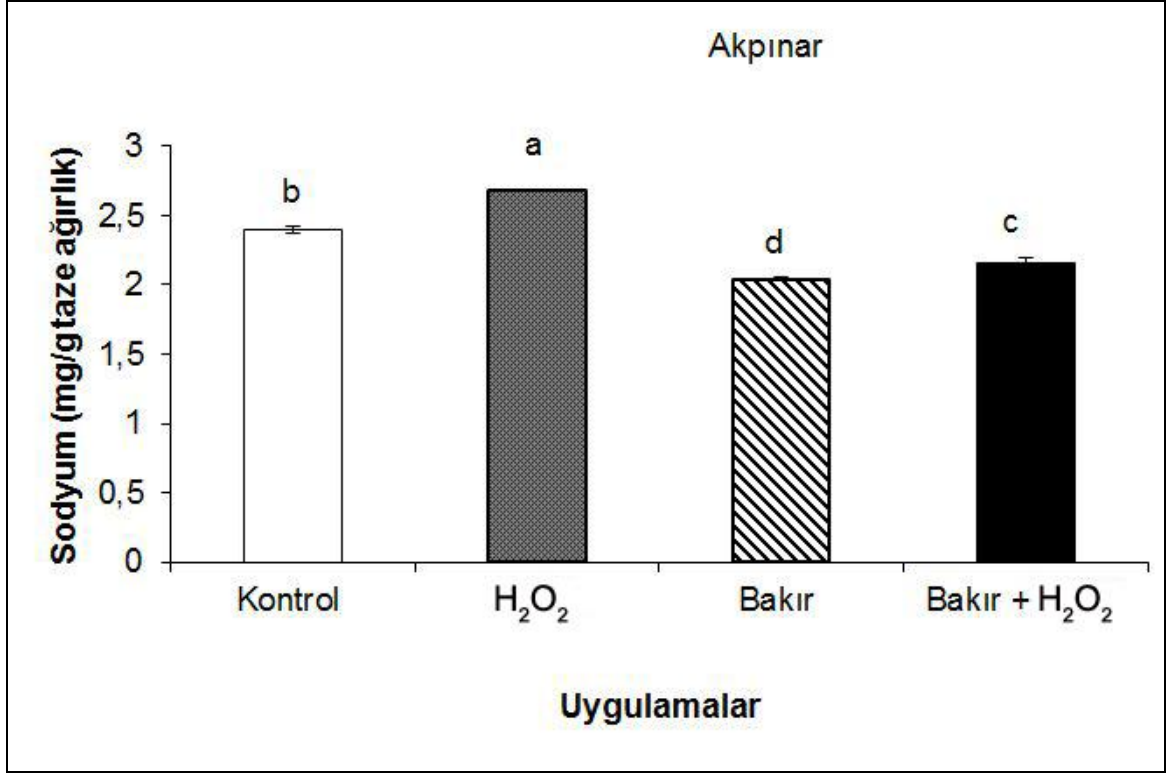
Pegaso çeşidine ait kontrol bitkisinde g kuru ağırlık başına tespit edilen indirgen şeker miktarı 79 µg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkide 115 µg'a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer 87 µg'a çıkarken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının birlikte uygulandığı bitkilerde 101 µg olarak saptandı (Şekil 13).



Şekil 13. Bakır stresi altındaki Pegaso’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin indirgen şeker üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

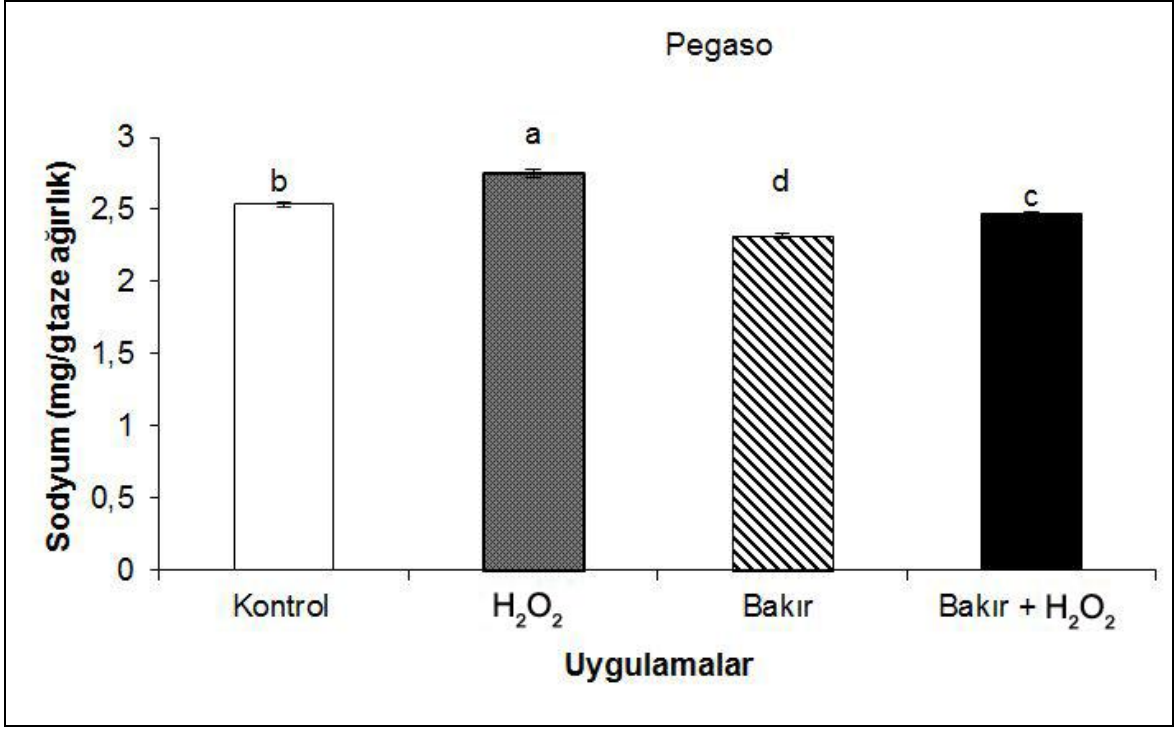
### 3.7. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Sodyum Miktarı Üzerine Etkisi

Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla sodyum miktarındaki değişimler incelendi. Pegaso (dayanıklı) ve Akpınar (hassas)’da sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte sodyum miktarı kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin sodyum miktarını önemli derecede artırdığı belirlendi (Şekil 14 ve 15). Akpınar çeşidine ait kontrol bitkilerinde sodyum miktarı g taze ağırlık başına 2,4 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkilerde bu değer 2,68 mg’a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde sodyum miktarı 2,04 mg’a düşerken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’in birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer 2,15 mg’a kadar arttı (Şekil 14).



Şekil 14. Bakır stresi altındaki Akpınar’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin sodyum miktarı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

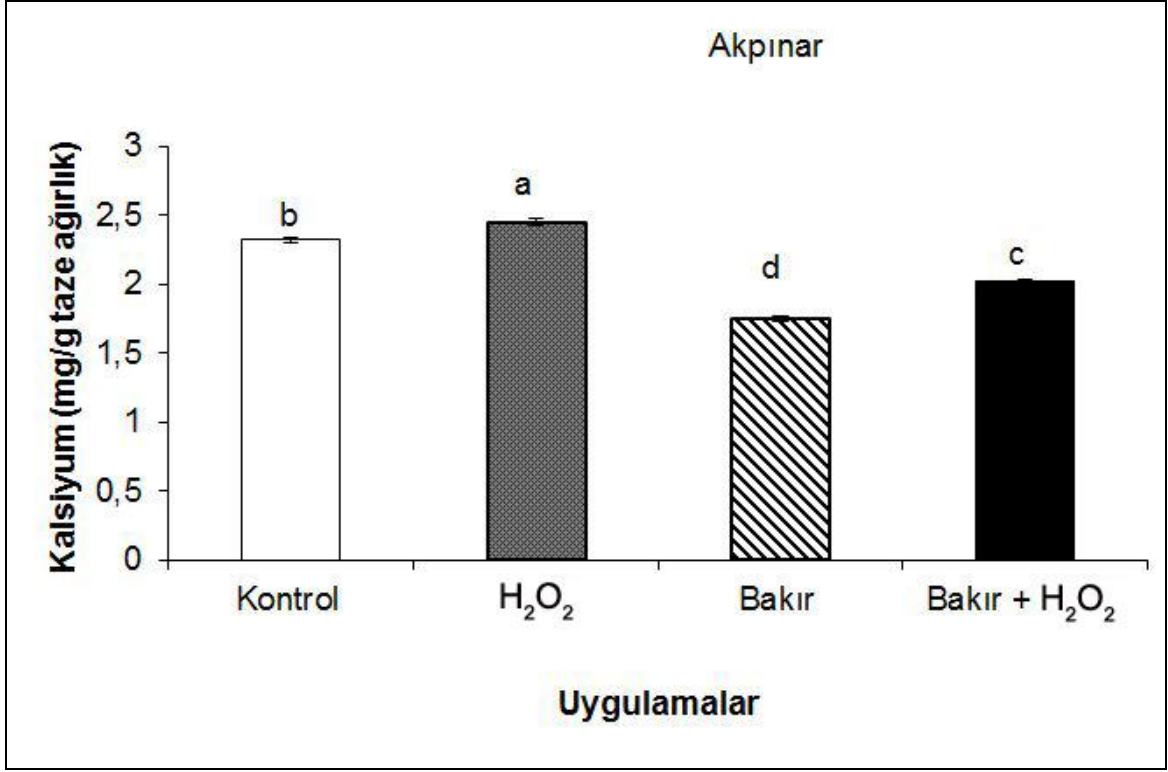
Pegaso’nun kontrol bitkisinde sodyum miktarı g taze ağırlık başına 2,53 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkide 2,74 mg’a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer 2,32 mg’a kadar düşerken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’nin birlikte uygulandığı bitkilerde 2,47 mg olarak belirlendi (Şekil 15).



