

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BUĞDAY BİTKİSİNDE (*Triticum aestivum* L.) N-ASETİLSİSTEİN'İN AĞIR METAL
TOKSİSİTESİNE KARŞI İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

Nesrin ÇOLAK

KASIM 2017
TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce

Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / /

Tezin Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :

Trabzon

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun / / gün ve sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
DOKTORA TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan :

Üye :

Üye :

Üye :

Üye :

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Doktora tez danışmanlığımı üstlenerek konu seçimimde ve çalışmalarımın yürütülmesinde her zaman yol gösteren, yanımda olan, destek ve yardımlarını esirgemeyen danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Faik Ahmet AYZAZ'a saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum. Tez çalışmalarımı yürütebilmem için ortam ve olanak sağlayan Bölüm Başkanlarımız Sayın Prof. Dr. Hüseyin İNCEER ve Sayın Prof. Dr. Bilal KUTRUP'a, lisans ve yüksek lisans eğitimime katkıda bulunan ve biyoloji alanında yetişmemi sağlayan tüm KTÜ Biyoloji Bölümü Hocalarıma, bilgi ve görüşlerini, laboratuvar imkanlarını ve manevi desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Sema AYZAZ'a, Sayın Prof. Dr. Hüseyin İNCEER'e ve Sayın Prof. Dr. Ahmet ÇOLAK'a, ayrıca maddi ve manevi desteklerinden dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. Hülya TORUN'a, değerli arkadaşlarım doktora öğrencisi Aynur KURT ve yüksek lisans öğrencisi Belgizar KARAYİĞİT'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Çalışmamda kullandığım buğday tohumlarının temini için Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne teşekkür ederim. Doktora eğitimim boyunca 2211/E Doğrudan Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında bana sağladıkları burs olanaklarından dolayı TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na (TÜBİTAK BİDEB) teşekkürü borç bilirim. "Ekmeklik Buğday Çeşidinde (*Triticum aestivum* L. 'Ceyhan-99') Ağır Metal Stresi ve N-asetilsistein'in Ağır Metal Toksisitesine Karşı Koruyucu Etkisi" başlıklı projeyi destekleyerek doktora tez çalışmalarımın maddi katkı sağlayan Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP)'ne teşekkür ederim. Lisansüstü eğitimim boyunca yaptığım tüm çalışmalara katkıda bulunan, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her an yanımda olan, sevgili annem Hülya ŞAHİN'e, sevgili babam Emin ŞAHİN'e, sevgili eşim Davut ÇOLAK'a, çalışmalarımı yürütürken yanımda olmadığım çok sevgili oğlum Yahya Berk ÇOLAK'a ve sevgili kardeşlerime tüm kalbimle teşekkür ediyorum.

Nesrin ÇOLAK
Trabzon 2017

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Doktora tezi olarak sunduğum “Buğday Bitkisinde (*Triticum aestivum* L.) N-asetilsistein’in Ağır Metal Toksisitesine Karşı İyileştirici Etkisinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Faik Ahmet AYZ’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri ve örnekleri kendim topladığımı, analizleri laboratuvarında 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. 16.11.2017

Nesrin ÇOLAK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	X
SUMMARY	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER DİZİNİ.....	XV
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Stres ve Stres Çeşitleri	4
1.3. Ağır Metal Stresi.....	5
1.3.1. Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Etmenler	6
1.3.2. Bitkilerde Ağır Metal Alınması ve Taşınması	7
1.3.3. Bazı Ağır Metallerin Bitkiler Üzerindeki Etkileri	8
1.3.1.1. Bakır (Cu)'ın Bitkiler Üzerindeki Etkileri.....	8
1.3.3.2. Kadmium (Cd)'un Bitkiler Üzerindeki Etkileri.....	9
1.3.3.3. Cıva (Hg)'nın Bitkiler Üzerindeki Etkileri.....	10
1.3.3.4. Kurşun (Pb)'un Bitkiler Üzerindeki Etkileri.....	10
1.4. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerinde Oluşturduğu İkinci Etki: Oksidatif Stres.....	11
1.4.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS).....	12
1.5. Ağır Metallerle Kirletilmiş Topraklarda Remediasyon (Giderim) Metodları.....	13
1.5.1. Fiziksel Remediasyon	14
1.5.2. Kimyasal Remediasyon	14
1.5.2.1. Kimyasal Yıkama.....	14
1.5.2.2. Kimyasal Bağlama	14
1.5.2.3. Elektrokinetik Remediasyon.....	15

1.5.2.4.	Vitrifiye Teknolojisi.....	15
1.5.3.	Biyolojik Remediasyon.....	15
1.5.3.1.	Fitoremediasyon.....	15
1.5.3.2	Biyolojik Remediasyon.....	16
1.6.	Bitkilerin Ağır Metaller Karşı Korunma Mekanizmaları.....	17
1.6.1.	Bitkilerde Ağır Metal Alınımını Azaltılma Yöntemleri	17
1.6.2.	Bitkilerde Ağır Metallerin Biriktirilmesi	17
1.6.3.	Bitkilerde Antioksidan Savunma Sistemi	19
1.6.3.1.	Enzimatik Antioksidanlar	19
1.6.3.1.1.	Süperoksit Dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) Enzimi.....	19
1.6.3.1.2.	Guaiakol Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzimi.....	19
1.6.3.1.3.	Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) Enzimi.....	20
1.6.3.1.4.	Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzimi.....	20
1.6.3.1.5.	Glutasyon Redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) Enzimi	20
1.6.3.1.6.	Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR; EC 1.6.5.4) Enzimi.....	21
1.6.3.1.7.	Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR; EC 1.8.5.1) Enzimi.....	21
1.6.3.2	Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	21
1.6.3.2.1.	Glutasyon (GSH).....	21
1.6.3.2.2.	Fenolik Bileşikler.....	22
1.6.3.2.3.	Fenolik Asitler	22
1.6.3.2.4.	Flavonoidler	24
1.7.	N-Asetilsistein (NAC)	24
1.7.1.	N-Asetilsistein (NAC)'in Biyokimyasal Özellikleri.....	25
1.7.2.	N-Asetilsisteinin Bitkilerdeki Fizyolojik ve Biyokimyasal Rollerini.....	25
1.8.	Buğday (<i>Triticum L.</i>)	26
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	29
2.1.	Bitki Materyalinin Sağlanması ve Tohumların Çimlendirilmesi.....	29
2.2.	Sürgün Su Potansiyelinin (Ψ_w) Belirlenmesi	29
2.3.	Kök ve Sürgünlerin Mineral İçeriğinin Belirlenmesi	29
2.4.	Kök ve Sürgünlerde Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	31
2.4.1.	Enzim Özütlelerinin Hazırlanması.....	31
2.4.2.	Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	31
2.4.3.	Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	31

2.4.4.	Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	32
2.4.5.	Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	32
2.4.6.	Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesini Belirlenmesi.....	32
2.4.7.	Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	32
2.4.8.	Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	33
2.4.8.1.	Enzim Özütünün Hazırlanması	33
2.4.8.2.	DHAR Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	33
2.5.	Kök ve Sürgünlerde Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	33
2.6.	Kök ve Sürgünlerde Protein Miktarının Belirlenmesi	34
2.7.	Kök ve Sürgünlerin Toplam Fenolik Madde (TFM) İçeriğinin Belirlenmesi	34
2.7.1.	Fenolik Madde Özütün Hazırlanması	34
2.7.2.	Toplam Fenolik Maddenin (TFM) Belirlenmesi	34
2.8.	Kök ve Sürgünlerin Fenolik Asit (FA) İçeriğinin Belirlenmesi	35
2.9.	Kök ve Sürgünlerin Antioksidan Kapasite (AK) Değerlerinin Belirlenmesi	35
2.9.1.	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi	35
2.9.2.	FRAP (Ferrik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite) Analizi	35
2.9.3.	CUPRAC (Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite) Analizi	36
2.10.	Kök ve Sürgünlerin Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) İçeriğinin Belirlenmesi.....	36
2.11.	Kök ve Sürgünlerin Lipid Peroksidasyonunun (LPO) Belirlenmesi	36
2.12.	Kök ve Sürgünlerin Glutasyon (GSH) İçeriğinin Belirlenmesi	37
2.13.	Kök ve Sürgünlerin Prolin (pro) İçeriğinin Belirlenmesi	37
2.14.	Kök ve Sürgünlerin Sistein (cys) İçeriğinin Belirlenmesi	37
2.15.	Kök ve Sürgünlerin Poliamin İçeriğinin Belirlenmesi.....	38
2.16.	Kök ve Sürgünlerin Çözünebilir Şeker İçeriğinin Belirlenmesi	38
2.17.	Kök ve Sürgünlerin Organik Asit İçeriğinin Belirlenmesi	38
2.18.	İstatistiksel Analizler	39
3.	BULGULAR.....	40

3.1.	Ağır Metal ve NAC Uygulaması Yapılan Buğday Bitkisinin Kök ve Sürgünlerine Ait Büyüme Parametreleri.....	40
3.2.	Ağır Metal ve NAC Uygulaması Yapılan Buğday Bitkisinin Kök ve Sürgünlerinin Ağır Metal İçeriği	42
3.3.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Sürgünlerinde Su Potansiyeline (Ψ_w) Olan Etkisi	44
3.4.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	44
3.4.1.	Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Değişimi.....	44
3.4.2.	Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi Değişimi.....	46
3.4.3.	Guaiakol Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesi Değişimi.....	47
3.4.4.	Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim Aktivitesi Değişimi.....	47
3.4.5.	Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesi Değişimi	48
3.4.6.	Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR) Enzim Aktivitesi Değişimi.....	49
3.4.7.	Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR) Enzim Aktivitesi Değişimi	50
3.5.	Ağır Metal ve NAC Uygulanan Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinin Toplam Fenolik Madde (TFM) İçeriği ve Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) Aktivitesi.....	51
3.6.	Ağır Metal ve NAC Uygulanan Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerine Ait Antioksidan Kapasite (AK) Değerleri ve Hidrojen Peroksit (H_2O_2) İçeriği	52
3.7.	Ağır Metal ve NAC Uygulaması Yapılan Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerine Ait Fenolik Asit (FA) İçeriği.....	55
3.8.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Glutasyon (GSH) İçeriğine Olan Etkisi.....	62
3.9.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Sistein (cys) İçeriğine Olan Etkisi.....	63
3.10.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Prolin (pro) İçeriğine Olan Etkisi.....	64
3.11.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde TBARS (Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri) Eşdeğerine Olan Etkisi	64
3.12.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Poliamin İçeriğine Olan Etkisi	65

3.13.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Şeker İçeriğine Olan Etkisi	68
3.14.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Organik Asit İçeriğine Olan Etkisi.....	69
3.15.	Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Morfolojik Parametre Sonuçları ile Farklı Antioksidan Değerleri Arasındaki İlişki.....	71
4.	TARTIŞMA	75
5.	SONUÇLAR.....	89
6.	ÖNERİLER.....	91
7.	KAYNAKLAR	93
ZGEMIŐ		

Doktora Tezi

ÖZET

BUĞDAY BİTKİSİNDE (*Triticum aestivum* L.) N-ASETİLSİSTEİN'İN AĞIR METAL
TOKSİSİTESİNE KARŞI İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nesrin ÇOLAK

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Faik Ahmet AYZAZ
2017, 106 sayfa

Bu çalışmada ağır metal stresi (Cu, Cd, Hg ve Pb) koşullarında buğday (*Triticum aestivum* L. 'Ceyhan-99') fidelerinin kök ve sürgünlerinde oluşan stres zararının, N-asetilsistein (NAC) uygulamasıyla iyileştirilmesi, fizyolojik (kök ve sürgün boyu, kuru ve taze ağırlık, sürgün su potansiyeli, vb.) ve biyokimyasal düzeyde araştırılmıştır. Bu amaçla kök ve sürgünlerin enzimatik olan (POX, CAT, GR, SOD, APX, MDHAR, DHAR) ve olmayan (TFM, fenolik asit, GSH) antioksidan savunma sistemi bileşenleri, ozmolit içeriği (prolin, sistein, şeker, organik asit ve ağır metal içeriği) ve poliamin düzeyleri belirlenmiştir. NAC buğday fidelerinde ağır metallerin büyüme parametreleri ve su potansiyeli üzerinde oluşturduğu azalmayı iyileştirdiği belirlenmiştir. NAC'ın antioksidan enzimler üzerinde oluşturduğu etkiler enzim ve ağır metal çeşidine bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. NAC uygulaması köke ait ağır metal uygulaması ile artan PAL aktivitesi ve TFM içeriğinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Ağır metal ve NAC uygulamaları ile fenolik asit poliamin, şeker ve organik asit içeriğinde meydana gelen değişimler ağır metal tipine bağlı olarak değişiklik gösterdiği kaydedilmiştir. Sonuç olarak NAC uygulaması ile buğday fidelerinin özellikle Cd, Hg ve Pb ağır metallerine karşı yüksek tolerans kazandığı ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Triticum aestivum*, Buğday, N-Asetilsistein, Ağır metal stresi, Antioksidan

PhD. Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION of the AMELIORATIVE EFFECT of N-ACETYLCYSTEINE on
HEAVY METAL TOXICITY in WHEAT PLANT (*Triticum aestivum* L.)

Nesrin ÇOLAK

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

Supervisor: Prof. Dr. Faik Ahmet AYZAZ
2017, 106 pages

This study investigated improvement in damage in the shoots and roots of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L. 'Ceyhan-99') exposed to heavy metal stress (Cu, Cd, Hg and Pb) with N-acetylcysteine (NAC) treatment at the physiological (root and shoot length, fresh and dry weight, shoot water potential, etc.) and biochemical levels. Enzymatic (POX, CAT, GR, SOD, APX, MDHAR, DHAR) and non-enzymatic (TPC, phenolic acid, and GSH) antioxidant defense system components, osmolite content (proline, cysteine, sugar, organic acid and heavy metal content) and polyamine levels of the root and shoots of the seedlings were determined for this purpose. N-acetylcysteine alleviated heavy metal-induced decreases in growth parameters and shoot water potential in the wheat seedling. The effects of NAC on the activity of the antioxidant enzymes varied depending on the enzyme and heavy metal species. N-acetylcysteine application resulted in decreased TPC content and PAL activity in the root that increased with heavy metal application. Changes in phenolic acid forms, polyamines, sugar and organic acid contents with heavy metal and NAC application varied depending on heavy metal types. In conclusion, wheat seedlings exhibited high tolerance with NAC application, especially against Cd, Hg and Pb heavy metals.

Key Words: *Triticum aestivum*, Wheat, N-Acetylcysteine, Heavy metal stress, Antioxidant

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Başlıca çevresel stres çeşitleri	5
Şekil 1.2. N-asetil-L-sisteinin kimyasal yapısı	25
Şekil 3.1. Ceyhan-99 buğday çeşidinin ağır metal ve NAC uygulama gruplarına ait morfolojik görünüm.....	42
Şekil 3.2. Kontrol, ağır metal ve NAC uygulama koşullarında büyütülen buğday fidelerinin sürgünlerinde su potansiyeli değişimi.....	44
Şekil 3.3. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde SOD enzim aktivitesine olan etkisi	45
Şekil 3.4. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde CAT enzim aktivitesine olan etkisi.....	46
Şekil 3.5. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde POX enzim aktivitesine olan etkisi.	47
Şekil 3.6. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde APX enzim aktivitesine olan etkisi	48
Şekil 3.7. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde GR enzim aktivitesine olan etkisi	49
Şekil 3.8. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde MDHAR enzim aktivitesine olan etkisi.....	50
Şekil 3.9. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde DHAR enzim aktivitesine olan etkisi	51
Şekil 3.10. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde GSH içeriğine olan etkisi.....	62
Şekil 3.11. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde cys içeriğine olan etkisi	63
Şekil 3.12. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde pro içeriğine olan etkisi	65
Şekil 3.13. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde TBARS içeriğine olan etkisi.....	66

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.1. Doğal su, sediment ve kirlenmemiş topraklarda bulunan bazı ağır metallerin üst sınır değerleri.	6
Tablo 1.2. Oksidatif strese neden olan bazı reaktif moleköl türleri.	13
Tablo 1.3. Bazı ağır metalleri yüksek oranda biriktiren taksonlar.	16
Tablo 1.4. Fenolik asitler: hidroksibenzoik ve hidroksisünamik asitler.	23
Tablo 2.1. Kontrol ve uygulama gruplarına ait uygulama ve zamanlama protokolü.	30
Tablo 3.1. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgün uzunluğuna, taze ağırlık ve kuru ağırlığına olan etkisi.	41
Tablo 3.2. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde ağır metal içeriğine olan etkisi.	43
Tablo 3.3. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde TFM (mg GA 100 g ⁻¹) içeriğine, AK (DPPH, FRAP ve CUPRAC, µmol Trolox g ⁻¹) değerlerine, PAL (U mg ⁻¹ protein) aktivitesine ve H ₂ O ₂ (nmol 100 g ⁻¹) içeriğine olan etkisi.	54
Tablo 3.4. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde serbest formda FA içeriğine olan etkisi.	56
Tablo 3.5. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde ester formunda FA içeriğine olan etkisi.	58
Tablo 3.6. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde glikozit formunda FA içeriğine olan etkisi.	60
Tablo 3.7. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde ester-bağlı formunda FA içeriğine olan etkisi.	61
Tablo 3.8. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde poliamin içeriğine (nmol g ⁻¹ KA) olan etkisi.	67
Tablo 3.9. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde şeker içeriğine (mg 100 g ⁻¹ TA) olan etkisi.	68
Tablo 3.10. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde organik asit içeriğine (mg 100 g ⁻¹ TA) olan etkisi.	71
Tablo 3.11. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin köklerinde uzunluk (UZ), kuru ağırlık (KA), taze ağırlık (TA), POX, CAT, SOD, APX, GR, MDHAR ve DHAR aktivitelerinin, toplam fenolik madde (TFM) glutatyon	

(GSH), sistein (cys), prolin (pro), TBARS ve H₂O₂ içeriğinin Pearson korelasyonları.73

Tablo 3.12. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin sürgünlerinde uzunluk (UZ), kuru ağırlık (KA), taze ağırlık (TA), POX, CAT, SOD, APX, GR, MDHAR ve DHAR aktivitelerinin, toplam fenolik madde (TFM), glutatyon (GSH), sistein (cys), prolin (pro), TBARS ve H₂O₂ içeriğinin Pearson korelasyonları.....73



SEMBOLLER DİZİNİ

AK	: Antioksidan Kapasite
AlCl ₃	: Alüminyum Klorür
ANOVA	: Varyans Analizi
AO	: Askorbat Oksidaz
APX	: Askorbat Peroksidaz
As	: Arsenik
AsA	: Askorbik Asit
B	: Bor
BSA	: Sığır Serum Albumin
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
Co	: Kobalt
Cr	: Krom
Cu	: Bakır
CUPRAC	: Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite
Cys	: Sistein
DHA	: Dehidroaskorbat
DHAR	: Dehidroaskorbat Oksidaz
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5'-Ditiobis(2-nitrobenzoik asit)
DTT	: 1,4-Ditiothreitol
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
FA	: Fenolik Asit
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FC	: Folin–Ciocalteu
Fe	: Demir
FeA	: Ferulik Asit
FRAP	: The Ferric Reducing Antioxidant Power
GA	: Gentsik Asit

GR	: Glutasyon Redüktaz
GSSG	: Yükseltgenmiş Glutasyon
GSH	: İndirgenmiş Glutasyon
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
Hg	: Civa
IAA	: Indol Asetik Asit
ICP – MS	: İndüktif Eşleştirilmiş Plazma - Kütle Spektrometresi
KA	: Kuru Ağırlık
KaA	: Kafeik Asit
MDA	: Malondialdehit
MDHAR	: Monodehidroaskorbat Redüktaz
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
µl	: Mikrolitre
mM	: Milimolar
Mn	: Mangan
Mo	: Molibden
NAC	: N-Asetilsistein
NaCl	: Sodyum Klorür
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
Ni	: Nikel
P	: Fosfor
PAL	: Fenilalanin Amonyum Liyaz
Pb	: Kurşun
PC	: Fitoselatin
<i>p</i> -HBA	: Hidroksibenzoik Asit
PKA	: Protokateşik Asit
<i>p</i> -KuA	: Kumarik Asit
POX	: Peroksidaz
Pro	: Prolin
PVP	: Polivinilpirolidon
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri

SaA	: Salisilik Asit
Se	: Selenyum
SiA	: Sinapik Asit
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
Sr	: Stronsiyum
SrA	: Siringik Asit
TA	: Taze Ağırlık
TBA	: Tiobarbütirik Asit
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri
TCA	: Trikarboksilik Asit Döngüsü
TFM	: Toplam Fenolik Madde
TPTZ	: 2,4,6-tripiryidyle-s-triazine
UV	: Ultraviyole
VaA	: Vanilik Asit
Vis	: Görünür ışık
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
Zn	: Çinko

1. GENEL BİLGİLER

1.1 Giriş

Dünya da birçok ülkede artan refah ve tarımsal zenginliğe rağmen, 800 milyondan daha fazla insan hala açlık ve yetersiz beslenme ile mücadele etmektedir. Gıda güvenliği, aktif ve sağlıklı bir hayat sürebilmeleri için bütün insanların tüm zamanlarda fiziksel, sosyal ve ekonomik olarak yeterli gıdaya ulaşabilme durumudur. Gıdanın güvenli ve günlük ihtiyacını karşılayacak kadar besin değeri yüksek, kültürel olarak uygun besinler olmalıdır. Bu tanıma göre besin güvenliği ile alakalı dört önemli durum mevcuttur. Bunlar; (1) Yeterli besine ulaşabilme (2) Geçici ya da sürekli besine ulaşabilme (3) Bireysel olarak beslenmede alınabilecek uygun gıdalar için yeterli kaynaklara erişebilme ve (4) Besin değeri açısından güvenli ve kaliteli gıda'dır (Schmidhuber ve Tubiello 2007).

Tarımsal bitki ürünlerinin üretimi ve tüketimi çeşitli coğrafik dağılımlara bağlıdır. İklim ve bitki örtüsü ile birlikte, ülke ekonomisi tarımsal üretim düzeyini de etkiler. Bazı ürünler çok sayıdaki ülkede yoğunlaşırken, bazı ürünler birçok ülkede yaygın olarak üretilmektedir. Tarım ürünleri yalnızca gıda eldesi açısından değil, aynı zamanda ekonomik açıdan da önemlidir. Tarım ülkelerinden ziyade gıda ticaretinin olduğu yerlerde, gıda fiyatı önemli derecede düşüktür. Düşük fiyat gıdanın, ticaretin olduğu bölgelerde herkes tarafından yeterli miktarda ulaşabilir durumda olmasını sağlar. Yoksulluk ve düşük gıda üretimi, açlığa neden olan iki önemli faktördür ve yoksulluk ile yetersiz beslenme sıkı bir ilişki içindedir. Bir bütün olarak dünya tüm popülasyona yetecek kadar gıda üretebilmektedir. Ancak yeterli alım gücü olmayan insanlar yerel pazar ya da marketlerden günlük enerji ihtiyaçlarını karşılayacak gıdayı temin edemez, açlık ve açlığın neden olduğu problemler ile karşılaşır. Örneğin Hong Kong ve Singapur tarımsal olarak kendine yeter değıllerdir, ancak popülasyon için gıda güvenliği vardır, Hindistan tarımsal açıdan kendine yeter bir ülkedir ancak popülasyonun çoğu için gıda güvenliği yoktur (Schmidhuber ve Tubiello 2007).

Gıda ve tarım örgütü (FAO)'ne göre, 2002-2004 yılları arasında yaklaşık olarak 864 milyon insan (dünya nüfusunun %14'ü) yetersiz beslenmektedir ve zamanla açlık nedeniyle hastalık ve ölüm oranları artmaktadır (FAO, 2015). Birkaç on yıl içerisinde dünya nüfusunun 9 milyarı geçmesi beklenmekte ve nüfusun gıda ihtiyacını karşılamak

için var olan gıdanın %70-100'ü kadar fazla gıdaya ihtiyaç duyulacaktır. Bu nedenle var olan gıda üretim politikalarında ciddi bir değişim kaçınılmazdır (Godfray vd., 2010).

"Güvenli" gıdaların sürekli olarak bulunabilirliğini ve herkese erişimini içeren gıda güvenliği, sadece gelişmekte olan ülkeler için değil, gelişmiş ülkeler için de büyük bir sorun teşkil eden bir koşuldur. Küresel gıda üretimini artırmak için, günümüzde yeni tarımsal uygulamalar (genellikle kısa vadeli ve uzun vadede olumsuz sonuçlar elde edilen kısa süreli çözümler) tasarlanmaktadır. Günümüzde daha fazla tarım ürünü elde edebilmek için, tarım alanlarında uygulanan geçici ve tekrarlı değişimler, uzun süreli olmamakla birlikte gıda güvenliği açısından da doğru değildir. Kentsel, endüstriyel veya kirli arazilerin son yıllarda artması, gıda ürünlerine toksin eklenmesine yol açmaktadır. Yağış rejimindeki değişim ve su seviyesindeki düşüş nedeniyle artan sulama talepleri ve yetersiz su temini, gıda güvenliği açısından da yine ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Sulama taleplerini karşılamak için bazı tarım alanları, endüstriyel atık suları gibi kirli sular kullanılarak sulanmaktadır. Ancak bu uygulama ürün çıktısını artırmasına karşın, endüstriyel atık suların veya benzeri diğer uygun olmayan kaynakların kullanımı, genellikle "güvenli" gıda olarak kabul edilemeyen bir ürün üretilmesine neden olmaktadır. Dünya çapında yürütülen çeşitli araştırmalar, bu yöntemler ile yetiştirilen bitkilerin, günlük alımının kabul edilebilir miktardan çok daha yüksek miktarda ağır metal içerdiği ortaya konulmuştur (Sharma vd., 2016; Wuana ve Okieimen, 2011).

Tarım arazileri ve topraklar, hızla genişleyen endüstriyel alanlardan, maden atıkları, yüksek metal atıkları, kurşunlu benzin, boyalar, hayvan gübreleri, kanalizasyon atığı, zirai ilaçlar, endüstriyel atık suların arazi sulamasında kullanılması gibi durumlardan kaynaklanan ağır metallerin ve metaloidlerin birikimi yoluyla kirlenebilir (Wuana ve Okieimen, 2011). Ağır metaller tehlikeli inorganik kimyasallardan oluşan bir gruptur ve kirli bölgelerde en yaygın olanları kurşun (Pb), krom (Cr), arsenik (As), çinko (Zn), kadmiyum (Cd), bakır (Cu), cıva (Hg) ve nikel (Ni)'dir. Çoğu metal, mikrobiyal veya kimyasal bozunmaya uğramaz ve ağır metal miktarı azalmaz. Bu nedenle ağır metaller ile kirlenilen topraklar çok uzun süre kirli (kontamine) olarak kalır. Ayrıca toprakta bulunan ağır metaller, organik maddelerin bozunma sürecini de etkiler (Prasad, 2004).

Toprağın ağır metaller ile kirlenmesi ekosisteme zarar vermekle birlikte insanlar için de tehlikeli olmaktadır. Bu tehlikelere; I- doğrudan alma ya da kontamine topraklar ile temas kurma II- besin zinciri (toprak-bitki-insan veya toprak-bitki-hayvan-insan), III- kirlenmiş yeraltı sularının içilmesi, IV- fitotoksisite nedeniyle gıda güvenliğinin azalması,

V- güvenli gıdaların yetiştirildiği tarımsal alanların azalması gibi etmenler neden olmaktadır (Wuana ve Okieimen, 2011).

Ağır metaller ile kirletilmiş toprakların yeterli düzeyde iyileştirilmesi ve korunması, ağır metallerin tanımlanması ve topraktan uzaklaştırılmasına bağlıdır. Kontamine topraklardaki toksik ağır metallerin kimyasal yapısı, kaynağı ve potansiyel riskleri hakkındaki bilgiler, ağır metallerin topraktan uzaklaştırılma ya da risksiz hale getirilmeleri için gereklidir. İmmobilizasyon, toprağı yıkama ve fitoremediasyon, toprağın ağır metallerden temizlenmesi için kullanılan en iyi ve gelişmiş yöntemlerdir. Ancak bu yöntemler yalnızca gelişmiş ülkeler tarafından kullanılabilir. Gelişmekte olan ülkelerde kentleşme ve endüstriyelleşme süreci devam etmekte ve bu süreç tarımsal alanlarda kontaminasyona, dolayısıyla tarım veriminde ve güvenliğinde azalmaya neden olmaktadır. Bu nedenle gelişmekte olan ülkelerde de etkin bir tarım politikası geliştirilmeli ve kontaminasyon düzeyini azaltma yoluna gidilmelidir (Zhao ve Kaluarachchi, 2002).