Şekil 15. Bakır stresi altındaki Pegaso’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin sodyum miktarı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

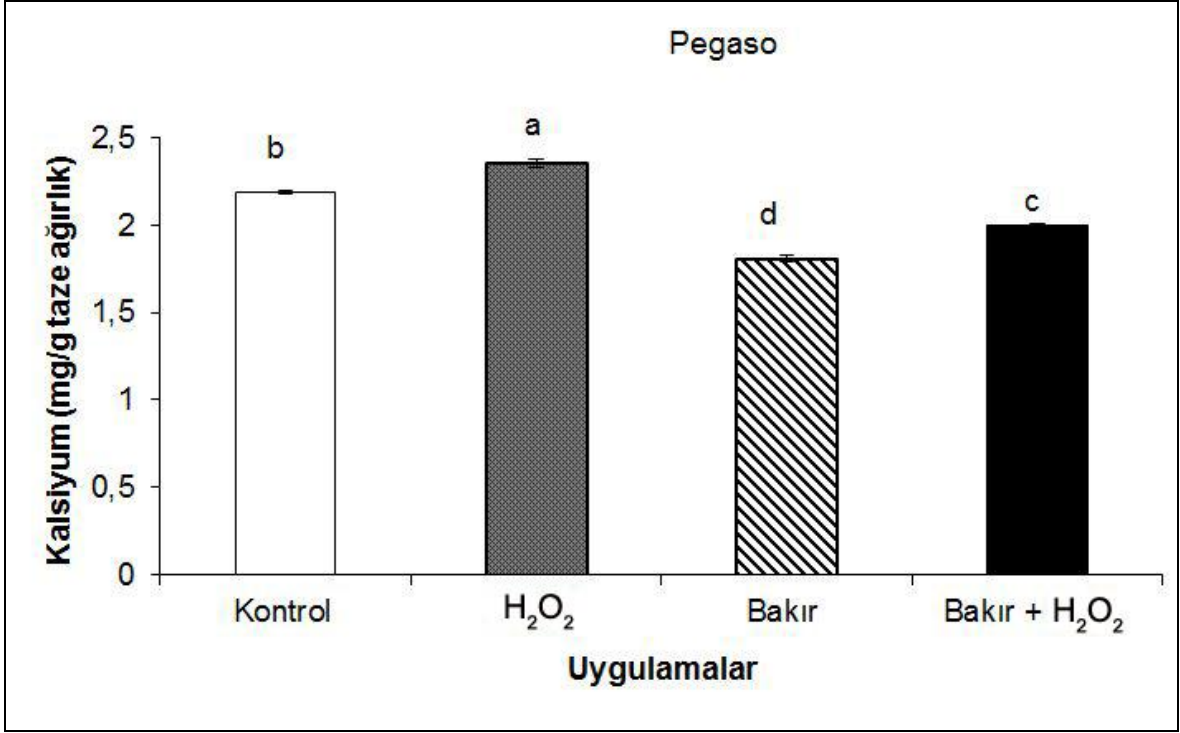
### 3.8. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Kalsiyum Miktarı Üzerine Etkisi

Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla kalsiyum miktarındaki değişimler incelendi. Pegaso ve Akpınar’da yapılan denemeler sonucunda, sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte kalsiyum miktarı kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin kalsiyum miktarını önemli derecede artırdığı belirlendi (Şekil 16 ve 17). Akpınar çeşidine ait kontrol bitkilerinde kalsiyum miktarı g taze ağırlık başına 2,32 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkilerde bu değer 2,45 mg’a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde kalsiyum miktarı 1,74 mg’a düşerken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’in birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer 2,02 mg’a kadar arttı (Şekil 16).



Şekil 16. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin kalsiyum miktarı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

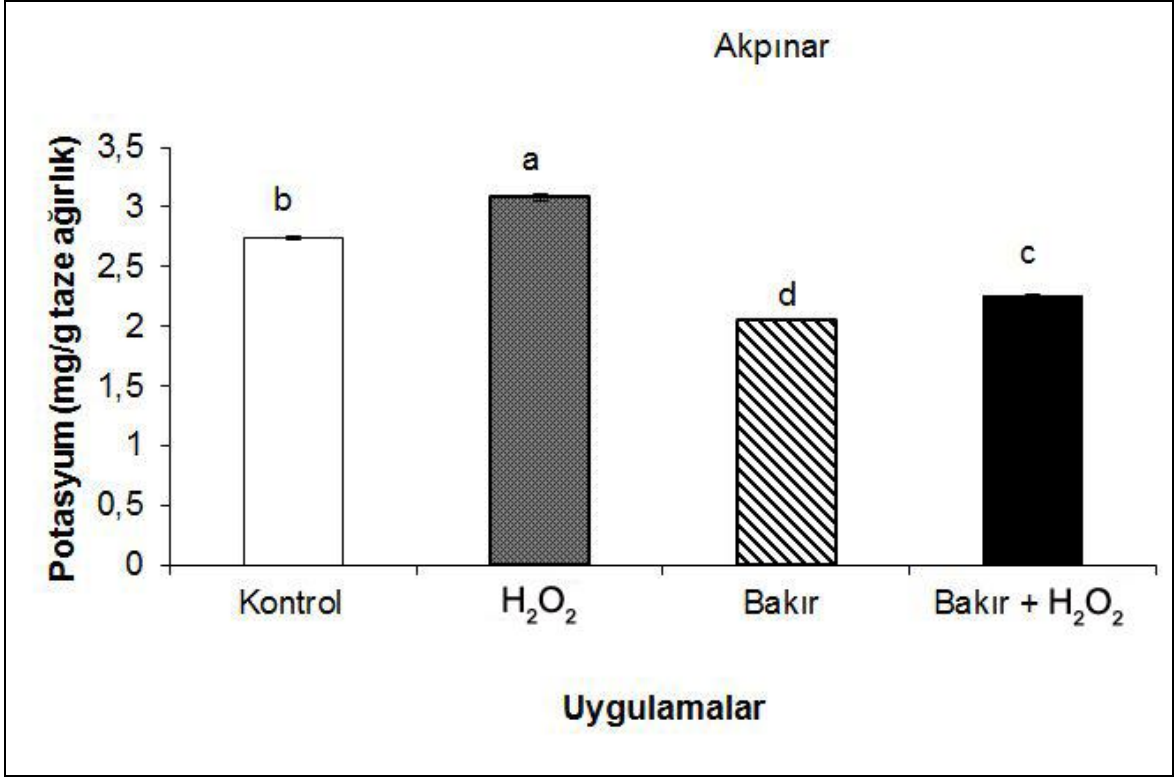
Pegaso'nun kontrol grubunda kalsiyum miktarı g taze ağırlık başına 2,19 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkide 2,35 mg olarak bulundu. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer 1,81 mg'a kadar düşerken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin birlikte uygulandığı bitkilerde 1,99 mg olarak belirlendi (Şekil 17).



Şekil 17. Bakır stresi altındaki Pegaso’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin kalsiyum miktarı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P>0,05) seviyesinde önemsizdir.

### 3.9. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Potasyum Miktarı Üzerine Etkisi

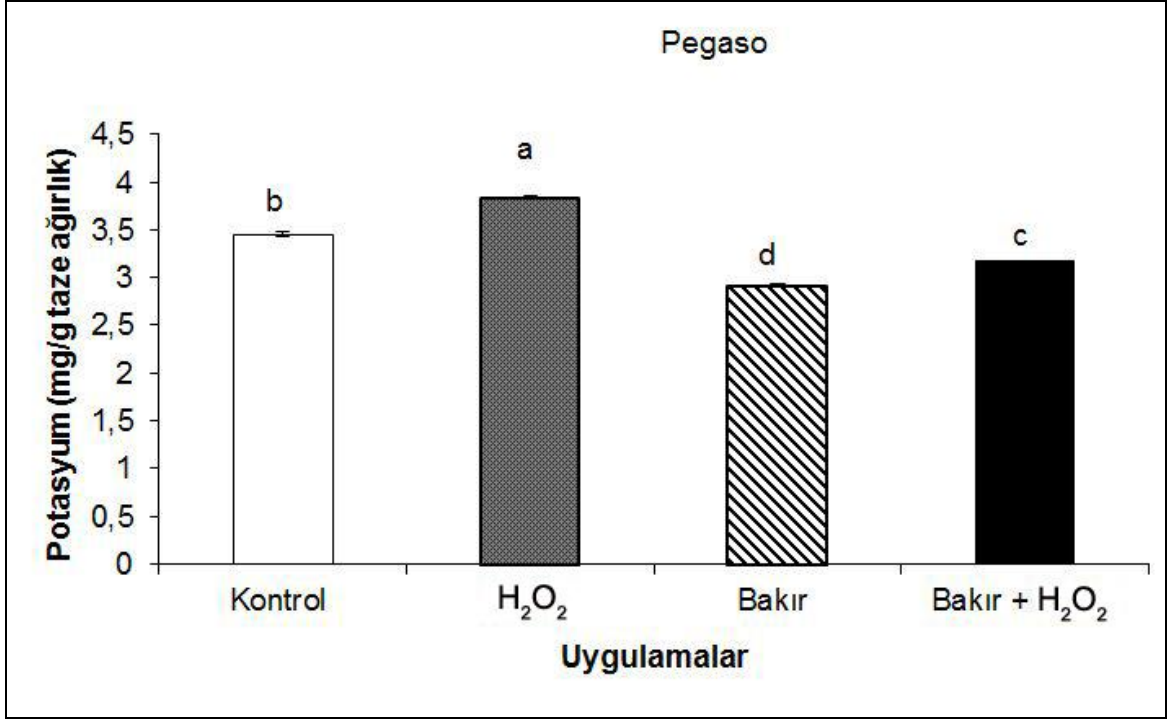
Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresi koşullarında potasyum miktarı üzerine etkisi incelendi. Dayanıklı (Pegaso) ve hassas (Akpınar) mısır çeşitlerinin her ikisinde de yapılan denemeler sonucunda, sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte potasyum miktarı kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin potasyum miktarını önemli derecede artırdığı saptandı (Şekil 18 ve 19). Akpınar’ın kontrol grubunda potasyum miktarı g taze ağırlık başına 2,73 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkilerde bu değer 3,08 mg’a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde kalsiyum miktarı 2,04 mg’a düşerken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’in birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer 2,25 mg’a kadar arttı (Şekil 18).