Bazı bitkiler ağır metallerin alımını azaltarak ya da alınan ağır metali bağlayıp özel alanlarda saklayarak kendini ağır metal stresinden koruyabilir ve ağır metaller ile kirletilmiş topraklara uyum sağlayabilir. Ancak bu durum sınırlı sayıda bitki türü için geçerli bir durumdur. Bitkiler genellikle ağır metalleri topraktan kökleri ile almakta ve dokularında biriktirmektedir. Dokularda biriken metaller, reaktif oksijen türleri (ROS)'nin miktarının artmasına ve sonuç olarak oksidatif strese neden olurlar. Ayrıca birçok ağır metal özellikle proteinlerin sülfidril (-SH) gruplarına bağlanarak da yapılarının bozulmasına neden olur. Yüksek miktardaki hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) gibi ROS'lar lipid peroksidasyonu, enzim inhibisyonu, kloroplast yapısında bozulma gibi oksidatif hasara ve hücre yapısında değişimlere neden olur. Bu nedenle hücre oksidatif hasardan korunmak için çeşitli metabolitlerden ve enzimatik antioksidanlardan oluşan bir savunma sistemi geliştirir (Shaw vd., 2004). Dolayısıyla ağır metal stresinden korunması istenen tarımsal bitkilere dışarıdan antioksidan ve şelatlayıcı ajan uygulaması çok doğru bir yaklaşımdır ve bu doğrultuda uzun yıllardır çok sayıda çalışma yapılmış ve yapılmaya da devam etmektedir. Yapılan çalışmalar çeşitli streslere maruz kalan tarım ürünlerinde verim kaybını önleyebilmek açısından önemlidir. Tüm dünya ülkeleri büyük bir hızla artan nüfus, küresel ısınma ve tarım arazilerinin giderek azalmasından dolayı yakın tarihte küresel açlık ile karşı karşıya kalacak olup ve sürdürülebilir besin temini ve güvenilirliği için bu çalışmaların yapılması bu nedenle oldukça önem arz etmektedir. Bu amaçla tarım ürünlerine uygulanabilecek ve ürün kaybını azaltacak, verimi artıracak, tarım ürünlerini

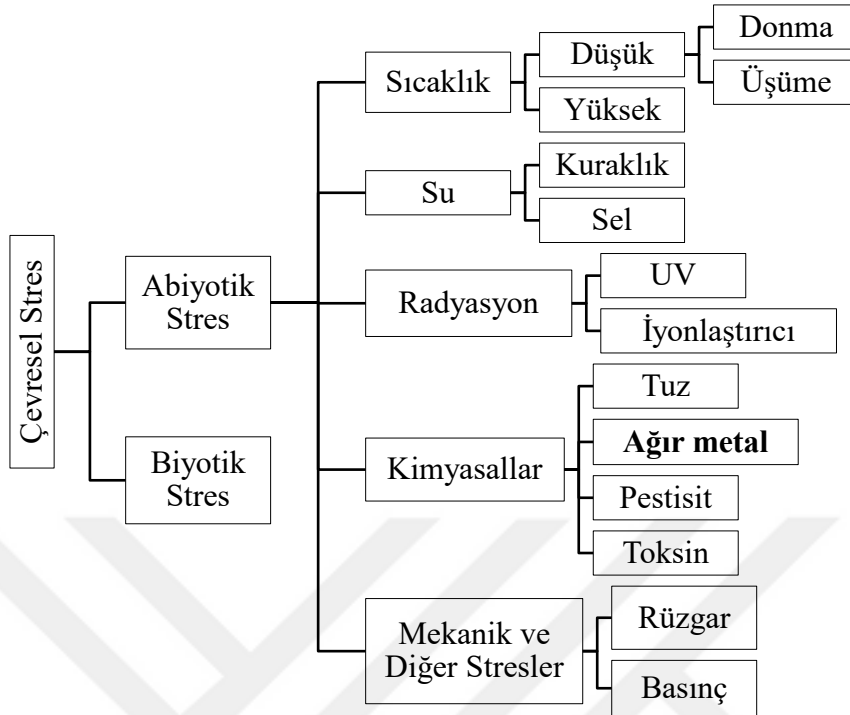
insan sağlığı açısından daha güvenilir hale getirecek N-asetilsistein (NAC) gibi antioksidan ve Şelatlayıcı ajanların literatüre kazandırılması önemlidir.

N-asetilsistein, sistein amino asitinden trevlenir ve mükemmel bir sülfidril grubu kaynağıdır. Antioksidan, serbest radikal temizleyici ve Şelatlayıcı ajandır ve uzun yıllardır metal zehirlenmeleri, bronşit gibi hastalıklarda farmasötik ilaç ve besin desteği olarak insanlar tarafından kullanılmaktadır. NAC insanlarda Pb ve Hg gibi ağır metal zehirlenmelerini etkisizleŐtirmek için de kullanılmaktadır (Samuni vd., 2013; Deng vd., 2010; Sun vd., 2014).

Bu alıŐma, yerli buğday çeşidi olan *Triticum aestivum* L. 'Ceyhan-99'a dışarıdan (ekzojenik) uygulanan NAC'ın ağır metal (Cu, Cd, Hg ve Pb) stresi ve antioksidan sistem üzerine olan etkisinin fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde araştırılması amaçlanmaktadır. Bu amaçla ağır metallerin (Cu, Cd, Hg, Pb) ekmeklik buğday fidelerinde (kök ve sürgün) oluŐturacađı ağır metal stresinin olumsuz fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin dışarıdan NAC uygulaması ile iyileştirilmesi, çeşitli büyüme parametreleri ve enzimatik olan (SOD, POD, APX, MDHAR gibi) ve enzimatik olmayan (toplam fenolik madde ve flavonoid gibi) antioksidan sistem bileşenleri düzeyinde incelenmiŐtir.

1.2. Stres ve Stres eŐitleri

Stres Lichtenthaler (1996)'e göre “bir bitkinin metabolizmasını, gelişimini veya büyümesini etkileyen veya engelleyen herhangi bir olumsuz durum veya madde” olarak tanımlanmıştır. Stres koşullarında bitkinin hayatta kalabilme ve hayatını devam ettirebilme kapasitesi de strese dayanıklılığı ifade etmektedir. Stres etmenlerinin etkisi, bu etmenlerin miktar ve süresine göre değişiklik gösterir. Kısa süreli ve Őiddeti orta derecede olan stres koşullarında, bitkide oluşan hasar geçici olabilir. Stres biyotik ve abiyotik stres olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır (Şekil 1.1). Abiyotik stres ise sıcaklık, su, radyasyon, kimyasal ve mekanik stres olmak üzere beŐ gruba ayrılmaktadır.



Şekil 1.1. Başlıca çevresel stres çeşitleri (Gill ve Tuteja, 2010).

1.3. Ağır Metal Stresi

Periyodik tabloda bulunan 110 element, metaller ve ametaller olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Metaller elektron alma-verme istekleri ile ametallerden ayrılırlar (Nagajyoti vd., 2010). Genellikle düşük konsantrasyonlarda bile toksik etki gösteren, yoğunluğu cm^3 başına 5 gramdan fazla olan çinko [Zn ($7,1 \text{ g/cm}^3$)], krom [Cr ($7,2 \text{ g/cm}^3$)], kadmiyum [Cd ($8,6 \text{ g/cm}^3$)], nikel [Ni ($8,7 \text{ g/cm}^3$)], bakır [Cu ($8,9 \text{ g/cm}^3$)], kurşun [Pb ($11,4 \text{ g/cm}^3$)], civa [Hg ($13,5 \text{ g/cm}^3$)] gibi elementler ağır metal olarak isimlendirilir (Ayhan vd., 2006).

Bazı ağır metal sınıfına giren metaller (demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn) gibi) insanlar ve hayvanlar için belirli düzeyde alınması zorunludur (Wintz vd., 2002). Ancak demir (Fe), mangan (Mn), molibden (Mo), bakır (Cu), kobalt (Co) gibi elementlerin ortamdaki bitkinin ihtiyacından daha fazla alınması durumunda, bitkilerde toksik etkiler görülür. Bu elementler çevrede de az miktarda bulunurlar ve bulunma miktarlarına göre iz (eser) element (10 mg kg^{-1} veya mg L^{-1}) veya ultra iz (eser) element ($1 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ veya $\text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) olarak adlandırılırlar. Bazı ağır metaller (Cu, Fe, Mn, Mo ve Zn) bitkilerde ve hayvanlarda fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda rol alırlar (Nagajyoti vd., 2010).

Doğal olarak çevrede bulunan ağır metallerin en önemli kaynağı jeolojik ana kayalardır (Tablo 1). Ağır metallerin içeriği ve miktarı kayaç tipine ve çevresel koşullara bağlı olarak değişmektedir. Olivin, ojid ve hornblend gibi volkanik kayaçlar Mn, Co, Ni, Cu ve Zn gibi ağır metaller için önemli bir doğal kaynaktır. Balçık ya da kilden oluşan sedimentler kayaçlar da ağır metalleri yüksek oranda barındıran kayaç türleridir (Nagajyoti vd., 2010). Tablo 1.1'de doğal su, toprak ve sedimentlerde bulunan bazı ağır metallerin üst sınır değerleri verilmiştir. Tabloya göre belirlenen alanlarda ağır metaller arasında Hg, en düşük düzeyde bulunan ağır metaldir.

Tablo 1.1. Doğal su, sediment ve kirlenmemiş topraklarda bulunan bazı ağır metallerin üst sınır değerleri (Prasad, 2004)

Metal	Doğal su, $\mu\text{g L}^{-1}$		Toprak, $\mu\text{g g}^{-1}$		Sediment, $\mu\text{g g}^{-1}$	
	Deniz suyu	Tatlı su	Kumlu toprak	Killi toprak	Göl	Deniz
Kadmiyum (Cd)	0,01-0,07	0,07	1	1	0,14-2,5	0,02-0,43
Krom (Cr)	0,08-0,15	0,5	15	30	7-77	11-99
Kobalt (Co)	0,04	0,05	5	15		0,1-74
Bakır (Cu)	0,04-0,1	1,8	15	25	16-44	4-250
Civa (Hg)	0,01	0,01	0,15	0,15	0,004-0,2	0,001-0,4
Manganez (Mn)	0,2	<5	500	800		390-6700
Molibden (Mo)	10	1	5	5		0,2-27
Nikel (Ni)	0,2-0,7	0,3	1	1	34-55	2-225
Kurşun (Pb)	0,001-0,015	0,2	50	50	14-40	7-80
Çinko (Zn)	0,01-0,62	10	100	150	7-124	16-165

1.3.1. Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Etmenler

Çevre kirliliğine neden olan ağır metallerin farklı kaynakları vardır; (I) doğal kaynaklar, (II) tarımsal kaynaklar, (III) endüstriyel kaynaklar, (IV) evsel atıklar, (V) atmosferik kaynaklar ve (VI) diğer kaynaklar. İnorganik ve organik gübreler, kireç serpmeye, yağım, sulama suyu ve pestisitler tarım alanlarında ağır metal kirliliğine neden olan en

önemli etmenlerdir. Tarım alanlarında miktarı düşük olan ağır metaller, sayılan etmenlerden herhangi biri ya da birilerinin tekrarlı kullanımları durumunda, tarım yapılan topraklarda birikerek toksik konsantrasyona ulaşabilmektedir (Prasad, 2004). Ağır metallerin endüstriyel kaynakları çoğunlukla madencilikten ve çıkarılan madenin rafine işlemlerinden kaynaklanmaktadır. Ağır metal çeşitleri, çıkarılan maden çeşidine göre değişiklik gösterir. Örneğin altın madenleri Hg, kömür madenleri As, Cd, Fe gibi ağır metallerin toksik düzeyde toprağa karışmasına neden olur (Lacerda, 1997). Ayrıca metallerin, eritme ya da kalıba dökme gibi işlemler sırasında yüksek sıcaklığa maruz kalmaları buhar ya da parçacık halinde yayılmalarına neden olur. Buhar formundaki Cd, Pb, Cu gibi metaller su ile aerosol formunda birleşir. Oluşan bu yapı ya rüzgarın etkisi ile kuru olarak ya da yağmurlarla birlikte su ve toprak yüzeyine dağılır. Kömürün yakıt olarak kullanılması, petrol ürünleri, nükleer enerji santralleri ve yüksek gerilim hatları da yine önemli ağır metal kaynaklarıdır. Evsel atık sular deniz, nehir ve göllerin ağır metal kirliliğine maruz kalmasında en önemli faktördür. Bütün evlerde suyun kalitesini önemli derecede etkileyen deterjanlar kullanılır ve özellikle enzim içeren deterjanlar Fe, Mn, Cr, Co, Zn, stronsiyum (Sr) ve bor (B) kaynağıdır (Prasad, 2004).

1.3.2. Bitkilerde Ağır Metal Alınması ve Taşınması

Bitkiler toprakta bulunan ağır metalleri kökleri ile alırken, havada bulunan metalleri ise stomaları aracılığı ile aldıkları yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Marschner, 1995). Toprakta metal alabilme kapasitesi bitki türüne göre değişiklik gösterir. Metaller toprakta üç farklı şekilde bulunur; (I) toprak çözeltisinde iyon halinde, (II) organik maddelere bağlı olarak (III) kolloidlere bağlı olarak. Bitkiler bu metal formlarından ancak iyon halinde olan metalleri alabilir. Sıcaklık, mikroorganizmalar, pH, diğer metallerin varlığı ve organik madde miktarı gibi koşulların değişmesi, bağlı olarak bulunan metallerin iyon haline dönüşmesine neden olur, böylece alınabilir metal konsantrasyonu da değişmiş olur. Bazı bitkiler toprağa malat, sitrat, musilaj salarak ya da toprak pH'sını değiştirerek aldıkları metal miktarını değiştirebilirler (Ayhan vd., 2006). Düşük pH, metal alınımını artırır çünkü hidrojen iyonları (H^+) kolloidler üzerindeki negatif yükler için yüksek afiniteye sahiptir ve metal iyonları ile bu alanlar için yarışır. Böylece metaller serbest bırakılırlar, sonuç olarak toprak çözeltisindeki metal konsantrasyonu artmış olur.