Şekil 18. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin potasyum miktarı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

Pegaso çeşidine ait kontrol bitkisinde potasyum miktarı g taze ağırlık başına 3,45 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkide 3,84 mg'a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer 2,91 mg'a kadar düşerken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin birlikte uygulandığı bitkilerde 3,17 mg olarak belirlendi (Şekil 19).



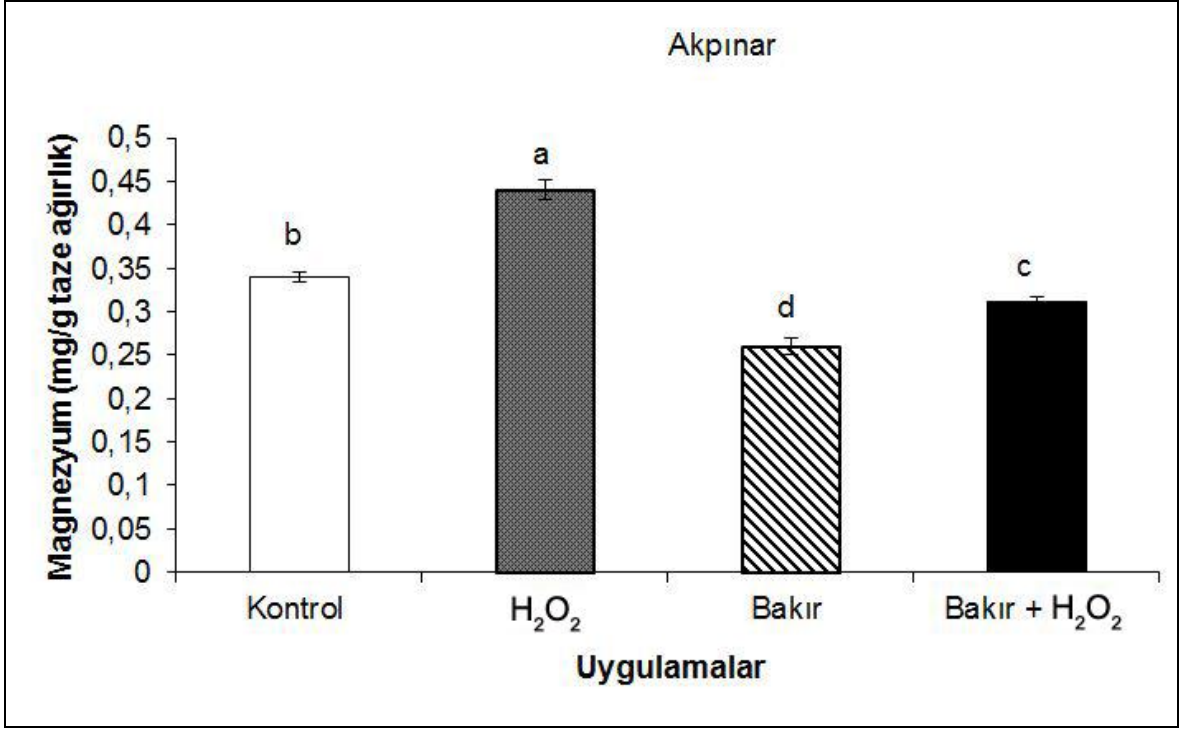


Şekil 19. Bakır stresi altındaki Pegaso’da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin potasyum miktarı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

### 3.10. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Ön Muamelesinin Magnezyum Miktarı Üzerine Etkisi

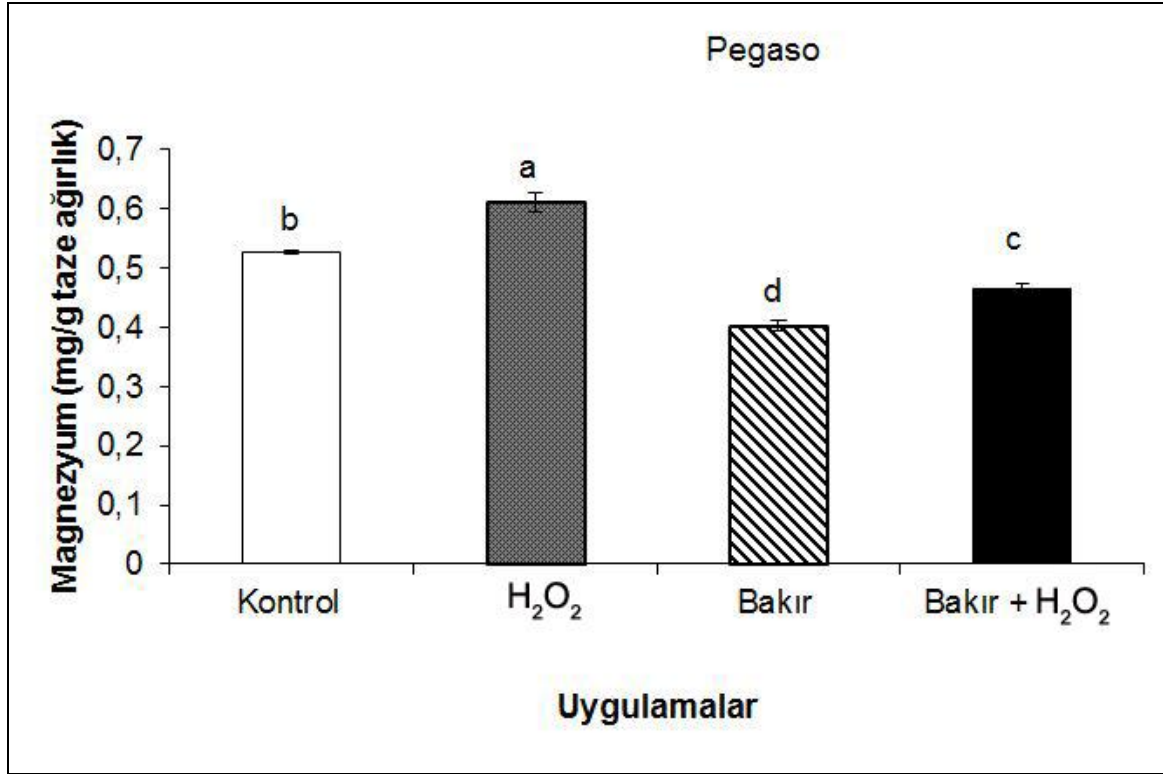
Düşük konsantrasyonda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bakır stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla magnezyum miktarındaki değişimler incelendi. Hem Pegaso hem de Akpınar’da sonuçların benzer olduğu bulundu. Bakır uygulanmış her iki çeşitte magnezyum miktarı kontrol bitkilerine göre istatistiki olarak önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin magnezyum miktarını önemli derecede artırdığı belirlendi (Şekil 20 ve 21). Akpınar çeşidine ait kontrol bitkilerinde magnezyum miktarı g taze ağırlık başına 0,33 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkilerde bu değer 0,44 mg’a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde kalsiyum miktarı 0,26 mg’a düşerken, stres ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’in birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer 0,31 mg’a kadar ulaştı (Şekil 20).





Şekil 20. Bakır stresi altındaki Akpınar'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin magnezyum miktarı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

Pegaso çeşidine ait kontrol bitkisinde kalsiyum miktarı g taze ağırlık başına 0,52 mg iken, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış bitkide 0,61 mg'a kadar yükseldi. Bakır stresine maruz bırakılan bitkilerde bu değer 0,40 mg'a kadar düşerken, bakır stresi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin birlikte uygulandığı bitkilerde 0,46 mg olarak belirlendi (Şekil 21).



Şekil 21. Bakır stresi altındaki Pegaso'da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin magnezyum miktarı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland, Bakır; 0,5 mM CuSO<sub>4</sub> içeren Hoagland, Bakır + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeren Hoagland + 0,5 mM CuSO<sub>4</sub>. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.

#### 4. TARTIŞMA

Bu çalışmada mısır (*Zea mays* L.)'ın iki farklı çeşidinde dışarıdan uygulanan  $H_2O_2$ 'nin bitkiyi bakır stresine karşı korumadaki rolünü anlamak için bitki yapraklarının su içeriği, çözülebilir protein miktarları, kuru ağırlıkları, osmolit olarak prolin, indirgen şeker seviyesi ve iyon miktarlarındaki değişimler araştırılmıştır.

Yaprak su potansiyelinin bitkilerin su stresine cevabını ölçmek için iyi bir parametre olduğu bilinmektedir (Singh vd., 1990). Mevcut çalışmada mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin iki farklı çeşidinde (Akpınar ve Pegaso) yaprak su potansiyelleri incelenmiş ve  $H_2O_2$  ön uygulamasının her iki çeşidinde de kontrole oranla su kaybını azalttığı görülmüştür. Oransal su içeriğinde de benzer sonuçlar tespit edilmiştir. Strese maruz bırakılan bitkilerde kontrole göre artan su kaybı,  $H_2O_2$  ön uygulamasıyla birlikte önemli derecede azalış göstermiştir. Literatürde de benzer sonuçlar bulunmaktadır. Örneğin; kadmiyum etkisi altında lahana ve fasulye bitkisinde, bakır stresi koşulları altında karnabahar bitkisi ve *Silene cucubalus*'un hassas çeşitlerinde su potansiyelinde önemli derecede azalma gözlenmiştir (Chatterje ve Chatterje, 2000; Pandey ve Sharma, 2002; Poschenrieder vd., 1989; Lolkema ve Vooijs, 1986). Düşük nikel konsantrasyonuna maruz bırakılan buğday gövdelerinin oransal su içeriğinde önemli bir değişme görülmezken, yüksek nikel konsantrasyonunda oransal su içeriğinde azalma görülmüştür (Gajewska vd., 2006). Ayrıca, tuz stresi altındaki ıspanak bitkisinde su potansiyeli önemli derecede azalmıştır (Robinson vd., 1983). Düşük konsantrasyonda uygulanan  $H_2O_2$  ön muamelesinin bitkilerde büyüme ve gelişme parametrelerinden biri olan su potansiyeli ve oransal su içeriğini önemli derecede artırarak, bitkilerin daha uzun süre canlılıklarını korumalarını sağlamıştır.

Stres esnasında kuru ağırlık miktarındaki azalış birçok çalışmada rapor edilmiştir. Örneğin; bakır ve kadmiyum stresine maruz bırakılan mısır bitkisinde, nikel stresinin varlığında ise soya fasulyesinin yapraklarında kuru ağırlık miktarında azalma görülmüştür (Ewais, 1997; Lagriffoul vd., 1998; Mocquoti vd., 1996). Bununla birlikte kadmiyum, nikel ve kurşuna maruz bırakılan bitkilerde kuru ağırlığın artan stres yoğunluğuyla önemli derecede azaldığı gözlenilmiştir (Ewais, 1997). Mevcut çalışmamızda yaptığımız denemelerimizin sonucuna göre, Akpınar ve Pegaso'da, bakırın etkisiyle birlikte kuru ağırlık miktarında kontrol bitkilerine oranla bir düşüş gözlenilmiştir. Her iki çeşitte  $H_2O_2$  ön

uygulamasının ise kuru ağırlık miktarını artırdığı kaydedilmiştir. Elde ettiğimiz verilerimiz doğrultusunda düşük konsantrasyonda  $H_2O_2$  ön uygulamasının kuru ağırlık miktarını artırarak ağır stres koşullarında büyümeyi teşvik ettiğini ifade edebiliriz.

Çalışmamızda prolin miktarını tespit etmek için yapılan denemeler sonucunda,  $H_2O_2$  ön uygulamasının her iki çeşitte de kontrole göre prolin miktarını artırdığı tespit edilmiştir. Akpınar çeşidinin kontrolünde 28,9 mg/g olan prolin miktarı, sadece  $H_2O_2$  ön uygulaması yapılmış yapraklarda 43,6 mg/g olarak hesaplanmıştır. Pegaso çeşidinin kontrolünde prolin miktarı 95,5 mg/g olarak bulunurken,  $H_2O_2$  ön uygulaması yapılanlarda ise bu miktar 114,9 mg/g'dır. Bakır stresine maruz bırakılan iki farklı çeşitte de stresin bir indikatörü olan prolin miktarında kontrole göre istatistiki olarak önemli bir artış kaydedilmiştir. Bakır ile  $H_2O_2$  ön uygulamasının birlikte uygulandığı durumlarda ise her iki çeşitte de prolin miktarı en üst seviyede gözlenmiştir. Bitki dokularındaki prolin birikiminin prolin degradasyonundaki azalıştan, prolin sentezindeki artıştan, proteinlerin hidrolizinden, protein sentezindeki ya da prolin kullanımındaki azalıştan kaynaklandığı bilinmektedir (Charest ve Phan, 1990). Ayrıca prolinin ozmolit, radikal temizleyicisi, iyon havuzu, makromolekül sabitleyicisi, metal bağlayıcısı ve hücre duvarı bileşeni olarak işlev yaptığı bilinmektedir (Alia vd., 2002). Farklı moleküllerin prolin indüklemeye yetenekleri de farklıdır. Büyüme ortamındaki eşit molar konsantrasyonlarda kıyaslama yapıldığında bakırın, çinko ve kadmiyumu takiben prolin birikimini indüklemeye diğer metallere göre en etkili olduğu bulunmuştur (Schat vd., 1997). *Lemna minor*'daki bakır indüklü prolin artışı çok hızlı bir şekilde cereyan etmiştir ve bu miktar metal uygulamasının 6. saatinde ölçülebilmıştır (Bassi ve Sharma, 1993a). Son zamanlarda, yüksek miktarda prolin birikiminin transjenik bir alg olan *Chlamydomonas reinhardtii* de artan metal toleransıyla ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Siripornadulsil vd., 2002). Ekzojenik  $H_2O_2$  uygulaması, mısır fidelerinin radikula ve koleoptillerinde önemli derecede prolin birikimine sebep olduğu belirtilmiştir (Yanga vd., 2009). Elde ettiğimiz verilere göre düşük konsantrasyonda uygulanan  $H_2O_2$ 'nin bir ozmolit olan prolin miktarını artırarak bitkilerin stresi en az zararlarla atlattıklarına katkı sağladığı ifade edilebilir.

Stres esnasında indirgen şekerlerdeki artış birçok çalışmada rapor edilmiştir. Çalışmamızda yaptığımız analizler sonucunda Akpınar ve Pegaso'da, bakırın etkisiyle indirgen şeker miktarında kontrole kıyasla bir artış gözlenmiştir. Benzer şekilde, her iki çeşitte  $H_2O_2$  ön uygulaması yapılmış bitkilerde indirgen şeker miktarında kontrollerine

oranla yüksek miktarda artış kaydedilmiştir. İndirgen şeker tayini ile elde edilen sonuçlar literatürde yapılan daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Örneğin; iki çeltik kültüründe, arpa bitkisinde, kavak ve söğüt yapraklarında ağır metallerin etkisiyle indirgen şeker miktarının arttırdığı ileri sürülmüştür (Lunackova vd., 2003; Verma ve Dubey, 2001; Guo vd., 2007). Bununla beraber, *Vitis vinifera*'da yapılan bir çalışmada bakır stresinin çözülebilir şeker miktarını azalttığı kaydedilmiştir (Romeu-Moreno ve Mas, 1999). Ayrıca, tuz stresinin birçok bitkide indirgen şekerleri (glukoz, fruktoz), sakkaroz ve fruktanları arttırdığı rapor edilmiştir (Kerepesi ve Galiba, 2000). *Bruguiera parviflora*'da tuz stresi altında yetiştirildiğinde yapraklarda indirgen olan ve olmayan karbohidratların arttığı gösterilmiştir (Parida vd., 2002). Su stresi altında kültüre alınmış bitki hücrelerindeki indirgen şeker seviyesinin sakkaroz seviyesinden çok daha fazla arttığı rapor edilmiştir (Handa vd., 1983). Şeker birikimi membran ve biyomolekülleri korumaya ve içsel ozmolaritenin düzenlenmesine mümkün olduğunca katkıda bulunur (Hayashi vd., 1997; Sinniah vd., 1998). Bu fikir doğrultusunda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının şeker miktarını artırarak stres boyunca bitki hücrelerinde osmotik ayarlamayı sağladığı ve strese adaptasyonda rol oynadığı ifade edilebilir.

Çalışmamızda bakır stresli yapraklarda indirgen şeker ve prolin miktarının kontrole göre artmasına karşılık çözülebilir protein miktarında azalma olduğu kaydedilmiştir. Bu azalmanın, indirgen şeker ve prolin gibi aminoasit miktarındaki artışın makromoleküllerin sentezini baskılamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Handa vd. (1983) da kültüre edilmiş bitki hücreleri üzerine yaptıkları çalışmada, hücrelerde indirgen şeker ve prolin seviyesindeki artışın protein sentezini azalttığını tespit etmişlerdir. Nitekim, stres sırasında bitkilerin indirgen şeker ve prolin miktarını artırarak osmotik potansiyellerini ayarladıkları ve turgor durumlarını korudukları belirlenmiştir (Handa vd., 1983; Hsiao vd., 1984; Hasegawa vd., 1984). Ayrıca, bitkiler üzerindeki ağır metallerin en önemli etkilerinden biri, protein sentezini inhibe ederek protein miktarını azaltmalarıdır. Ağır metallerin bitkilerdeki protein miktarını azalttığı hususunda çok sayıda rapor mevcuttur. Kurşun, çinko ve kadmiyumun *Hordeum vulgare*'de (Stiborova vd., 1986), kobalt, krom ve bakırın karnabahar fidelerinde (Chatterjee ve Chatterjee, 2000), bakır ve kurşunun *Zea mays*'da (Stiborova vd., 1986) protein miktarını azalttığı bulunmuştur. Bir siyanobakter olan *Anacystis nidulans* bakıra maruz bırakılmış ve bunun sonucu olarak protein miktarı azalmıştır (Gupta, 1986). Benzer şekilde, *Vigna unguiculata* L. tohumları kadmiyum ve

civaya maruz bırakılmış, protein ve amino asit içeriklerinde azalma görülmüştür (Nagoor, 1997).

Bazı bitkilerin strese dayanıklılıklarını artırmak için, strese adaptasyon sırasında stres proteinleri sentezledikleri ve protein seviyesinin değişim gösterdiği bulunmuştur (Öktem vd., 1992). Stres esnasında biriken proteinler genellikle yüksek hidrofilitik özelliğe sahiptir. Bu proteinler su, fosfat ve diğer iyonları tutarken membranların yapısını da korurlar. Kuraklık stresi altında belirli proteinlerin ortaya çıktığı ve bunların denatürasyona dayanıklı bir konfigürasyona sahip oldukları ileri sürülmüştür (Bidwell, 1974). Sıcak şoku ve anaerobik şartlar altında da yeni proteinlerin sentezlendiği kaydedilmiştir. Bitkiler 40 °C gibi yüksek sıcaklıklara maruz kaldıklarında sıcak şok proteinlerini (hsp) sentezleyerek, sıcaklığa alıştıkları rapor edilmiştir. Ayrıca yüksek metal konsantrasyonlarında, kuraklıkta ve ultraviyole ışıkta bitkilerin çeşitli stres proteinleri sentezledikleri de belirlenmiştir (Hale ve Orcutt, 1987). Yaptığımız analizler sonucunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılan bitkilerde çözülebilir protein miktarlarında kontrole oranla artış bulunmuştur. Bu verilere göre, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön muamelesinin bitkilerde stresin olumsuz etkilerini hafiflettiği söyleyebiliriz.