Canlıların taksonomik gruplarına göre ağır metallerin toksik etkileri değişmektedir. Çiçekli bitkilerde genellikle ağır metaller içerisinde Hg en yüksek toksik etkiye sahiptir ve sıralama Hg>Pb>Cu>Cd>Cr>Ni>Zn şeklindedir. Ayrıca aynı bitkinin kök ve sürgünleri de ağır metallerin toksik etkilerine karşı farklı cevaplar vermektedir (Shaw vd., 2004).

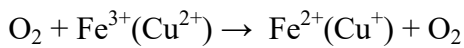
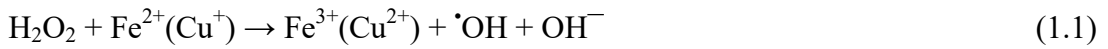
Köklerden alınan ağır metaller çoğunlukla apoplastik alanlar ile ksileme kadar taşınırlar. Ancak kökte ksileme girebilmeleri için endodermi ve süberinden oluşan kaspari şeridini aşmak zorundadırlar. Çoğu metal kaspari şeridinin tam olarak gelişmediği genç kısımlardan alınır (Marschner, 1995). Metallerin ksilemde taşınma formu ise bitki türüne ve metal çeşidine göre farklılık göstermektedir. Örneğin Cd iyonik formda taşınır, Ni ise proteinlere bağlanarak taşınmaktadır.

1.3.3. Bazı Ağır Metallerin Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Ağır metallerin canlılarda oluşturdukları zararlı etkiler fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre üç grupta toplanabilir;

- 1- Otooksidasyon ve Fenton reaksiyonu (1) ile ROS oluşumuna neden olanlar
- 2- Protein ve nükleik asit gibi biyomoleküllerin temel fonksiyonel gruplarını bloke edenler. Enzimlerde özellikle aktif bölgede yer alan –SH gruplarına bağlanarak enzimleri inhibe ederler.
- 3- Temel elementlerin yerine geçerek bitkilerde ağır metal hasarına yol açanlar (Michalak, 2006).

Fenton reaksiyonu



1.3.3.1. Bakır (Cu)'ın Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Fizyolojik koşullar altında bakır, Cu^{2+} ve Cu^+ formunda bulunur. Fonksiyonel proteinlerin yapılarında bulunur, fotosentetik elektron taşınımında, mitokondride elektron transport zincirinde, oksidatif stres cevabında, hücre çeperi metabolizmasında ve hormon sinyalinde görev alır. Ayrıca Cu/Zn süperoksit dismutaz (SOD), sitokrom c oksidaz, amino oksidaz, lakkaz, plastosiyanin ve polifenol oksidaz gibi enzimlerin yapılarında kofaktör

olarak bulunur. Bitkilerdeki tüm bu rolleri göz önüne alındığında Cu, bitkiler için esansiyel (zorunlu) mikronutrient olarak kabul edilir, yani bitkilerin normal büyüme ve gelişmeleri için alınması mutlak gereklidir (Yruela, 2005).

Bakırın bitki tarafından alınması ve taşınması hakkında çok az şey bilinmektedir. Bitkilerde birkaç metal taşıyıcı tanımlanmıştır. Bunlar; (I) P-tipi ATPaz Cu-taşıyıcıları, (II) COPT bakır taşıyıcıları, (III) Bakır şaperonları, (IV) N-rampa taşıyıcıları (Yruela, 2005).

Cu^{2+} ile Cu^+ arasındaki redoks reaksiyonlarında toksik etkisi çok yüksek olan hidroksil radikali ($\cdot OH$) üretilir ve bu radikal DNA, lipid ve proteinler gibi biyomoleküller için yüksek derecede toksiktir. Bu nedenle yüksek derişimde Cu alımı bitkide klorozis, nekrozis, bodurluk, yaprak renginde solma ve kök büyümesinde gerileme gibi toksik etkilere yol açar (Van Assche ve Clijsters, 1990). Ayrıca hücresele seviyede (I) enzim aktivitesi ya da protein fonksiyonlarının inhibisyonuna neden olan sülfidril gruplarına bağlanma, (II) diğer temel elementlerin eksikliklerine neden olma, (III) hücre taşıma süreçlerine zarar verme, (IV) oksidatif hasar gibi etkilere yol açar (Van Assche ve Clijsters, 1990; Meharg, 1994).

Yüksek derişimde Cu içeren topraklarda yetişen bitkilerde Cu toleransı genellikle; (I) mikorizal hareket ya da hücre dışı eksüdalar yoluyla metal alımını azaltma, (II) plazma membranında metallerin dışarı pompalanmasının aktivasyonu, (III) metallerin fitoşelatinler, metalotiyoneinler, organik asit ya da ısı şok proteinleri (hsp) yoluyla şelasyonu, (IV) metallerin vakuole taşınarak orada tutulması şeklinde olmaktadır (Yruela, 2005).

1.3.3.2. Kadmiyum (Cd)'un Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Bitki büyüme ve gelişimini olumsuz etkileyen Cd, bitki büyüme ve gelişimi için esansiyel olmayan elementler arasında yer almaktadır. Çevreye enerji istasyonları, ısıtma sistemleri, metal endüstrisi ve şehir trafiği ile yayılmakta ve kirliliğe neden olmaktadır. Özellikle elektro kaplama, plastik stabilizörlerinde, boyalarda, nikel-kadmiyum bataryalarında kullanılmaktadır. Kirlenmemiş toprak çözeltisi 0,04-0,32 mM arasında Cd içerirken, kirlenmiş toprak çözeltisi 0,32-1 mM arasında Cd içerir. Suda çok iyi çözünür ve çok yüksek toksik etkilerinden dolayı son derece önemli kirleticisi olarak kabul edilir (Pinto vd., 2004).

Kadmiyum toksisitesinde klorozis, yaprak kıvrılması ve yaprak büyümesinde gerileme gözle görülebilir en temel belirtilerdir. Kadmiyum bitkilerin topraktan mineral alma kapasitelerini değiştirir. Bu nedenle bitkide Fe, fosfor (P) ve Mn eksikliği oluşabilir ve bu durum klorozise yol açar. Ayrıca stomaların açılması, transpirasyon ve fotosentez de Cd toksisitesinden etkilenir. Köklerdeki Fe (III) redüktaz aktivitesi Cd tarafından inhibe edilir ve bitkide Fe(II) eksikliği oluşması sonucu fotosentez ciddi şekilde hasar alır. Kadmiyum köklerden nitrat alınımını azaltır, sürgünlerde nitrat redüktaz aktivitesini azaltarak köklerden sürgünlere nitrat taşınmasının azalmasına da yol açar (Hernandez vd., 1996). Hücre membranının geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde suyun azalmasına yol açar. ATPaz aktivitesini inhibe eder. Lipid peroksidasyonunu teşvik ederek membran fonksiyonlarını değiştirir, klorofil biyosentez ve CO₂ fiksasyon enzimlerinin aktivitesinin inhibisyonuna yol açar. Oksidatif strese yol açarak enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktivitelerinde azalmaya yol açar (Pinto vd., 2004).

1.3.3.3. Cıva (Hg)'nın Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Cıva bitki büyüme ve gelişmesi için gerekli olmayan, düşük derişimlerde çok yüksek toksik etki gösteren bir ağır metaldir. Farklı formlarda (HgS, Hg²⁺, Hg⁰ ve metil-Hg) bulunabilme özelliği ile diğer ağır metallere ayrılır. İyonik form (Hg²⁺) tarım alanlarında baskın olarak bulunan formudur (Prasad, 2004). Kükürte (S) karşı çok güçlü bir ilgisi vardır, bu nedenle enzimlerin ve proteinlerin -SH gruplarına bağlanarak aktivitelerinde azalma ve inhibisyona neden olarak canlı organizmalarda toksik etki gösterir. Ayrıca yaşlı yapraklarda absiyon, büyümede indirgenme, kök ve yaprak gelişiminde indirgenme, klorofil içeriğinde ve nitrat redüktaz aktivitesinde azalma gibi etkilere yol açar. Membranda akuaporin yapısını etkileyerek su alınımını inhibe eder (Shrivastava vd., 2015).

1.3.3.4. Kurşun (Pb)'un Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Kurşun tüm toprak tiplerinde en fazla bulunan ağır metaldir. Sulama suları, maden ve maden eritme işlemleri, boyalar, benzin, patlayıcılar, atık suları Pb yönünden zengindir ve çevrede Pb'nin toksik seviyeye çıkmasına neden olurlar. Genellikle Pb endüstriyel alanlara

yakın tarımsal topraklarda toksik seviyeye çıkar. Toprağın yüzey kısmında kalma eğilimindedir ve toprak derinliği arttıkça Pb miktarı azalır (Sharma ve Dubey, 2005).

Toprakta kökler aracılığıyla kolaylıkla alınan Pb, bitkinin farklı organlarında biriktirilir. Kökler aracılığıyla alınan Pb, kök>yaprak>gövde>çiçek tomurcuğu>tohum şeklinde kökten tohuma ilerledikçe derişimi düşer. Herhangi bir sebeple tarımsal toprakların Pb ile kirletilmesi sonucu, tarımsal üretimde ciddi düşüşler gözlenir. Tohumlarda proteaz ve amilaz aktivitesinin inhibisyonuna neden olarak tohumların çimlenme oranını düşürür. Kök ve sürgün uzamasını, yaprak genişlemesini inhibe eder. Ayrıca klorozise, fotosentetik inhibisyona, membran geçirgenliğini değiştirerek su dengesizliğine, mineral besin alımının aksamasına ve enzimlerin sülfidril gruplarına bağlanarak enzim aktivitelerinin inhibisyonuna neden olur. Yüksek oranda kurşun alan bitkilerde ROS'ların üretiminin artması ile birlikte oksidatif stres hasarı da görülür (Sharma ve Dubey, 2005).

1.4. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerinde Oluşturduğu İkinci Etki: Oksidatif Stres

Moleküler oksijenin yüksek enerjiye maruz kalması ya da elektron (e^-) aktarım reaksiyonu sonucu basamak basamak indirgenmesi ile yüksek reaktif oksijen türleri (ROS) oluşur. Oksijenli solunum yapan canlılarda ROS'ların oluşumu kaçınılmazdır. Bitkilerin normal büyüme ve gelişimleri boyunca ROS'lar üretilirler ve normal büyüme, gelişme ve savunma sisteminde düzenleyici rolleri bulunmaktadır. Ancak stres koşullarında ROS üretimi ile ROS'ların antioksidan sistem tarafından süpürülmeleri arasındaki dengenin bozulması ve hücrelerde ROS'ların seviyelerinin artması ile birlikte hücrede oksidatif hasar meydana gelir ve bu durum oksidatif stres adını alır (Mittler vd., 2004). Ağır metaller bitkiler tarafından alındıktan sonra direk ya da dolaylı olarak serbest radikallerin oluşumuna sonuç olarak da oksidatif hasara yol açarlar (Rucińska-Sobkowiak, 2010).

Ağır metaller aşağıdaki yollar ile dokularda oksidatif stresi teşvik ederler;

- 1- Tekli- e^- reaksiyonlarında, e^- 'lerini direk olarak aktarırlar. Eşleşmemiş e^- 'lara sahip Fe, Cu, Mn gibi geçiş-elementi olarak adlandırılan metaller, tek e^- alır ve verirler, böylece O_2 'e tek e^- aktarımı ile ROS oluşumu teşvik edilir.
- 2- Metaller özellikle tilakoid membranlar gibi alanlarda gerçekleşen metabolik yolların bozulmasına yol açarlar, böylece ROS oluşumu artar ve oksidatif stres oluşur.

- 3- Hücrelerde ROS'ın temizlenmesinden sorumlu enzimlerin (POX, SOD, CAT gibi) aktivitelerini engelleyerek ROS seviyesinin artmasına neden olurlar.
- 4- Ağır metal birikimi GSH gibi düşük molekül ağırlıklı antioksidan bileşiklerin azalmasına yol açarak hücrelerde ROS miktarının artmasına yol açarlar (Michalak, 2006).

1.4.1. Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Bitkilerde solunum ve fotosentez gibi hücrel süreçlerde ya da mitokondri, kloroplast ve plazma membranının e^- taşınım aktivitelerinde, e^- 'lerin moleküler oksijene sızması sonucu, hücrelerde devamlı olarak ROS'lar üretilir. Yüksek derecede reaktif olan süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali ($\bullet OH$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen (1O_2) gibi ROS'lar, membran lipidleri, proteinler, klorofil ve nükleik asitler gibi moleküllere oksidatif olarak hasar verir ve organizmanın iç dengesinin bozulmasına yol açarlar (Sharma ve Dubey, 2005; 2007).

Temel durumda O_2 , paralel spinlerde iki eşleşmemiş elektronu olduğundan dolayı reaktif değildir. Ancak iki farklı mekanizma ile O_2 reaktif hale gelir; (I) monovalent indirgenme, (II) eşleşmemiş elektronlardan biri üzerine yeterli enerji absorpsiyonu ile. Monovalent indirgenme ile $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$ ve H_2O_2 gibi ROS'lar oluşurken enerji aktarımı ile 1O_2 oluşur. Hücrelerde normal büyüme koşulları altında ROS üretimi düşüktür (kloroplastlarda $240 \mu M s^{-1} O_2^{\bullet-}$, $0,5 \mu M H_2O_2$). Ancak stres koşullarında ROS üretimi artar ($720 \mu M s^{-1} O_2^{\bullet-}$, $5-15 \mu M H_2O_2$) (Polle, 2001). Elektriksel olarak nötral olan H_2O_2 , reaktif değildir ancak hücrel membranlardan geçerek olduğu alanlardan çok daha uzak mesafelerdeki hücrel alt birimlere ulaşabildiğinden dolayı risklidir. H_2O_2 ve $O_2^{\bullet-}$ birlikte HaberWiess reaksiyonu (2) ile yüksek oranda reaktif olan $\bullet OH$ 'ni oluştururlar (Mithöfer vd., 2004). Bu nedenle stres koşulları altında oksidatif hasardan kaçabilmek için H_2O_2 'in temizlenmesi önemlidir. Ayrıca Cu^+ ve Fe^{2+} gibi metallerin varlığında H_2O_2 Fenton reaksiyonu (1) ile $\bullet OH$ 'e dönüşür (Inzé ve Van Mantagu, 1995).