Osmotik ayarlama sağlayan maddelerden biri de iyonlardır. Ağır metaller bitkilerin iyon alınımını ve dolayısıyla iyon oranını da etkilemektedirler (De Vos vd., 1991; Ouzounidou vd., 1992). Tuz stresi uygulanmış darı bitkisinde potasyum, kalsiyum ve magnezyum iyonlarında azalma görülmüştür (Bernstein vd., 1995). Kadmiyum uygulaması altında buğday yapraklarının (*Triticum aestivum* L.) toprak üstü kısımlarında demir, magnezyum, kalsiyum ve potasyum miktarlarında azalma görülmüştür (Ouzounidou vd., 1997). Bakır uygulaması yapılmış mısır bitkisinin kök ve gövdesinde önemli derecede azot, fosfor ve potasyum miktarının azaldığı bulunmuştur (Ait-Ali vd., 2002). Bakıra maruz bırakılan mısır bitkisinin üçüncü yapraklarında kalsiyum ve magnezyum miktarlarında artış gözlenirken, magnezyum miktarında ise hafif bir düşüş kaydedilmiştir (Mocquoti vd., 1996). İyon kaybına sebep olan bakır toksisitesinin ilk etkisinin, kök hücrelerinin membranlarına zarar vererek oluştuğu rapor edilmiştir. (Woolhouse ve Walker, 1981). İyon miktarını belirlemek için yapılan analizler sonucunda bakır uygulanmış her iki çeşitte magnezyum, kalsiyum, potasyum ve sodyum içeriklerinin kontrole göre azaldığı bulunmuştur. Her iki çeşitte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının ise yaprak iyon miktarını önemli derecede artırdığı tespit edildi. Böylece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının her iki çeşidinin plazma membranını koruyarak iyon kaybını engellediği kanaatine varılmıştır.

$H_2O_2$  abiyotik ve biyotik stres altında bitki savunma mekanizmalarını harekete geçiren bir sinyal olarak kabul edilmektedir (Doke vd., 1994; Prasad vd., 1994; Foyer vd., 1997). Düşük konsantrasyonda uygulanan  $H_2O_2$ 'nin bitkilerde strese karşı toleransı uyardığı son yıllarda yapılan birçok çalışmada rapor edilmiştir. Örneğin, düşük konsantrasyonlarda  $H_2O_2$  uygulamasının *Phalaenopsis* ve *Vigna radiata*'da, patates göz eksplantlarında yüksek sıcaklığa toleransı arttırdığı ileri sürülmüştür (Prasad vd., 1994; Yu vd., 2002; Yu vd., 2003; Foyer vd., 1997; Lopez-Delgado vd., 1998). Parakuat püskürtülmüş ve  $H_2O_2$  ön muamelesi yapılmış genç bezelye yapraklarındaki sağ kalım oranının sadece parakuat uygulananlara göre çok daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Moskova vd., 2007).  $H_2O_2$  ön uygulaması, mısır bitkileri üzerinde tuz stresinin etkilerini azaltmıştır (Dias de Azevedo Neto vd., 2005). Çeltik fidelerine uygulanan çeşitli seviyelerde  $H_2O_2$  ön muamelesi, bitkilerin tuz ve ısı streslerine alışmalarını sağlamıştır (Dias de Azevedo Neto vd., 2005).  $H_2O_2$  ön uygulamasının *Arabidopsis* ve tütün bitkilerinde, yüksek ışık yoğunluğunun sebep olduğu oksidatif zararlardan bitkileri koruduğu kaydedilmiştir (Karpinski vd., 1999). Ayrıca,  $H_2O_2$  ön uygulaması ısı stresine maruz bırakılmış salatalık bitkilerinin antioksidan enzimlerini artırdığı ve kloroplast yapılarını koruduğu belirlenmiştir (Gao vd., 2010). Isı stresi altında  $H_2O_2$  ön uygulamasının antioksidan enzimlerini düzenlediği ve bitkilerin daha fazla sağ kalım yüzdelere sahip olmalarını sağladığı ileri sürülmüştür (Gao vd., 2010). Ekzojenik  $H_2O_2$ , antioksidan aktiviteyi artırarak ve lipid peroksidasyonunu azaltarak salatalık yapraklarında ozmotik strese toleransı indüklediği ve böylece birçok membran yapısını koruduğu rapor edilmiştir (Liu vd., 2010).

Sonuç olarak; mevcut çalışmada mısır bitkisinin iki farklı çeşidinde bakır stresi koşullarında  $H_2O_2$  ön muamelesinin su içeriği, kuru ağırlık miktarı, protein ve ozmolitlerde önemli derecede değişikliğe neden olduğu bulunmuştur. Bu verilere göre, hidrojen peroksidin bakır stresi altındaki bitkilerde osmotik ayarlama sağlayarak stresin olumsuz etkisini azaltabileceği sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇLAR

Yapmış olduğumuz bu çalışma sonucunda;

1) Mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin iki farklı çeşidinde bakır stresinin etkisiyle bitkilerde büyüme ve gelişme parametrelerinden biri olan yaprak su içeriğinin azaldığı görülmüştür. Düşük konsantrasyonda uygulanan  $H_2O_2$  ön uygulamasının ise bitkilerin yaprak su içeriğini istatistiki olarak artırdığı belirlenmiştir.

2) Söz konusu mısır çeşitlerinde bakır stresinin kuru ağırlık miktarını azalttığı,  $H_2O_2$  ön muamelesinin ise azalan kuru ağırlık miktarını artırdığı belirlenmiştir.

3) Stres periyodu sırasında bitkide indirgen şeker ve prolin miktarında önemli derecede bir artışın olduğu belirlenmiştir. Bu artışın ise  $H_2O_2$  ön uygulamasıyla birlikte daha da arttığı kaydedilmiştir. Bu artışın hücrelerin osmotik potansiyellerini ayarlayarak turgor durumunu muhafaza etmesi ve su kaybını engellemesi açısından bitki için oldukça yararlı bir mekanizma olduğu görülmektedir.

4) Bakır stresinin protein miktarını azalttığı,  $H_2O_2$  ön muamelesinin ise azalan protein içeriğini artırdığı tespit edilmiştir.

5) Bakır stresi koşullarında önemli bir iyon kaybının olduğu görülmüştür. Bu iyon kaybının  $H_2O_2$  ön uygulamasıyla önemli derecede önlendiği ve  $H_2O_2$  ön uygulamasının plazma membranını koruyarak iyon kaybını engelleyebileceği sonucuna varılmıştır.

6) Kısaca bu çalışmada, bakır stresine maruz kalan mısır (*Zea mays* L.) çeşitlerinde  $H_2O_2$  ön uygulamasının ozmolit seviyesindeki artışı uyarabildiği, protein ve kuru ağırlık miktarını artırdığı ve böylece ağır metal stresini hafifletmede rolünün olabileceği belirlenmiştir.



## 6. ÖNERİLER

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının yüksek sıcaklık, tuz stresi, ısı, yüksek ışık ve parakuat gibi herbisitlere maruz kalan bitkilerde stresin etkisini hafifletmede rolünün olduğu ispatlanmıştır. Benzer şekilde, mevcut çalışmada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının ağır metal stresinin etkilerini önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin stres koşullarında bitkilerde iyileştirmeyi sağlamak amacıyla tarımda kullanılabilmesi, böylece ağır metal stresine maruz kalma durumunda bu bitkilere tohum aşamasında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamak suretiyle mısır üretimindeki ekonomik kayıpların önlenebileceği söylenebilir.

Ayrıca, bitkilerin ağır metal stresini tolere etmek için çeşitli mekanizmalar geliştirdikleri bilinmektedir. Örneğin, ağır metal stresi koşullarında, bitkilerin fitoşelat oluşturduğu, antioksidan sistemi ve ozmolit sentezini uyardığı ve böylece strese tolerans sağladığı birçok çalışmada tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının bu mekanizmalardan ozmolit sentezini uyararak bakır stresine tolerans gösterebileceği bulunmuştur. Bundan sonraki çalışmalarda, antioksidan sistem ve fitoşelat oluşumundaki değişimlerin stres koşullarında araştırılması çalışmanın geliştirilmesi açısından uygun olacağı düşünülmektedir. Ayrıca, ozmolit sentezinde rol alan enzim aktivitelerinin moleküler düzeyde araştırılması sonuçların birçok veriyle desteklenmesi açısından yarar sağlayabilir. Örneğin, prolin sentezine karışan enzimlerden  $\Delta^1$ -prolin-5-karboksilat sentetaz ve glutamat dehidrogenaz gibi enzimler ile şeker metabolizmasında rol alan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve sakkaroz sentetaz gibi enzimlerdeki değişimler moleküler seviyede araştırılabilir.

## 7. KAYNAKLAR

- Abd-El Monem, H., Corradi, M. ve Gorbi, G., 1998. Toxicity of Copper and Zinc to Two Strains of *Scenedesmus acutus* Having Different Sensitivity to Chromium, Environ. Exp. Bot., 40, 59-66.
- Ait-Ali, N., M. Bernal, M.P. ve Ater, M., 2002. Tolerance and Bioaccumulation of Copper in *Phragmites australis* and *Zea mays*, Plant and Soil., 239, 103–111.
- Alia, M.J., Bhalu, B. ve Mohanty, P., 2002. Molecular Mechanism of Quenching of Reactive Oxygen Species by Proline Under Stress in Plants, Current Science, 82, 525-532.
- Alia-Saradhi, P.P., 1991. Proline Accumulation Under Heavy Metal Stress. J. Plant Physiol., 138, 554-558.
- Alloway, B.J. ve Ayres, D.C., 1993. Chemical Principles of Environmental Pollution, Chapman & Hall, U.K., 291 s.
- Arduini, I., Godbold, D.L. ve Onnis, A., 1995. Influence of Copper on Root Growth and Morphology of *Pinus pinea* L. and *Pinus pinaster* Ait. Seedlings, Tree Physiology, 15, 411-415.
- Ayaz, F.A., 1999. Mısır (*Zea mays* L.) Fidelerinin Düşük ve Yüksek Sıcaklığa Adaptasyonunda Büyüme Düzenleyici Maddelerin Rolü, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Baker, A.J.M. ve Brooks, R.R., 1989. Terrestrial Higher Plants which Hyperaccumulate Metallic Elements, A Review of their Distribution, Ecology and Phytochemistry. Biorecovery 1, 81-126.
- Bassi, R. ve Sharma, S.S., 1993a. Changes in Proline Content Accompanying the Uptake of Zinc and Copper by *Lemna minor*, Ann. Bot., 72,151–154.
- Bassi, R. ve Sharma, S.S., 1993b. Proline Accumulation in Wheat Seedlings Exposed to Zinc and Copper, Phytochemistry, 33, 1339–1342.
- Bates, L.S., Waldren, R.P ve Teare, I.D., 1993. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies, Plant and Soil, 39, 205-207.
- Bergmann, W., 1992. Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis, New York, 695 s.
- Bernstein, N., Silk, W.K. ve Lauchli, A., 1995. Growth and Development of Sorghum Leaves Under Conditions of NaCl Stress: Possible Role of Some Mineral Elements in Growth Inhibition, Planta, 196, 699-705.
- Bidwell, R. G. S., 1974. Nitrogen Metabolism, In: Giles, N. H., Torrey, J. G., Eds., Plant Physiology, Mc Millan Co., New York, 173-200 s.

- Bowen, H. J. M., 1985, The Natural Environment and The Biogeochemical Cycles, In: The Handbook of Environmental Chemistry, 1, Part D: D. Hutzinger, Ed., Springer-Verlag, New York, 1-26 s.
- Bradford, M.A., 1976. Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilising the Principle of Protein Dye Binding, Anal. Biochem., 248-254.
- Brooks, A., Collins, C.J. ve Thurman, D.A., 1981. The Mechanism of Zinc Tolerance in Grasses, Journal of Plant Nutrition, 3, 695-705.
- Castillo, F.J., 1996. Antioxidative Protection in the Inducible CAM Plant *Sedum album* L. Following the Imposition of Severe Water Stress and Recovery, Oecologia, 107, 469-477.
- Charest, C. ve Phan, C.T., 1990. Cold Acclimation of Wheat (*Triticum aestivum*): Properties of Enzymes Involved in Proline Metabolism, Physiologia Plantarum, 80, 159–68.
- Chatterjee, J. ve Chatterjee, C., 2000. Phytotoxicity of Cobalt, Chromium and Copper in Cauliflower, Environmental Pollution, 109, 1, 69-74.
- Chen, C. T., Chen, L., Lin, C. C. ve Kao, C. H., 2001. Regulation of Proline Accumulation in Detached Rice Leaves Exposed to Excess Copper, Plant Science, 160, 2, 283-290.
- Chen, S.L. ve Kao, C.H., 1995. Cd Induced Changes in Proline Level and Peroxidase Activity in Roots of Rice Seedlings, Plant Growth Regul., 17, 67–71.
- Choi, J., Pak, C. ve Lee, C.W., 1996. Micronutrient Toxicity in French Marigold, Journal of Plant Nutrition, 19, 901-916.
- Clarkson, D.T. ve Lutge, U., 1989. Mineral Nutrition: Divalent Cations, Transport and Compartmentalization, Prog. Bot., 51, 93-112.
- Cumming, J.R. ve Taylor, G.J., 1990. Mechanism of Metal Tolerances in Plants: Physiological Adaptation for Exclusion of Metal Ions from The Cytoplasm, Stres Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms, Alscher, R.G. and Cumming, J.R., 329-359, Wiley-Liss, Inc.
- De Vos, C.H.R., Schat, H., DeWaal, M.A.M., Vooijs, R. ve Ernst, W.H.O., 1991. Increased Resistance to Copper-Induced Damage of The Root Cell Plasmalemma in Copper Tolerant *Silene cucubalus*. Physiol. Plant., 82, 523–528.
- Dias de Azevedo Neto, A., Prisco, J.T., Ene´as-Filho, J., Medeiros, J.V. ve Gomes-Filho, E., 2005. Hydrogen Peroxide Pre-treatment Induces Salt Stress Acclimation in Maize Plants, Journal of Plant Physiology, 162, 1114-1122.

- Dinges, R., 1982. Aquatic Plant Systems. An Unconventional Approach to Removal of Toxic Materials, Presented of The Tenth Water Resource Symposium, 'Toxic Materials- Methods of Control' University of Texas, Austin, Texas.
- Doke, N., Miura, Y., Sanchez, L. ve Kawakita, K., 1994. Involvement of Superoxide in Signal Transduction: Responses to Attack by Pathogens, Physical and Chemical Shocks, and UV Irradiation, In: Causes of Photooxidative Stresses and Amelioration of Defense Systems in Plants, Foyer, C.H. ve Mullineaux, P., Eds., CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 177-198 s.
- Doncheva, S., Nikolov, B. ve Ogneva, V., 1996. Effect of Copper Excess on The Morphology of The Nucleus in Maize Root Meristem Cells, Physiol. Plantarum, 96, 118-122.
- Dubois, M., Gilles K.A., Rebers, P.A. ve Smith, F., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, Anal. Chem. 28, 350-356.
- El-Tayeb, M. A. ve Ahmed, M. K., 2007. Apoplastic Protein Pattern, Hydrolases and Peroxidase Activity of *Vicia faba* Cultivars as Influenced by Drought., International Journal of Agriculture & Biology, 09, 2, 226-230.
- EPA, 1990. National Air Quality and Emission Trends Report. In: Novotny, V., 1995, Diffuse Sources of Pollution by Toxic Metals and Impact on Receiving Waters, W. Salomons, V.Förstner, P. Mader, Ed., Heavy Metals Problems and Solutions, Springer-Verlag, Germany, 44 s.
- Ewais, E.A., 1997. Effects of Cadmium, Nickel and Lead on Growth, Chlorophyll Content and Proteins of Weeds, Biologia Plantarum, 39, 403-410.
- Flower, D.J. ve Ludlow, M.M., 1986. Contribution of Osmotic Adjustment to The Dehydration Tolerance of Water Stressed Pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) Millsp. Leaves, Plant Cell Environ., 9, 33-40.
- Forstner, U. ve Wittmann, G. T. W., 1979. Metal Pollution in The Aquatic Environment, Springer-Verlag, Berlin, 386.
- Foyer, C., Lorez-Delgao, H., Dat, J. ve Scott, I., 1997. Hydrogen Peroxide and Glutathione-Associated Mechanisms of Acclimatory Stress Tolerance and Signaling. Physiol Plant, 100, 241-254.
- Gajewska E., Skłodowska M., Słaba M. ve Mazur J., 2006. Effect of Nickel on Antioxidative Enzyme Activities, Proline and Chlorophyll Contents in Wheat Shoots, Biologia Plantarum, 50, 4, 653-659.
- Gao, Y., Guo, Y-K., Lin, S-H., Fang, Y.Y. ve Bai, J.G., 2010. Hydrogen Peroxide Pretreatment Alters The Activity of Antioxidant Enzymes and Protects Chloroplast Ultrastructure in Heat-Stressed Cucumber Leaves, Scientia Horticulturae., 126, 20-26.

- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem F., Inze, D., Dukiandjiev, S. ve Toneva, V. vd., 2002, Hydrogen Peroxide Protects Tobacco from Oxidative Stress by Inducing a Set of Antioxidant Enzymes, Cell Mol Life Sci., 59, 708–714.
- World Health Organization, 1996. Trace Elements in Human Nutrition and Health, Geneva, Macmillan / Ceuterick-8000.
- Ghoulam, G., Foursy, A. ve Fares, K., 2002. Effects of Salt Stress on Growth, Inorganic Ions and Proline Accumulation in Relation to Osmotic Adjustment in Five Sugar Beet Cultivars, Environmental and Experimental Botany, 47, 1, 39-50.
- Greger, M. ve Bertell, G., 1992. Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  on The Carbohydrate Metabolism in Sugar Beet (*Beta vulgaris*), J. exp. Bot., 43, 167-173.
- Guo, T.R., Zhang, G.P. ve Zhang, Y.H., 2007. Physiological Changes in Barley Plants Under Combined Toxicity of Aluminum, Copper and Cadmium, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 57, 182-188
- Gupta, S.L., 1986. Copper Uptake and Inhibition of Growth, Photosynthetic Pigments and Macromolecules in The Cyanobacterium *Anacystis Nidulans*. Photosynht., 20, 447-453.
- Habashi, F., 1997. Handbook of Extractive Metallurgy, 2, WILEY-VCH, Germany.
- Hale, M. G. ve Orcutt, D. M., 1987. The Physiology of Water Stres, John Wiley and Sons, New York.
- Handa, S., Bressan, R.A., Handa, A.K., Carpita, N.C. ve Hasegawa P.M., 1983. Solutes Contributing to Osmotic Adjustment in Cultured Plant Cells Adapted to Water Stres, Plant Physiol., 73, 834-843.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Handa, S. ve Handa, A.K., 1984. Cellular Mechanisms of Tolerance to Water Stres, Hort Science, 19, 371-377.
- Hayashi, H., Alia, Mustardy, L., Deshniun, P., Ida, M. ve Murata, N., 1997. Transformation of *Arabidopsis thaliana* with The *cod A* Gene for Choline Oxidase: Accumulation of Glycine Betaine Enhanced Tolerance to Salt and Cold Stress, Plant J., 12, 133-142.
- Henda, S., Handa, A.K., Hasegawa P.M. ve Bessan R.A., 1986. Proline Accumulation and The Adaptation of Cultured Plant Cells to Water Stress, Plant Physiol. 80, 938–945.
- Hsiao, T.C., O' Toole, J.C., Yambao, E.B. ve Turner, N.C., 1984. Influence of Osmotic Adjustment on Leaf Rolling and Tissue Death in Rice (*Oryza sativa* L.), Plant Physiol., 73, 338-341.
- Jamil, K., Madhavendra, S.S., Jamil, M. ve Rao, P.V.R., 1987. Studies on Water Hyacinth as a Biological Filtre for Treating Contaminants from Agricultural Waste and Industrial Effluents, J. Environ. SCL. Health, 22, 1, 103-112.