Haber-Wiess reaksiyonu



Tablo 1.2. Oksidatif strese neden olan bazı reaktif molekül türleri
(Manoj ve Padhy, 2013)

Türler	Sembol
Alkil peroksit	ROOH
Alkoksil radikali	RO [•]
Alkil peroksinitrit	ROONO
Peroksil radikali	ROO [•]
Ferril iyon	Fe ⁴⁺ O
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Hidroperoksil radikali	HOO [•]
Hidroksil radikali	HO [•]
Hipobromoz asit	HOBr
Hipokloroz asit	HOCl
Nitrik oksit radikali	NO [•]
Azot dioksit radikali	NO ₂ [•]
Nitronyum katyonu	NO ₂ ⁺
Nitrosil katyonu	NO ⁺
Nitroksil anyonu	NO ⁻
Periferril iyonu	Fe ⁵⁺ O
Peroksinitrit	ONOO ⁻
Peroksinitroz asit	ONOOH
Singlet oksijen	¹ O ₂
Süperoksit radikali	O ₂ ^{•-}

1.5. Ağır Metallerle Kirletilmiş Topraklarda Remediasyon (Giderim) Metodları

Remediasyon kısaca; toprak, su (hem yeraltı hem de yüzey suyu) ve havadan, ekolojik risk oluşturabilecek ya da canlılar üzerinde olumsuz bir etkiye yol açabilecek zehirli ya da kirletici maddelerin uzaklaştırılmasıdır. Remediasyon sürecinde öncelikle ağır metal ile kirletilmiş alanlarda istenilen metal derişimleri, ağır metalin risk oluşturmayacak

düzeyi ya da toprak kalite standartları göz önünde bulundurularak belirlenir (Martin ve Ruby, 2004). Kullanılacak remediasyon metodu total metal derişimi, kontamine alanın büyüklüğü, maliyet, istenilen arındırma süresine göre değişiklik gösterir. Remediasyon üç ana başlık altında toplanabilir.

1.5.1. Fiziksel Remediasyon

Fiziksel remediasyon toprak değişimi ve termal desorpsiyon yöntemlerinden oluşur. Toprak değişiminde ağır metal içeriği bakımından temiz toprak kirli alanda bulunan toprağın ya tamamı ya da bir kısmı ile yer değiştirilir. Böylece ağır metal derişimi düşürülmüş olur. Ancak bu yöntemin maaliyeti çok yüksektir ve ancak küçük alanlar için uygundur (Nicholson vd., 2003).

Termal desorpsiyon yönteminde ise kirli toprak buhar, mikrodalga ve kızılötesi radyasyon kullanılarak ısıtılır ve negatif basınçlı vakum kullanılarak Hg ve As gibi buharlaşan kirleticiler topraktan uzaklaştırılır. Ancak bu yöntem, pahalı cihazlar gerektirmesi, desorpsiyon zamanının uzun olması ve kullanım alanlarının sınırlı olmasından dolayı kullanışlı değildir (Li vd., 2010).

1.5.2. Kimyasal Remediasyon

1.5.2.1. Kimyasal Yıkama

Kimyasal yıkamada kirli toprak taze su, ayıraç ve diğer sıvı ve gazlar kullanılarak yıkanır ve kirletici ağır metaller topraktan uzaklaştırılır. İyon değişimi, çökelme, tutunma ve şelasyon ile ağır metaller topraktan sıvıya geçerler. Örneğin bazı alanlarda As(V)'in topraktan uzaklaştırılması için çevre dostu ve maliyeti düşük olan potasyum fosfat kullanılır. Arsenik 300 mM potasyum fosfat çözeltisi (pH 6,0) ile 40°C'de topraktan uzaklaştırılır (Yao vd., 2012).

1.5.2.2. Kimyasal Bağlama

Kimyasal bağlama işleminde, ağır metaller ile kirletilen toprağa ayıraç ya da başka materyaller eklenerek ağır metallerin çözünemeyen ya da hareketsiz bir hale gelmesi

sağlanır. Böylece ağır metallerin bitki, su ya da diğer çevresel ortamlara geçişi engellenmiş olur (Yao vd., 2012).

1.5.2.3. Elektrokinetik Remediasyon

Elektrokinetik remediasyon yeni bir teknolojik yöntemdir. Bu yöntemde toprağın iki yanına voltaj uygulanır ve elektrik alan gradiyenti oluşturulur. Ağır metaller iki kutba doğru hareket eder. Düşük geçirimli topraklar için uygun bir yöntemdir. Kurulumu ve uygulanması kolay ve maliyeti düşüktür. Çevreye herhangi bir zararı yoktur ancak toprağın pH'sını kontrol edemediğinden uygulama etkinliği düşüktür (Yao vd., 2012).

1.5.2.4. Vitrifiye Teknolojisi

Vitrifiye teknolojisi toprağın 1400~2000 °C'de ısıtılarak organik maddelerin buharlaşma ya da ayrışması işlemlerini kapsar. Buhar halindeki ürünler toplanır ve soğutulularak ağır metaller topraktan alınmış olur (Yao vd., 2012).

1.5.3. Biyolojik Remediasyon

1.5.3.1. Fitoremediasyon

Ağır metaller ile kirletilmiş alanlarda bitkiler kullanılarak ağır metallerin temizlenmesi ya da risk seviyelerinin düşürülmesi sağlanır. Fitostabilizasyon, fitovolatilizasyon ve fitoekstraksiyon olmak üzere üç tip fitoremediasyon bulunmaktadır (Shen ve Chen, 2000).

Fitostabilizasyonda, bitki köklerinin yüzeyde tutulma, çökeltme ve indirgemesi ile sabitlenirler ve böylece ağır metallerin hareketi ve alınabilirlikleri azalır. Sonuç olarak yeraltı sularına ve besin zincirine katılamazlar (Yao vd., 2012).

Fitovolatilizasyonda, bitki kökleri tarafından salınan özel maddeler ile adsorbe edilen metaller gaz formuna dönüştürülür. Bu alanda en fazla çalışılan ağır metal Hg'dir (Yao vd., 2012).

Fitoekstraksiyonda, ağır metallere karşı toleransı yüksek olan ve ağır metalleri yüksek oranda biriktirebilen bitkiler kullanılır, kökler aracılığı ile alınan ağır metaller toprak üstü organlarda biriktirilir (Wang ve Wen, 2001).

Tablo 1.3. Bazı ağır metalleri yüksek oranda biriktiren taksonlar (Scragg, 2006)

Takson	Metal	Konsantrasyon (mg kg ⁻¹)
<i>Cytus ladanifer</i> L.	Cd	309
	Co	2667
	Cr	2667
	Ni	4164
	Zn	7695
<i>Thlaspi caerulescens</i> J. Presl & C. Presl	Cd	10,000-15,000
	Zn	10,000-15,000
<i>Arabidopsis halleri</i> (L.) O’Kane & Al-Shehbaz	Cd	5900-31,000
<i>Alyssum</i> L.	Ni	4200-24,400
<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.	Pb	10,000-15,000
	Zn	2600
<i>Betula</i> L.	Zn	528
<i>Vetiveria zizanioides</i> (L.) Nash	Zn	0,03
<i>Paspalum notatum</i> Flügge		
<i>Stenotaphrum secundatum</i> (Walter) Kuntze		
<i>Pennisetum glaucum</i> (L.) R. Br.		

1.5.3.2. Biyolojik Remediasyon

Mikroorganizmalar ağır metalleri indirgeyemez ya da yok edemezler ancak onların fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirerek yer değiştirmelerini engelleyebilirler. Mikroorganizmalar remediasyon amaçlı özellikle maden alanlarına, endüstriyel atıkların bulunduğu alanlara, atık sular ve ağır metallerin yoğun olduğu sedimentlere uygulanma

potansiyeli yüksektir. Ancak mikroorganizmalar sıcaklık, oksijen, nem ve pH gibi faktörlerden kolayca etkilendiğinden dolayı biyolojik remediasyonun uygulanabilirliği düşüktür (Bosecker, 2001).

1.6. Bitkilerin Ağır Metallere Karşı Korunma Mekanizmaları

Bitkiler maruz kaldıkları metal çeşidine, maruz kalma süresine ve maruz kalınan metal derişimine bağılı olarak, kendilerini ağır metal stresinden koruyabilmek için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir.

1.6.1. Bitkilerde Ağır Metal Alınımını Azaltma Yöntemleri

Genellikle toprak çözeltilisinde, ağır metaller düşük pH'da serbest iyonik formda bulunurlar, yüksek pH'da karbonat, oksit, hidroksit hatta silikatlar ile katı çökelek oluştururlar. Böylece hareketlilikleri azalmış olur. Bazı bitkiler kökleri ile toprak pH'sını artırarak ağır metallerin alınabilirliklerini azaltarak stres etkisinden korunmaya çalışırlar. *Triticum aestivum* azot kaynağını amonyumdan nitrata değışerek toprak pH'sını yükseltir (Jackson vd., 1990). Bazı bitkiler kök şapkası ya da apikal zonda musilaj salgılayarak Al gibi bazı ağır metallerin kompleksler halinde tutulmasını ve kök içerisine alınımını engeller (Ayhan vd., 2006).

Zea mays gibi bazı bitkiler organik asitler ve karbohidratlar gibi farklı içeriğe sahip eksüdalari ortama salarak ağır metalleri bağlayabilir ve topraktan alınımalarını azaltarak kendini ağır metale karşı toleran hale getirebilir. Organik asitlerin Zn biriktirilmesinde rol aldığı, organik asit salınımının Zn alınımını kısıtladığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Jackson vd., 1990). Bazı bitkiler de almış olduğı ağır metali serbest formda ya da başka moleküller ile kompleks yapmış halde toprağı geri vererek kendini ağır metal stresine karşı korur (Jackson vd., 1990).

1.6.2. Bitkilerde Ağır Metallerin Biriktirilmesi

Bitkiler kökler aracılığıyla aldıkları ağır metalleri vakuol ve hücre çeperi gibi hücresel yapılara zarar vermeyecek bölgelerde depo edebilirler. Böylece ağır metallerin,

enzim, protein, nükleik asit ve lipidler gibi moleküllere zarar vermelerini engellemiş olurlar (Ayhan vd., 2006).

Merkez metal atomuna ve iyonuna elektron çifti verebilen moleküllere ligand adı verilmektedir. Metaller iki ya da daha fazla liganda bağlanabilirler ve “şelat” adı verilen yapıları oluştururlar (Pohlmeier, 1999). Ligandlar elektron verici atomlarına göre (I) oksijen verici ligandlar, (II) azot verici ligandlar ve (III) kükürt verici ligandlar olmak üzere üç gruba ayrılır (Ayhan vd., 2006).

Oksijen verici ligandlar arasında, en iyi bilinen grup organik asitlerdir. Organik asitlerin sahip oldukları karboksilik asit (-COOH) grupları metaller ile kararlı yapılar oluşturur. Yapılan bazı çalışmalarda metal uygulamasının ardından bazı bitkilerde malat, okzalit ve sitrat gibi organik asitlerin miktarının arttığı ve şelatör gibi davrandıkları belirlenmiştir (Rauser, 1990). Ağır metal stresi altındaki bitki hücrelerinde, kökler aracılığıyla topraktan alınan Zn, sitoplazmada malata bağlandığı, oluşan kompleksin vakuole taşındığı ve vakuolde serbest kalan Zn okzalata bağlanıp malik asitin de sitoplazmaya geri döndüğü yapılan çalışmalar ile ileri sürülmüştür (Harmens vd., 1994).

Amino asitler başlıca azot verici ligandlara örnek olmakla birlikte, hem amino grubu hem de karboksilik asit grubu taşıdığından oksijen verici ligandlar grubuna da dahil olmaktadır. Amino asitlerin metallere bağlanabilme kapasiteleri, onların fizyolojik koşullarda iyonlaşabilme kapasiteleri ile doğru orantılıdır (Ayhan vd., 2006). Ayrıca amino asit-metal kompleksi organik asit-metal kompleksine göre daha yüksek bir kararlılık göstermektedir (Pohlmeier, 1999). Oksijen verici ve azot verici liganlar hücrelerde farklı amaçlar ile sentezlenirler, ağır metal stresinde metal zararını azaltmak ikincil görevleridir (Ayhan vd., 2006).

Yapılarında kükürt grubu içeren ve bu grupları ile metallere bağlanan ligandlar kükürt verici ligandlardır. En önemli kükürt verici ligandlar metalotiyoneinler ve fitoşelatinlerdir. Birincil görevleri ağır metal stresinde metallere bağlanarak metal zararını önlemektedir. Metalotiyoneinler sistein-X-sistein yapısında, yüksek oranda sistein amino asitini içeren, aromatik amino asitleri ve histidini içermeyen, düşük molekül ağırlıklı proteinik yapılardır (Rauser, 1990). Fitoşelatinler (PCs) glutamat, sistein ve glisin amino asitlerini 2:2:1 ile 11:11:1 arasında bir oranda bulunduran peptidlerdir. PCs ağır metal stresinde, γ -glutamil sistein dipeptidil transferaz enzimi ile glutatyondan sentezlenir (Grill vd., 1989). Ağır metal stresi altında hücrede oluşan metal-PC kompleksi vakuollere taşınır.

Düşük vakuol pH'sından (3,5-5,0) dolayı kompleks kararlılığını koruyamaz ve PC komplekten ayrılarak sitoplazmaya geri döner (Ayhan vd., 2006).

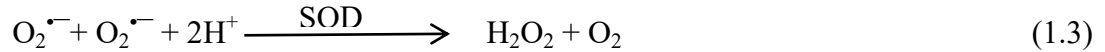
1.6.3. Bitkilerde Antioksidan Savunma Sistemi

Ağır metaller doğrudan etkilerinin yanında ROS üretimini teşvik ederek oksidatif strese yol açarlar. Antioksidan sistem enzimatik olan (SOD, CAT gibi) ve olmayan antioksidanlar (GSH gibi) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Enzimatik antioksidanların doğrudan ağır metallere bir etkileri yoktur ancak ağır metal etkisi ile artan ROS'ları çeşitli dönüşümler ile etkisiz hale getirirler (Alsher vd., 1997). Enzimatik olmayan antioksidanlar ise ROS'lara bağlanarak onları etkisiz hale getirmenin yanında ağır metallere bağlanarak metal derişimini düşürür ve metal zararının azalmasında rol oynarlar (Dietz vd., 1999).

1.6.3.1. Enzimatik Antioksidanlar

1.6.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) Enzimi

Tüm oksijenli solunum yapan canlılarda bulunan SOD, $O_2^{\bullet-}$ 'i O_2 ve H_2O_2 ye dönüştürür. Bundan dolayı oksidatif strese karşı ilk savunma hattını oluşturur ve hücreyi savunmada merkezi bir role sahiptir. Metaloenzimler grubuna dahil olan SOD'un Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD olmak üzere üç izoenzimi bulunmaktadır. Bu üç formdan Cu/Zn-SOD mitokondri ve kloroplastlarda, Mn-SOD mitokondri ve peroksizomlarda, Fe-SOD kloroplastlarda yoğun olarak bulunur (Sharma vd., 2010; Arora vd., 2002).