- Karpinski, S., Reynolds, H., Karpinska, B., Wingsle, G., Creissen, G. ve Mullineaux, P., 1999. Systematic Signaling and Acclimation in Response to Excess Excitation Energy in Arabidopsis, Science, 284, 654–657.
- Kennedy, C.D. ve Gonsalves, F.A.N., 1987. The Action of Divalent Zinc, Cadmium, Mercury, Copper and Lead on The Trans-Root Potential and H<sup>+</sup>, Efflux and Excised Roots, J. Exp. Bot., 38, 800-817.
- Kerepesi, I. ve Galiba, G., 2000. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. Crop Sci., 40, 482-487.
- Kırbağ Zengin, F. ve Munzuroğlu, Ö., 2003. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.) Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Kadmiyum (Cd<sup>++</sup>) ve Civa (Hg<sup>++</sup>)'nın Etkileri, Fen Bilimleri Dergisi, 24, 1, 64-75.
- Kinnerseely, A.M., 1993. The Role of Phytochelates in Plant Growth and Productivity, Plant Growth Regulation, 12, 207-217.
- Lagriffoul, A., Mocquot, B., Mench, M. ve Vangronsveld, J., 1998. Cadmium Toxicity Effects on Growth, Mineral and Chlorophyll Contents, and Activities of Stress Related Enzymes in Young Maize Plants (*Zea mays* L.), Plant and Soil, 200, 241–250.
- Lanaras, T., Moustakas, M., Symeonidis, L., Diomantoglov, S. ve Karataglis, S., 1993. Plant Metal Content Growth Responses and Some Photosynthetic Measurements of Field-Cultivated Wheat Growing on One Bodies Enriched in Cu., Physiol. Plant., 88, 307-314.
- Lee, C.W., Jackson, M.B., Duysen, M.E., Freeman, T.P. ve Self, J.R., 1996. Induced Micronutrient Toxicity in 'Towndown' Kentucky Bluegrass, Crop Science, 36, 705-712.
- Lewitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. Water, Radiation, Salt and Other Stresses, 2, 25-228, Academic, New York.
- Lexmond, T.M. ve Van der Vorm, P.D.J., 1981. The Effect of pH on Copper Toxicity to Hydroponically Grown Maize. Netherlands Journal of Agricultural Science, 29, 209-230.
- Lidon, F.C. Ramalho, J. ve Henriques, F.S., 1993. Copper Inhibition of Rice Photosynthesis, J. Plant Physiol., 142, 12-17.
- Liu, Z.J., Guo, Y.K. ve Bai, J.G., 2010. Exogenous Hydrogen Peroxide Changes Antioxidant Enzyme Activity and Protects Ultrastructure in Leaves of Two Cucumber Ecotypes Under Osmotic Stres, J Plant Growth Regul., 29, 171–183.
- Lolkema, P.C. ve Vooijs, R., 1986. Subcellular Distribution of Copper and its Effects on Chloroplasts and Plastocyanin Synthesis, Planta, 167, 30-36.

- Lopez-Delgado, H., Dat, J., Foyer, C. ve Scott, I., 1998. Induction of Termotolerance in Potato Microplants by Acetylsalicylic Acid and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, J. Exp. Bot., 49, 713–720.
- Lunackova, L., Sotnikova, A., Masarovicova, E., Lux, A. ve Stresko, V., 2003. Comparison of Cadmium Effect on Willow and Poplar in Response to Different Cultivation Conditions, Biologia Plantarum, 47, 3, 403-411.
- Luo, Y. ve Rimmer, D.L., 1995. Zinc-copper interaction affecting plant growth on a metal-contaminated soil, Environmental Pollution, 88, 79-83.
- Mertz, W., 1987. Trace Elements In Human and Animal Nutrition-Fifth Edition, 1, Academic Pres.
- Mitchell, R.L., Burchett, M.D., Pulkownik, A. ve McCluskey, L., 1988. Effects of Environmentally Hazardous Chemicals on The Emergence and Early Growth of Selected Australian Native Plants, Plant and Soil, 112, 195-199.
- Mocquot, B., Vangronsveld, J., Clijsters H. ve Mench, M., 1996. Copper Toxicity in Young Maize (*Zea mays* L.) Plants: Effects on Growth, Mineral and Chlorophyll and Enzyme Activities, Plant and Soil., 182, 287-300.
- Mohan, B.S. ve Hosetti, B.B., 1997. Potential Phytotoxicity of Lead and Cadmium to *Lemna minor* Grown in Sewage Stabilization Ponds, Environ. Pollut., 98, 233-238.
- Monni, S., Salemaa, M., White, C., Tuittila, E. ve Huopalainen, M., 2000. Copper Resistance of *Calluna vulgaris* Originating from The Pollution Gradient of A Cu-Ni Smelter, in Southwest Finland, Environ. Pollut., 109, 211-219.
- Moskova, I., Todorova, D., Alexieva, V. ve Sergiev, I., 2007. Hydrogen Peroxide Pretreatment Alleviates Paraquat Injuries in Pea (*Pisum sativum* L.), Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci., 60,10, 1101–1106.
- Munzuroğlu Ö. ve Geçkil H., 2002. Effects of Metals on Seed Germination, Root Elongation, Coleoptile and Hypocotyl Growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*, Environ. Cont. and Toxi., 43, 203-213.
- Nagoor, S., 1997. A Study of Influence of Cadmium and Mercury on Growth and Protein Metabolism in Cowpea Seedlings. J. Phsiol. Research, 10, 31- 34.
- Nussbaum, S., Shemutz, D. ve Brunold, C., 1988. Regulation of Assimilatory Sulfate Reduction by Cadmium *Zea mays* L., Plant Physiology, 88, 1407-1407.
- O’Sullivan, J.N., Asher, C.J. ve Blamey, F.P.C., 1997. Nutrient Disorders of Sweet Potato, ACIAR Monograph, Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Ouzounidou, G., 1995. Cu-ions Mediated Changes in Growth, Chlorophyll and Other Ion Contents in a Cu-Tolerant *Koeleria splendens*, Biologia Plantarum, 37, 71-78.

- Ouzounidou, G., Eleftheriou, E.P. ve Karataglis, S., 1992. Ecophysical and Ultrastructural Effects of Copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae), Canadian Journal of Botany, 70, 947-957.
- Ouzounidou, G., Moustakas, M. ve Eleftheriou, E.P., 1997. Physiological and Ultrastructural Effects of Cadmium on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Leaves, Arch. Environ. Contam. Toxicol., 32, 154–160.
- Öktem, H.A., Özalp, V.C., Nalbant, D., Özkan, F., Nagvi, S.M.S., Memon, A.R. ve Yücel, M., 1992. Identificatin of Stres Induced Proteins in Different Varieties of Poppy (*Papaver somniferum* L.), Doğa Tr. J. Botany, 16, 395-403.
- Padurariu, C., Harovitz, T., Paltineau, R. ve Negomi, V., 1969. On the Relationship Between Soil Moisture and Osmotic Potential in Maize and Sugar Beet Plants, Physiol. Plantarum, 22, 850-860.
- Pandey, N. ve Sharma, C. P., 2002. Effect of Heavy Metals  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  on Growth and Metabolism of Cabbage, Plant Science, 163, 4, 753-758.
- Parıda, A., Das, A.B. ve Das, P., 2002. NaCl Stress Causes Changes in Photosynthetic Pigments, Proteins and Other Metabolic Components in the Leaves of a True Mangrove, *Bruguiera parviflora*, in Hydroponic Cultures. J. Plant Biol., 45, 28-36.
- Patakas, A., Nikolaou, N., Zioziou, E., Radoglou, K. ve Noitsakis, B., 2002. The Role of Organic Solute and Ion Accumulation in Osmotic Adjustment in Drought-Stressed Grapevines, Plant Science, 163, 361-367.
- Patterson, W. ve Olson, J.J., 1983. Effects of Heavy Metals on Radicle Growth of Selected Woody Species Germinated on Filter Paper, Mineral and Organic Soil Substrates, Canadian Journal Of Forest Research, 13, 233-238.
- Poschenrieder, Ch., Gunse, B. ve Barcelo, J., 1989. Water Relations and Cell Wall Elasticity in Cadmium Treated Bush Bean Plants, Plant Physiol., 90, 1365-1371.
- Prasad, T., Anderson, M., Martin, B. ve Stewart, C., 1994. Evidence for Chilling-Induced Oxidative Stress in Maize Seedlings and A Regulatory Role for Hydrogen Peroxide, Plant Cell, 6, 65–74.
- Robinson, S.P., Downton, W.J.S. ve Millhouse, J.A., 1983. Photosynthesis and Ion Content of Leaves and Isolated Chloroplasts of Salt-Stressed Spinach, Plant Physiol., 73, 238-242.
- Romeu-Moreno, A. ve Mas, A., 1999. Effects of Copper Exposure in Tissue Cultured *Vitis vinifera* J., Agric. Food Chem., 47, 7, 2519–2522.
- Romheld, V., 1991. The Role of Phytosiderophores in Acquisition of Iron and Other Micronutrients in Gramineous Species. An Ecological Approach., Plant and Soil. 130, 127-134.