1.6.3.1.2. Guaiakol Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzimi

Peroksidazların bitkilerde H_2O_2 detoksifikasyonu, oksin (IAA) bozunması, yaraların iyileşmesi, etilen biyosentezi, hücre uzaması, hücre çeperi lignifikasyonu ve hücre farklılaşması gibi birçok fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonu bulunmakla beraber, peoksidazlar aynı zamanda bitki hücrelerinin antioksidatif cevabında önemli bir role sahiplerdir. İndirgeyici substrat olarak guaiakolü (o-metoksifenol) kullanan peroksidazlara

guaiakol peroksidaz (GPOX) adı verilmektedir. Sitozol, vakuol, hücre çeperi ve apoplastik alanda bulunur ancak organellerde bulunmaz (Sharma, 2010).

1.6.3.1.3. Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) Enzimi

Hem grubu içeren ve tetramerik bir yapıya sahip olan CAT, tüm oksijenli solunum yapan canlılarda iki molekül H_2O_2 'in H_2O ve O_2 'e dönüşmesini sağlar. Stres koşullarında yüksek miktarda oluşmakla beraber H_2O_2 , mitokondriyal elektron taşınması boyunca, yağ asitlerinin β -oksidasyonunda ve ayrıca fotorespirasyonda oluşmaktadır. Hücrelerde oluşan H_2O_2 'in dönüşümünde hücrel indirgeme eşdeğerliklerini tüketmediğinden CAT, hücreler enerji açısından strese girdiklerinde hızlıca oluşan H_2O_2 'i etkin bir şekilde dönüştürebilir (Scandalios vd., 1997).



1.6.3.1.4. Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzimi

Askorbat-glutasyon (AsA-GSH) döngüsü kloroplastlarda H_2O_2 'i indirgeyen temel sistemdir. İki molekül askorbik asiti (AsA) kullanarak H_2O_2 'i iki molekül monodehidroaskorbat (MDHA)'a ve H_2O 'ya indirgeyen APX, AsA-GSH döngüsünün anahtar enzimlerinden biridir (Sharma vd., 2010). Hem grubu içeren peroksidazlar sınıfına dahildir ve substrat olarak askorbik asiti kullanır. AsA-GSH döngüsü kloroplastlarla birlikte sitozol, mitokondri ve peroksisomlarda da ROS'ların süpürülmesinde görev alır. Çevresel strese yanıt olarak APX aktivitesi genel olarak CAT, SOD ve glutasyon redüktaz (GR) gibi diğer enzim aktiviteleri ile birlikte artar (Caverzan vd., 2012).

1.6.3.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) Enzimi

Hücrelerin oksidatif stres hasarından korunmalarında kilit bir rolü olan AsA-GSH döngüsünün diğer bir önemli enzimi GR'dır. Elektron verici olarak NADPH'ı kullanır ve yükseltgenmiş glutasyonun (GSSG) indirgenmiş glutatyona (GSH) dönüşümünü katalizler. Ağır metal stresi ve diğer streslerin birincil etkilerinden ve neden oldukları oksidatif hasardan korunmada önemli görevleri olan GSH'ın devamlılığı, hücrenin antioksidan

kapasitesinin korunması açısından çok önemlidir (Sairam vd., 1997). Ayrıca e^- verici olarak NADPH'nin kullanılması, CO_2 fiksasyonunun azalması durumunda NADPH/NADP⁺ oranının ayarlanmasına yardımcı olmaktadır (Creissen vd., 1996).

1.6.3.1.6. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR; EC 1.6.5.4) Enzimi

Oksidoredüktazlar sınıfına dahil olan MDHAR, AsA-GSH döngüsüne ait enzimlerden biridir. Kloroplast, sitozol, mitokondri, glioksizom ve yaprak peroksizomlarında bulunmaktadır ve e^- vericisi olarak NAD(P)H'ı kullanır. Kloroplastlarda iki önemli görevi bulunmaktadır; (I) MDHA'tan indirgenmiş askorbatın yeniden oluşumu, (II) MDHA yokluğunda dioksijenin süperoksit radikallerine indirgenmesine aracılık etmektir (Leterrier vd., 2005).

1.6.3.1.7. Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR; EC 1.8.5.1) Enzimi

Monomerik tiyol enzim olan DHAR, indirgeyici substrat olarak GSH'ı kullanır ve dehidroaskorbat (DHA)'ın AsA'a indirgenmesini katalizler. Bitkilerde stres cevabında AsA-GSH döngüsüne ait bir enzim olarak önemli bir yeri vardır (Sharma ve Dubey, 2005; 2007).

1.6.3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.6.3.2.1. Glutatyon (GSH)

Tripeptid yapısında (γ -glutamil-sisteinil-glisin, GSH) düşük molekül ağırlıklı bir bileşiktir. Sitozol ve kloroplastlarda γ -glutamil-sisteinil sentaz (γ -ECS) ve glutatyon sentetaz (GS) enzimleri ile sentez edilir. Fitoşelatinlerin sentezinde öncül moleküldür, ksenobiyotiklerin etkisizleştirilmesinde rol oynar, ağır metalleri şelatlayıp vakuollerde biriktirilmesine yardımcı olarak ağır metal derişiminin hücrede kritik noktada tutulmasını sağlar (Yadav vd., 2010). Direk olarak $\cdot OH$, $O_2^{\cdot -}$ ve H_2O_2 gibi radikallerin temizlenmesinde rol oynayan GSH, AsA-GSH döngüsünün de önemli bir elemanıdır. Stres koşullarında, sitozol, mitokondri ve kloroplastlarda GR enzim aktivitesi ile GSSG GSH'a indirgenir. Ağır stres koşullarında ise GSH yükseltgenmesi GSSG

indirgenmesinden fazla olur ve GSH/GSSG oranı azalır (Foyer vd., 2001; Yadav vd., 2010).

1.6.3.2.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde pentoz fosfat, şikimat ve fenilpropanoid yollarından türevlenen, hem normal gelişim boyunca hem de enfeksiyon, yaralanma ve radyasyon gibi stres koşullarında geniş ve çeşitli ürün yelpazesinde üretilen sekonder metabolitlerdir. En yaygın fitokimyasal gruplardan biri olan bu bileşikler, bitkilerde morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal açıdan önem taşımaktadırlar. Meyve ve sebzelerin renk ve duyuşal özelliklerine katkıda bulunmanın yanı sıra besinlerin oksidatif kararlılığını korumasına da katkıda bulunurlar (Shahidi ve Naczki, 2004). Ayrıca fenolik bileşikler, anti-allerjik, anti-arterojenik, anti-inflamatuvar, anti-mikrobiyal, antioksidan, anti-trombotik, kardiyoprotektif ve vazodilatör etkiler gibi geniş bir fizyolojik özellik sergilemektedirler. Bu özelliklerinden dolayı, gıdalarda fenolik bileşiklerin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi, gıdanın antioksidan fonksiyonu, gıda kalitesi ve potansiyel sağlık yararları ile ilgili bilgi sağlayabilir (Balasundram vd., 2006).

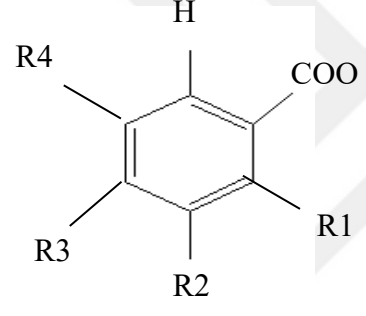
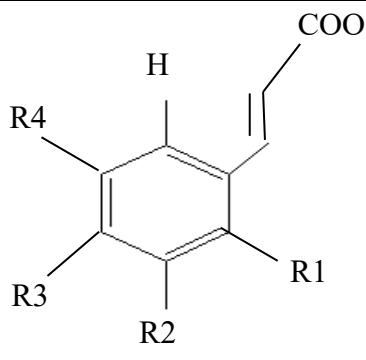
Fenolik bileşikler, doğrudan bir aromatik hidrokarbon (C₆) grubuna bağlı hidroksil grubu (-OH) içeren bir kimyasal bileşik sınıfıdır ve basit fenolik moleküllerden yüksek derecede polimerize bileşiklere kadar değişiklik gösterirler. Sahip oldukları fenol gruplarının sayısına göre sınıflandırılırlar ve genel olarak fenolik bileşikler, basit fenolikler, fenolik asitler, kumarinler, flavonoidler, stilbenler, hidrolizlenebilir ve kondense taninler, lignanlar ve ligninlerden oluşur. Aromatik halka ile -OH grubuna ait oksijen (O) arasındaki bağın güçlü, O ile H arasındaki bağın zayıf olmasından dolayı, fenolik bileşikler asidik özellik gösterirler. Fenolik gruplardan birine veya daha fazlasına bağlı mono- ve polisakaritler ile eşlenikler halinde bulunabilir ve esterler ve metil esterler gibi fonksiyonel türevler oluşabilir (Balasundram vd., 2006).

1.6.3.2.3. Fenolik Asitler

Fenolik asitler (fenolkarboksilik asit), fenolik grubunun alt sınıfıdır ve bitkilerde serbest olarak veya flavonoid, alkol, hidroksiyağ asitler, sterol ve glikozitlerle ester ya da glikozit konjugatları olarak bulunur (Shahidi ve Naczki, 1995). Bir fenolik halka ve en az

bir karboksilik asit grubundan oluşurlar. Fenolik halkaya bağlı yan karbon birimlerine bağlı olarak C6-C3, C6-C2 ve C6-C1 olmak üzere üç gruba ayrılır. En önemli iki fenolik asit grubu hidroksibenzoik asit (C6-C1 grubundan türevlerirler) ve hidroksisinamik asit (C6-C3 grubundan türevlenirler)tir. Fenolik asitlerin tüm çeşitlerinde temel iskelet yapı aynıdır ancak aromatik halkaya bağlı –OH grubunun sayısı ve pozisyonuna göre birbirinden farklı fenolik asitler oluşur (Goleniowski vd., 2013).

Tablo 1.4. Fenolik asitler: hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asitler (Robbins, 2003)

Hidroksibenzoik Asitler					
	Fenolik asit	R1	R2	R3	R4
	Benzoik asit	H	H	H	H
	<i>p</i> -hidroksibenzoik asit	H	H	OH	H
	Vanilik asit	H	OCH ₃	OH	H
	Gallik asit	H	OH	OH	OH
	Protokateşik asit	H	OH	OH	H
	Syringik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Gentisik asit	OH	H	H	OH
	Veratrik asit	H	OCH ₃	OCH ₃	H
	Salisilik asit	OH	H	H	H
Hidroksisinamik Asitler					
	Sinamik asit	H	H	H	H
	<i>o</i> -kumarik asit	OH	H	H	H
	<i>m</i> -kumarik asit	H	OH	H	H
	<i>p</i> -kumarik asit	H	H	OH	H
	Ferulik asit	H	OCH ₃	OH	H
	Sinapik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Kafeik asit	H	OH	OH	H

Bitkilerde yaygın olarak buluna fenolik asit çeşitleri Tablo 1.4'te verilmiştir. Besin alımı, protein sentezi, enzim aktivitesi, fotosentez, yapısal içerik ve allelopati gibi işlevleri bulunmaktadır (Shahidi ve Nacsck, 1995). Ayrıca bitkilerde biyotik ve abiyotik stres

altında, strese karşı bitki savunmasına yardımcı olurlar ve ayrıca bazı fenolik asitler sinyal iletiminde rol oynarlar (Mandal vd., 2010).

1.6.3.2.4. Flavonoidler

Fenolik bileşiklerin en geniş alt gruplarından biri olan flavonoidlerin şimdiye kadar 6,500'den fazla çeşidi tanımlanmıştır. Sitozolde sentezlenirler ve sentezde anahtar öncül maddeler fenilalanin (şikimat yolu ile) ve malonil-CoA [trikarboksilik asit döngüsü (TCA)]'dır. Hidrofilik son ürünler vakuollerde, lipofilik son ürünler ise epidermal hücrelerde biriktirilir veya son ürünler kökler aracılığı ile dış ortama verilirler. Flavonoidler kimyasal yapılarına göre üç ana gruba ayrılır; (I) Flavonoller (kuersetin vb.), (II) Flavanoller (kateşin vb.), (III) Antosiyaninler (Samanta vd., 2011).

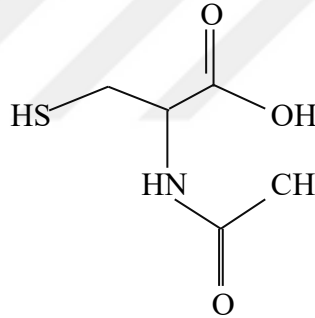
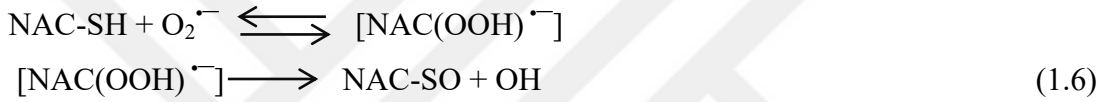
Flavonoidlerin biyolojik etkileri onların kimyasal yapılarına bağlı olarak değişiklik gösterir. Flavonoidler bitkiler ile çevreleri arasındaki ilişkiyi düzenlemenin yanında, bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere karşı korunmasında bitkilere yardımcı olur (Pourcel vd., 2007). Ayrıca sinyal molekülü, fitoaleksinler, tozlaşmaya yardımcı, UV-filtresi, tohum çimlenmesinde ve oksinin taşınmasında yardımcı olarak görev yaparlar (Samanta vd., 2011).

1.7. N-Asetilsistein (NAC)

N-asetil sistein, N-asetil-L-sistein olarak da bilinen N-asetilsistein (NAC)'in 1950'lerden beri klinik kullanımları bulunmaktadır. İlk olarak kistik fibröz ve kronik bronşit gibi fazla mukus salgılanan akciğer hastalıklarında mukolitik ajan olarak kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra asetaminofen (parasetamol) intoksikasyonunda, kemotarepinin neden olduğu toksikasyonda, kanser, kalp hastalığı, HIV enfeksiyonu tedavisinde, ağır metal toksisitesinde, şizofreni, bipolar bozukluk ve bağımlılık gibi psikiyatrik rahatsızlıkların tedavisinde de kullanılmaya başlanmıştır (Kelly, 1998; Samuni vd., 2013).

1.7.1. N-Asetilsistein (NAC)'in Biyokimyasal Özellikleri

Kimyasal formülü $C_5H_9NO_3S$ olan düşük molekül ağırlıklı (MA: 163,20 g/mol) bileşiktir. L-sistein amino asidinin asetillenmiş bir formudur ve zayıf asidik özellik (pKa: 3,24) gösterir. Mükemmel bir sülfidril grubu (-SH) kaynağı olduğundan antioksidan tiyol bileşikler grubunda yer alır (Kelly, 1998). N-deasilasyon ile hücrenin sistein içeriği artar. Sistein aminoasidi içermesinden ve glutatyon-s-transferaz aktivitesini arttırdığından dolayı hücrede GSH artışını teşvik eder. Güçlü bir tiyol antioksidandır çünkü $\cdot OH$ ve $O_2^{\cdot -}$ gibi ROS'lar ile direk reaksiyona girerek hücrede ROS'ların temizlenmesine yardımcı olur.



N-asetil-L-sistein

Şekil 1.2. N-asetil-L-sisteinin kimyasal yapısı (Kelly, 1998)

1.7.2. N-Asetilsisteinin Bitkilerdeki Fizyolojik ve Biyokimyasal Roller

Transkripsiyon faktörleri, çevresel uyaranlara bir sinyal şelalesi yoluyla yanıt veren proteinlerdir ve direkt fiziksel etkileşim veya diğer proteinlerle kombinasyon halinde bir düzenleyici ağ oluşturan genlerin üstündeki spesifik düzenleyici alanlara bağlanırlar. Sonuç olarak, transkripsiyon faktörü genlerinin ekspresyonundaki değişim, bitkide birden fazla genin ekspresyonunda çarpıcı farklılıklara neden olabilir. NAC proteinleri bitkilerde bulunan transkripsiyon faktörleridir. NAC proteinlerinin son derece korunmuş N-terminal ve C-terminal uçları bulunmaktadır. Bitkilerde sürgün apikal meristemin korunmasında,

hormon sinyali ve embriyo gelişimi gibi önemli görevlerinin olduğu bilgisi literatürde yer almaktadır. Ayrıca biyotik ve abiyotik çevresel faktörler ile de NAC genlerinin ekspresyonunun ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Stres teşviki ile ifade edilen NAC transkripsiyon faktörleri, stres cevabı akışında yer alan başka genlere bağlanırlar ve ifadelerinin aktive ederler. NAC transkripsiyon faktörleri, pirinç, buğday, soya fasulyesi, domates ve *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde çalışılmıştır (Ganesan vd., 2008).

Dıştan uygulanan NAC'ın biyotik ve abiyotik çevresel bazı streslerin bitkilerdeki olumsuz etkilerinin azaltılmasında etkili bir molekül olduğu yapılan çeşitli çalışmalar ile belirlenmiştir (Deng vd., 2010; Malanga vd., 1999; Sun vd., 2014; Iriti vd., 2009; Muranaka vd., 2013). Bitki-patojeni *Xylella fastidiosa* ile enfekte edilen tatlı portakal bitkisinde, NAC'ın bakteri popülasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Muranaka vd., 2013). Ayrıca NAC, Cd stresine maruz bırakılmış *Solanum nigrum* L. (Deng vd., 2010) ve *Hordeum vulgare* L. (Sun vd., 2014) bitkilerinde , UV-B uygulanmış *Chlorella vulgaris* algi ve *Glycine max* var. Hood bitkisinde (Malanga vd., 1999) ve *Anabeana* sp. siyonobakterisinde , herbisit uygulanan *Callitriche obtusangula* bitkisinde (Iriti vd., 2009) abiyotik stres etkilerinin hafifletilmesinde önemli rol oynadığı kaydedilmiştir.

1.8. Buğday (*Triticum* L.)

Tahıl ve tahıl ürünleri insan topluluklarının vazgeçilmez bir o kadar da temel besinini oluşturmaktadır. Tahıllar tarım ürünleri arasında dünyada ekim alanı ve üretim miktarı en yüksek olan tarımsal ürün grubudur. Dünyadaki çoğu ülkede nüfusun beslenmesinde kullanılan en temel gıda durumundadır. Tarım ürünleri arasında ekim alanı ve tüketimde birinci sırada yer almalarının en büyük nedeni içerdiği %60-70 oranındaki nişastadan dolayı mükemmel bir enerji kaynağı olmaları ve insanların günlük 50-60 g protein ihtiyaçlarının çoğunu tahıl tüketerek karşılayabilmeleridir. Ayrıca tahıllar vitamin, kalsiyum (Ca), Zn, selenyum (Se), Cu gibi günlük alınması gereken mineraller, fenolik bileşikler gibi antioksidanlar içinde son derece önemli bir kaynak oluşturmaktadırlar. Ayrıca hayvan yemi olarak ve endüstriyel olarak kullanılmaları da ekonomik değerlerini arttırmaktadır (Sarwar vd., 2013; Dyson, 1999). Dünyada tahıl üretimi 2011 sezonunda yaklaşık 2.587 milyon ton iken tüketim 1.840 milyon tondur. Türkiye'de ise 2011 yılı tahıl üretimi ve tüketimi yaklaşık 35 milyon ton olup; Türkiye tahıl üretiminde kendine yeten

bir ülkedir. Dünyada üretimi en fazla yapılan tahıllar sırasıyla buğday, pirinç, mısır, arpa, çavdar ve yulaftır (FAO, 2013).

Buğday, tahıl ve diğer ticari tarım ürünleri arasında en geniş ekim alanına sahiptir. Poaceae familyasına dahil olan buğdayın Dünya’da ve Türkiye’de ticari boyutta *Triticum aestivum* (ekmeklik), *Triticum durum* (makarnalık) ve *Triticum compactum* (bisküvilik, topbaş) olmak üzere üç tür içinde buğday tarımı yapılmaktadır. *T. aestivum* türü buğdaylar sert ve yumuşak endosperm yapısına sahip olabilirler. Sert endosperme sahip olanlar çoğunlukla maya ile kabartılarak hazırlanan unlu mamullerden olan ekmeğe, poğaçaya ve simit gibi unlu mamullerin üretiminde kullanılmaktadır. Yumuşak endosperme sahip olanlar ise genellikle kimyasal kabartıcılar kullanılarak üretilen bisküvi, kraker, gofret ve kek gibi unlu mamullerin üretiminde kullanılmaktadır. *T. durum* türü buğdaylar makarna ve spaghetti gibi irmik ürünleri ile bulgur ve kuskus gibi granule gıdaların üretiminde kullanılmaktadır. Bisküvi üretimine en uygun buğdaylar olan *T. compactum* türleri ise dünyada ve Türkiye’de çok az miktarda üretilmektedir (Yuksel vd., 2011). Dünyada üretilen buğdayın %90-95’ini (550-600 milyon ton/yıl) ekmeklik türü buğdaylar, yaklaşık %5’ini de (30-40 milyon ton/yıl) durum türü buğdaylar oluşturmaktadır. Ekmeklik türü buğdaylar Türkiye’de üretilen toplam buğdayın %85-90’ını (16 milyon ton/yıl), makarnalık türü buğdaylar ise %10-15’ini (2-3 milyon ton/yıl) oluşturmaktadır. Makarnalık (durum) buğdaylar tetraploid ($2n=4x=28$, AABB) buğdaylar olup, kalite özellikleri ve kullanım alanları bakımından hekzaploid ($2n=6x=42$, AABBDD) ekmeklik ve topbaş buğdaylardan çok farklı ve özel bir konuma sahiptir (Yuksel vd., 2011). Farklı iklim bölgelerine kolay uyum sağlayabilmesi, tanelerinin kolay depolanabilmesi, buğday ununun sahip olduğu vizkoelastik gluten proteininden dolayı mayalı ekmeğe yapımına uygun olması, makarna, bulgur, bisküvi, gofret gibi lezzetli ve tatmin edici yiyeceklerin üretiminde buğdaydan elde edilen unun kullanılmasından dolayı buğday, insan hayatında alternatifsiz ve vazgeçilmez bir tarım ürünüdür (Yuksel vd., 2011). Ülkemizde yıllık ortalama 10 milyon ton buğday unu üretilmekte ve kişi başına yıllık un tüketimi 150 kg olup, dünya tüketiminde ikinci sırada yer almaktadır (Elgün vd., 2009).

Buğday önemli bir besin kaynağı olmasının yanı sıra önemli ölçüde antioksidanlara da sahiptirler. Özellikle yapısında bulunan fenolik bileşikler hidroksil ve peroksil radikallerini temizleyerek lipid peroksidasyonu gibi zararlı tepkimeleri sınırlar. Son yıllarda sağlıklı besin tüketimine olan talep giderek artmaktadır. İçerdiği faydalı fitokimyasallar sayesinde artan bu talebi karşılamada buğday, diğer tarım ürünleri arasında

önemli bir yere sahiptir (Hodzic vd., 2009). Dünyada yılda yaklaşık 648 milyon ton buğday üretilmekte olup bu da üretilen tahılların yaklaşık %35'ini oluşturmaktadır. Yıllık elde edilen buğdayın %3'lük kısmı ise Türkiye'de üretilmektedir (FAO, 2013).

Bitkilerde N-asetilsisteinin ağır metal toksisitesine karşı iyileştirici etkisi ile ilgili literatürde çok az çalışma yer almaktadır. Bu çalışmalarda Cd ağır metal toksisitesi ve NAC ilişkisi enzimatik olan ve enzimatik olmayan bazı antioksidanlar (GSH) çalışılmıştır. Ancak ağır metal ve NAC uygulamalarının fenolik havuz bileşenlerine (toplam fenolik bileşik, fenolik asitler gibi) etkileri ile ilgili literatürde yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca NAC'ın Cu, Hg ve Pb ağır metal toksisitesine karşı iyileştirici etkisi ile ilgili de yeni literatürde herhangi bir çalışma yer almamaktadır. Bu tez çalışması NAC'ın Cu, Cd, Hg ve Pb ağır metallerinin toksik etkilerine karşı iyileştirici etkisinin enzimatik olan (POX, CAT, SOD, APX, GR, MDHAR, DHAR) ve olmayan antioksidan bileşenleri (GSH, AsA, TFM, fenolik asitler) düzeyinde karşılaştırılmalı olarak çalışılması amaçlanmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Bitki Materyalinin Sağlanması ve Tohumların Çimlendirilmesi

Triticum aestivum L. 'Ceyhan-99' buğday çeşidine ait tohumlar (karyopsis) Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Adana)'nden temin edilmiştir. Tohumlar önce %1 sodyum hipoklorid (%4,6, domestos) ile 15 dakika muamele edildi ve distile su ile iyice yıkandı. Daha sonra tohumlar nemli iki kurutma kağıdı arasında petri kaplarına eşit aralıklarla yerleştirildi ve 24°C sıcaklık ve %65 nem içeren kontrollü şartlarda iklim dolabında (BINDER KBWF 720, Germany) bir gün karanlığa maruz bırakılarak çimlenmeleri sağlandı. Birinci günün sonunda deney aşağıdaki protokole göre kontrol ve uygulama grupları halinde düzenlenerek Hoagland (Hoagland ve Arnon, 1950) yetiştirme ortamına (24°C sıcaklık ve %65 nem ortam şartlarında BINDER KBWF 720, Germany) aktarıldılar. Beşinci gün sonunda morfometrik ölçümler için 3 farklı yetiştirmeden seçilen 50'şer örneğin kök ve sürgün boyları ölçülerek fotoğraflandı. Biyokimyasal analizler için kök ve sürgün örnekleri ayrı ayrı olmak üzere hasat edilerek sıvı azotla (-196°C) muamele edildikten sonra -80°C'de saklandı. Kontrol ve uygulama gruplarına ait uygulama ve zamanlama protokolü Tablo 2.1'de yer almaktadır.

2.2. Sürgün Su Potansiyelinin Belirlenmesi

Sürgün su potansiyeli (Ψ_w) basınç odası cihazı (Wesco, USA) kullanılarak ölçüldü. Sürgünlerin koleoptil kısımları uzaklaştırıldıktan sonra, sürgünlerin en dış yaprağından yaklaşık olarak 6 mm uzunluğunda parçalar çıkarıldıktan sonra psikometre odalarına kapatıldı ve 60 dk. sonunda ölçüm alındı. Sonuçlar MPa olarak ifade edildi.

2.3. Kök ve Sürgünlerin Mineral İçeriğinin Belirlenmesi

Mineral analizi için 95°C'de kurutulmuş her bir gruba ait 1'er g kök ve sürgün örnekleri, 4 ml H₂O₂ ve 10 ml nitrik asit (HNO₃) içinde mikrodalga çözündürme sistemi (120°C'de 10 dk., 200°C'de 10 dk.) ile çözündürüldükten sonra Cu, Cd, Hg ve Pb ICP-MS

Tablo 2.1. Kontrol ve uygulama gruplarına ait uygulama ve zamanlama protokolü

Deney grupları	0. gün Çimlendirme	1. gün Ağır metal ve NAC uygulaması	2. gün Ağır metal ve NAC uygulaması	3. gün Ağır metal ve NAC uygulaması	4. gün Ağır metal ve NAC uygulaması	5. gün
Kontrol	distile su	-	-	-	-	hasat işlemi
NAC (1 mM)	" "	NAC	NAC	NAC	NAC	" "
Cu (100 µM)	" "	Cu	Cu	Cu	Cu	" "
Cd (100 µM)	" "	Cd	Cd	Cd	Cd	" "
Hg (100 µM)	" "	Hg	Hg	Hg	Hg	" "
Pb (100 µM)	" "	Pb	Pb	Pb	Pb	" "
Cu (100 µM) + NAC (1 mM)	" "	Cu ve NAC	Cu ve NAC	Cu ve NAC	Cu ve NAC	" "
Cd (100 µM) + NAC (1 mM)	" "	Cd ve NAC	Cd ve NAC	Cd ve NAC	Cd ve NAC	" "
Hg (100 µM) + NAC (1 mM)	" "	Hg ve NAC	Hg ve NAC	Hg ve NAC	Hg ve NAC	" "
Pb (100 µM) + NAC (1 mM)	" "	Pb ve NAC	Pb ve NAC	Pb ve NAC	Pb ve NAC	" "

(Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) cihazı ile belirlendi. Metal analizi deneylerinde ultra saf su (Millipore Simplicity Ultra Saf Su Sistemi) kullanılmıştır.