- Sağlam, A., Terzi, R., Nar, H., Saruhan, N., Ayaz, F.A. ve Kadioglu, A., 2010. Inorganic and Organic Solutes in Apoplastic and Symplastic Spaces Contribute to Osmotic Adjustment During Leaf Rolling in *Ctenanthe setosa*, Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 52, 1, 37–44.
- Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, V., Ensley, B.D., Chet, I. ve Raskin, I., 1995. Phytoremediation: A Novel Strategy for The Removal of Toxic Metals from The Environment Using Plants, Biotechnology, 13, 468-474.
- Saradhi, A. ve Saradhi, P.P., 1991. Proline Accumulation Under Metal Stress, J. Plant Physiol. 183, 554–558.
- Schat, H., Sharma, S.S. ve Vooijs, R., 1997. Heavy Metal-Induced Accumulation of Free Proline in A Metal-Tolerant and A Nontolerant Ecotype of *Silene vulgaris*, Physiol. Plant., 101, 477-482.
- Schroppe-Meier, G. ve Kaiser, W.M., 1988. Ion Homeostasis in Chloroplasts. Solute Concentrations in Leaves and Chloroplasts Under Excess or Deficiency of Magnesium, Phosphate or Sulfate, Plant Physiology, 87, 828-832.
- Seman, J.R. ve Critchley, C., 1985. Effects of Salt Stress on The Growth, Ion Content, Stomatal Behaviour and Photosynthetic Capacity of Salt-Sensitive Species, *Phaseolus vulgaris* L., Planta, 164, 151-162.
- Singh, M., Srivastava, J.P. ve Kumar, A., 1990. Effect of Water Potential Components in Wheat Genotypes, Indian J. Plant Physiol, 33, 312-317.
- Sinniah, U.R., Ellis, R.H. ve John, P., 1998. Irrigation and Seed Quality Development in Rapid Recycling *Brassica*, Soluble Carbohydrates and Heat Stable Proteins, Ann. Bot., 82, 647-655.
- Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D.P.S. ve Sayre, R.T., 2002. Molecular Mechanisms of Proline-Mediated Tolerance to Toxic Heavy Metals in Transgenic Microalgae, The Plant Cell, 14, 2837-2847.
- Sivaramakrishnan, S., Patell, V.Z., Flower, D.J. ve Peacock, J.M., 1988. Proline Accumulation and Nitrate Reductase Activity in Contrasting Sorghum Lines during Mid-Season Drought Stress, Physiol. Plant. 74, 418-426.
- Slama, I., Messedi, D., Ghnaya, T., Savoure, A. ve Abdelly, C., 2006. Effects of Water Deficit on Growth and Proline Metabolism in *Sesuvium portulacastrum*, Environmental and Experimental Botany, 56, 231-238.
- Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S. ve Miszalski, Z., 2007. The Role of Hydrogen Peroxide in Regulation of Plant Metabolism and Cellular Signalling in Response to Environmental Stresses, Acta Biochim. Pol., 54, 39-50.
- Somashekaraiah, B.V., Padmaja K. ve Prasad, A.R.K., 1992. Phytotoxicity of Cadmium Ions on Germinating Seedlings of Mung Bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of Lipid Peroxides in Chlorophyll Degradation, Physiol. Planarum, 85, 85-89.

- Stephan, U.W. ve Scholz, G., 1993. Nicotianamine: Mediator of Transport of Iron and Heavy Metals in The Phloem, Physiol. Plant., 88, 522-529.
- Stiborova, M., Doubravova, M., Brezinova, A. ve Friedrich, A., 1986. Effect of Heavy Metal Ions on Growth and Biochemical Characteristics of Photosynthesis of Barley (*Hordeum vulgare* L.), Photosynthetica, 20, 418-425.
- Stiborova, M., Hromadkova, R. ve Leblova, S., 1986. Effect of Ions of Heavy Metals on The Photosynthetic Characteristics of Maize (*Zea mays* L.), Biol. Plantarum., 4, 12, 1221-1228.
- Stoyanova, D.P. ve Tschakalova, E.S., 1997. Cadmium Induced Ultrastructural Changes in Chloroplasts of The Leaves and Stems Parenchyma in *Myriophyllum spicatum*, Photosynthetica, 34, 241-284.
- Street, H.E. ve Öpik, H., 1984. The Physiology of Flowering Plants: Their Growth and Development, Third Edition, Baltimore, Arnold, London.
- Tanyolaç, D., Ekmekçi, Y. ve Ünalın, Ş., 2007. Changes in Photochemical and Antioxidant Enzyme Activities in Maize (*Zea mays* L.) Leaves Exposed to Excess Copper, Chemosphere, 67, 89-98.
- Taylor, G.J. ve Foy, C.D., 1985. Differential Uptake and Toxicity of Ionic and Chelated Copper in *Triticum aestivum*, Can. J. Bot., 63, 1271-1275.
- Terzi, R., Sağlam, A., Kutlu, N., Nar, H. ve Kadioğlu, A., 2010. Impact of Soil Drought Stress on Photochemical Efficiency of Photosystem II and Antioxidant Enzyme Activities of *Phaseolus vulgaris* Cultivars, Turk J. Bot., 34, 1-10.
- Thurman, D.A., 1981. Mechanism of Metal Tolerance in Higher Plants, In: Effect of Heavy Metal Pollution on Plants, Lepp, N.V., Ed., Applied Science Publishers, London, England, 239-249 s.
- Ungar, I.A., 1996. Effect of Salinity on Seed Germination, Growth, and Ion Accumulation of *Atriplex Patula* (Chenopodiaceae), American Journal of Botany, 83, 604-607.
- URL-1, <http://www.mta.gov.tr>. 11 Mart 2011
- URL-2, <http://www.inchem.org>. 10 Şubat 2011.
- URL-3, <http://www.healthy.net>. 10 Şubat 2011.
- URL-4, <http://www.maden.org.tr/www/7.BYKP/ekutup96/o511/rezervler.htm>. 27 Nisan 2011.
- URL-5, <http://www.usgs.gov/Copper>. 27 Nisan 2011.
- URL-6, <http://ekutup.dpt.gov.tr/madencil/metalmad/oik638.pdf>. 15 Aralık 2010.

- URL-7, [http://biyoloji.ataturkfenlisesi.com/ders\\_notlari/bitkilerde-stres.html](http://biyoloji.ataturkfenlisesi.com/ders_notlari/bitkilerde-stres.html). 10 Nisan 2011.
- Vassilev, A., Yordanov, I. ve Tsonev, T., 1997. Effects of Cd<sup>2+</sup> on The Physiological State and Photosynthetic Activity of Young Barley Plants, Photosynthetica, 34, 293-302.
- Verma, S. ve Dubey, R. S., 2001. Effect of Cadmium on Soluble Sugars and Enzymes of Their Metabolism in Rice, Biologia Plantarum, 44, 1, 117-123.
- Weser, U., Schubotz L. M. ve Younes M., 1979. In: Copper in the Environment, Kısım II: Health effects, J. O. Nriagu, Ed., John Wiley ve Sons. Toronto, 197-240 s.
- Woolhouse, H.W. ve Walker, S., 1981. The Physiological Basis of Copper Toxicity and Tolerance in Higher Plants. In: Copper in Soils and Plants, J. F. Loneragan, A. D. Robson and R. D. Graham., Eds., Academic Press, Inc. New York, 235-262 s.
- Yanga, S-L., Lan, S-S. ve Gong, M., 2009. Hydrogen Peroxide-Induced Proline and Metabolic Pathway of Its Accumulation in Maize Seedlings, J. Plant Physiol., 166, 1694-1699.
- Yau, P.Y., Loh, C.F. ve Azmil, I.A.R., 1991. Copper Toxicity of Clove [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. and Perry] Seedlings, MARDI Research Journal, 19, 49-53.
- Yordanov, I., Velikova, V. ve Tsonev, T., 2000. Plant Responses to Drought, Acclimation, and Stress Tolerance, Photosynthetica, 38, 171-186.
- Yu, C-W., Murphy, T. ve Lin, C-H., 2003. Hydrogen Peroxide Induced Chilling Tolerance in Mung Bean Mediated Through ABA-Independent Glutathione Accumulation, Funct. Plant Biol., 30, 955-963.
- Yu, C-W., Murphy, T., Sung, W-W. ve Lin, C-H., 2002. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Treatment Induces Glutathione Accumulation and Chilling Tolerance in Mung Bean, Funct. Plant Biol., 29, 1081-1087.
- Zhu, B. ve Alva, A.K., 1993. Effect of pH on Growth and Uptake of Copper by Swingle Citrumelo Seedlings, Journal of Plant Nutrition, 16, 1837-1845.
- Zhu, J-K, 2003. Regulation of Ion Homeostasis Under Salt Stress, Current Opinion in Plant Biology, 6, 5, 441-445.

## ÖZGEÇMİŞ

Şule Güzel, 27.11.1985 yılında İstanbul / Göztepe’de doğdu. İlk ve orta öğretimini İstanbul Prof. Dr. Erol GÜNGÖR ilköğretim okulunda tamamladı. Lise hayatını Kocaeli-Kandıra Süper Lisesinde birincilikle bitirdi. 2003 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans öğrenimine başladı. Bölüm birincisi olarak 2007 de mezun oldu. 2009 yılı bahar döneminde Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2009-2010 tarihleri arasında Avusturya – Viyana BodenKultur Üniversitesinde Erasmus öğrencisi olarak bulundu ve bu programı tamamladı. Şuanda K.T.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim dalında yüksek lisans öğrencisi olarak öğrenimine devam etmekte olup, iyi derecede İngilizce bilmektedir.