2.4. Kök ve Sürgünlerde Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.4.1. Enzim Özütlerinin Hazırlanması

Beşinci günü sonunda kök ve sürgün örnekleri sıvı azot yardımıyla havanda toz haline getirildikten sonra 1 mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve polivinilpirolidon (PVP, %1) içeren fosfat tamponu (50 mM; pH 7,0) ile homojenize edildi. APX enzim ekstraksiyonu için 2 mM askorbik asit içeren fosfat tamponu kullanıldı. Elde edilen özüt +4 °C'de 20,000 rpm'de 20 dk. santrifüjlendi ve süpernatant enzim aktivitelerinin ölçülmesinde kullanıldı.

2.4.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi Dhindsa ve Matowe (1981) yöntemine göre belirlendi. SOD aktivite tayini için 0,1 mM EDTA, 13 mM metionin, 75 µM nitro blue tetrazolyum (NBT) ve 2 µM riboflavin içeren 50 mM fosfat tamponu (pH 7,0)'na 50 µl enzim özütü ilave edildi. Reaksiyon karışımına riboflavin ilave edildikten sonra karışım 16 W lamba altına yerleştirilerek reaksiyon başlatıldı. Reaksiyon 15 dk. sonra ışık kaynağı uzaklaştırılarak durduruldu. Oluşan reaksiyon ürünü 560 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometre (Thermo e-201, England)'de ölçüldü. Spesifik aktivite enzim özütündeki 1 mg protein başına ünite enzim olarak ifade edildi.

2.4.3. Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim aktivitesi, 10 mM H₂O₂ içeren 25 mM sodyum asetat (pH 5,0) tamponu ve 10 mM guaiakol içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımının 470 nm'de 1 dk. süre ile UV-Vis spektrofotometrede ölçülmesi ile belirlendi. Aktivite sonuçları, 26,6 mM⁻¹ cm⁻¹ ekstinksiyon (ε) katsayısı kullanılarak dakikada tüketilen µmol mL⁻¹ H₂O₂ olarak ifade edildi (Mika ve Lüthje, 2003).

2.4.4. Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Askorbat peroksidaz enzim aktivitesinin tayini Nakano ve Asada (1981)'nin yöntemine göre yapıldı. Reaksiyon karışımı 5 mM H₂O₂ içeren 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7,0) ve 250 µM askorbat ile enzim özütünden oluşmaktadır. Askorbatın yükseltgenmesiyle beraber absorbansta meydana gelen düşüş 3 dk boyunca 290 nm ($\epsilon = 2,8 \text{ mM cm}^{-1}$)'de UV-Vis spektrofotometrede izlendi. Bir enzim ünitesi dakikada yükseltgenen 1 mmol mL⁻¹ askorbat olarak ifade edildi.

2.4.5. Glutasyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim aktivitesi tayini 0,5 mM EDTA içeren 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 7,6), 100 µl enzim özütü, 50 mM NADPH ve 10 mM yükseltgenmiş glutasyon (GSSG) içeren reaksiyon karışımındaki GSSG miktarındaki azalmanın 3 dk. boyunca 340 nm ($\epsilon = 6,2 \text{ mM cm}^{-1}$)'de UV-Vis spektrofotometrede ölçülmesi sonucu belirlendi. Enzim aktivitesi, dakikada indirgenen 1 mmol ml⁻¹ GSSG miktarı olarak ifade edildi (Foyer ve Halliwell, 1976).

2.4.6. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesini Belirlenmesi

Katalaz enziminin tayini Aebi (1984)'nin metoduna göre belirlendi. Aktivite tayini için, 30 mM H₂O₂ içeren 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0) ve enzim özütünün bulunduğu 1 ml'lik reaksiyon karışımı 240 nm ($\epsilon = 39,4 \text{ mM cm}^{-1}$)'de 3 dk süreyle UV-Vis spektrofotometrede ölçülerek belirlendi. Bir ünitesi dakikada harcanan µmol H₂O₂ olarak ifade edildi.

2.4.7. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Monodehidroaskorbat redüktaz aktivitesi, Hossain vd., (1984)'nin metoduna göre belirlendi. Enzim aktivitesi tayini için öncelikle 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,8), 150 µM NADH, 500 µM AsA ve 100µl enzim ekstraktı içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımı 340 nm'de UV-Vis spektrofotometrede ölçüldü. Elde edilen değerler askorbat oksidaz

(AO)'ın yokluğunda elde edilen verilerden çıkarıldı. Enzim aktivitesi, NADH için 6,22 $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ϵ katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

2.4.8. Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

2.4.8.1. Enzim Özütünün Hazırlanması

Kök ve sürgün örnekleri (0,5 g) 50 mM Tris-HCl, (pH 7,4), 100 mM NaCl, 2 mM EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) ve 1 mM magnezyum klorür (MgCl_2) içeren tamponda özütlendi. Özüt +4 °C'de 15,000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant enzim aktivitesinin tayini için kullanıldı.

2.4.8.2. DHAR Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Dehidroaskorbat redüktaz aktivitesi, Hossain ve Asada (1984)'nın tanımladığı şekliyle belirlendi. Aktivitesinin belirlenmesi için 50 mM fosfat tamponu (pH 6,5), 0,5 mM dehidroaskorbik asit (DHA), 1 mM GSH ve 100 μl enzim ekstraktı içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımı UV-Vis spektrofotometrede 265 nm'de absorbanstaki artışa bağlı olarak belirlendi. Aktivite 14 $\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ϵ katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

2.5. Kök ve Sürgünlerde Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Enzim özütünün elde edilebilmesi için 1 g yaş kök ve sürgün örnekleri 2,5 ml 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 8,8) ile havan içerisinde sıvı azot kullanılarak özütlendikten sonra 30 dk 10,000 rpm'de santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanıldı.

Bir ml ekstraksiyon tamponu, 0,5 ml L-fenilalanin (Sigma, $\geq 98\%$), 0,4 ml distile su ve 0,1 ml enzim özütünden oluşan reaksiyon karışımı 37 °C'de 1 saat bekletildikten sonra, reaksiyon 0,5 ml 6M HCl eklenerek durduruldu. Reaksiyon sonucu oluşan sinamik asit 15 ml etilasetat ile ekstre edilerek alındı ve organik faz rotari evaporatör kullanılarak uzaklaştırıldı. Kalan sinamik asit 3 ml 0,05 M NaOH ile çözüldükten sonra 290 nm'de UV-Vis spektrofotometrede sinamik asit [Sigma, $\geq 98.0\%$ (HPLC)] standardına karşı

okutuldu. Aktivitenin bir ünitesi dakikada oluşan 1 μ mol sinamik asit olarak belirlendi (Wang vd., 2006).

2.6. Kök ve Sürgünlerde Protein Miktarının Belirlenmesi

Her bir enzim aktivite tayini için hazırlanan özütlerin ayrı ayrı çözünebilir protein içerikleri belirlendi. Protein tayini için 1 ml' sinde 250 μ g protein ihtiva eden standart BSA (Bovin Serum Albumin) stok çözeltisinden tüplere 20; 40; 60; 80; 100 ve 200 μ l alındı. Her bir tüpün hacmi distile su ile 200 μ l' ye tamamlandı ve tüpler vortekslendi. Üzerlerine 1 ml reaktif (Coomassie Brilliant Blue G-250, Sigma) eklendi ve tekrar vortekslendikten sonra örnek karışımları karanlıkta 15 dk. bekletildi. Süre sonunda 595 nm' de köre karşı örneklerin absorbans değerleri UV-Vis spektrofotometrede okundu ve absorbanslara karşılık gelen μ g protein değerleri belirlendi. Sulandırılan enzim özütlerinin 200 μ l' si üzerine 1 ml reaktif eklendi ve hazırlanan standarda karşılık okutuldu (Bradford, 1976).

2.7. Kök ve Sürgünlerin Toplam Fenolik Madde (TFM) İçeriğinin Belirlenmesi

2.7.1. Fenolik Madde Özütün Hazırlanması

Yaş kök ve sürgün örnekleri (1 g) %80 (v/v) metanol içerisinde 5 dk. kaynatıldı. Örnekler havanda homojen haline getirildikten sonra 10,000 rpm' de 15 dk. oda sıcaklığında santrifüjlendi. Süpernatant toplam fenolik madde, bireysel fenolik asit analizinde ve antioksidan kapasitenin belirlenmesinde kullanıldı.

2.7.2. Toplam Fenolik Madde (TFM) İçeriğinin Belirlenmesi

Toplam fenolik madde içeriği Slinkard ve Singleton (1977)' un yöntemine göre Folin-Ciocalteu (FC) ayırıcı kullanılarak belirlendi. Belirli oranlarda sulandırılmış 0,5 ml örnek üzerine 0,5 μ l distile su, 100 μ l FC ve 1,9 ml sodyum karbonat (Na_2CO_3) eklendi ve hazırlanan karışım UV-Vis spektrofotometrede 750 nm' de gallik asit standardına karşı okutuldu. Toplam fenolik madde içeriği mg GaAE/100 g örnek olarak ifade edildi.

2.8. Kök ve Sürgünlerin Fenolik Asit (FA) İçeriğinin Belirlenmesi

Fenolik asitler ACQUITY Ultra Performance LC™ system (Waters, Milford, MA, USA)'e adapte edilmiş Micromass Quattro Micro™ API bench top triple quadrupole kütle spektrometresi (Waters MS Technologies, Manchester, UK) ile belirlendi. Örnekler 30°C ters fazlı kolona (BEH C8, 1,7 µm, 2,1 × 150 mm, Waters, Milford, MA) enjekte edildi. Mobil faz sırasıyla linear gradient ve 7,5 mM HCOOH (solvent A) ile dengelenmiş solvent B (asetonitril)'nin izokratik akış'ın 9,5 dakikalık akışından oluştu. Akış hızı 250 µl dak-1: 5% B 0,8 dak, 5-10% B 0,4 dakika, izokratik 10% B 0,7 dak, 10-15% B 0,5 dk., izokratik 15% B 1,3 dak, 15-21% 0,3 dak, izokratik 21% B 1,2 dak, 21-27% B 0,5 dk., 27-50% B 2,3 dak, 50-100% B 1 dak, ve 100-5% B 0,5 dakikadır. Bu sıranın sonunda kolon 2,5 dakikada başlangıç koşullarında dengelendi. Akan maddeler negatif iyon modunda (kaynak blok sıcaklığı 100 °C, desolvasyon sıcaklığı 350 °C, kapillar voltaj 2,5 kV ve cone voltaj 25 V) elektrosprey kaynak uygulaması ile tanımlandı. Çarpışma (çarpışma enerjisi 16 eV) gazı olarak argon kullanıldı ve (500 L h-1) solventi uzaklaştırmak için azot gazı kullanıldı. Fenolik asitler 4-hidroksibenzoik (2,3,5,6-D4) ve salisilik asit (3,4,5,6-D4) döteryum işaretli iç standart olarak kullanılarak hesaplandı (Gruz et al., 2008).

2.9. Kök ve Sürgünlerin Antioksidan Kapasite (AK) Değerlerinin Belirlenmesi

2.9.1. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Temizleme Aktivitesinin Belirlenmesi

Saf metanol ile bir gece önceden hazırlanan 1 ml DPPH (1 mg/30 ml), saf metanol ile sulandırılmış 100 µl örnek üzerine eklendi ve reaksiyon karışımı 30 dk. oda sıcaklığında bekletildi. Hazırlanan örnekler 520 nm'de UV-Vis spektrofotometrede Trolox (Sigma, ≥98.0%, 0 – 200 µM) standardına karşılık ölçüldü ve içerik µmol TE g⁻¹ olarak ifade edildi (Blois, 1958).

2.9.2. FRAP (Ferrik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite) Analizi

FRAP analizleri Benzie ve Strain (1996)'nin yöntemine göre belirlendi. Asetat tamponu (300 mM, pH 3,6), 10 mM TPTZ (2,4,6-tripirydyle-s-triazine) ve 20 mM FeCl₆H₂O içeren ve 10:1:1 oranında hazırlanan stok solüsyonun 2900 µl'si 100 µl örnek

ile karıştırıldı ve 30 dk 37°C'de karanlıkta bekletildi. Reaksiyon sonucu oluşan mor renkli demir tripiridiletiazin kompleksi 593 nm'de UV-Vis spektrofotometrede ölçülerek sonuçlar $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ olarak ifade edildi.

2.9.3. CUPRAC (Kuprik İyon İndirgeme Antioksidan Kapasite) Analizi

CUPRAC'ın belirlenmesi için 1 ml özüt üzerine 1 ml 10 mM CuCl_2 , 7,5 mM neocuproine ve 1 M amonyum asetat tamponu (pH 7,0) eklendi ve son hacim distile su ile 4 ml'ye tamamlandı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 450 nm'de UV-Vis spektrofotometrede köre karşı okutularak kaydedildi. Standard olarak Trolox kullanıldı ve sonuçlar $\mu\text{M Trolox g}^{-1}$ olarak verildi (Apak vd., 2004).

2.10. Kök ve Sürgünlerin Hidrojen Peroksit (H_2O_2) İçeriğinin Belirlenmesi

Birer gram yaş kök ve sürgün örnekleri %5 (w/v) triklorasetik asit (TCA) içerisinde özütlendikten sonra +4 °C 10,000 rpm'de 30 dk. santrifüjlendi. Elde edilen özüt üzerine 500 μl %0,1 (v/v) TiCl_4 (Titanyum klorür) ilave edildi ve 410 nm'de UV-Vis spektrofotometrede reaksiyon karışımının absorpsiyon değeri alındı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1}$ taze ağırlık (TA) olarak ifade edildi (Liu vd., 2000).

2.11. Kök ve Sürgünlerin Lipid Peroksidasyonunun (LPO) Belirlenmesi

TBARS (Tiyobarbitirik Asit Reaktif Ürünleri) içeriği Madhava-Rao ve Stresty (2000)'nin metoduna göre belirlendi. Bir gram kök ve sürgün örnekleri %1 TCA içerisinde homojenize edildikten sonra homojenat 10,000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanın 1 ml'sine 4 ml %0,5 TBA (tiyobarbitirik asit) eklendikten sonra çözelti 95°C'de 30 dk inkübe edildi. Süre sonunda reaksiyonun durması için karışım buzda 10 dk bekletildi ve 10,000 g de 5 dk. 25 °C'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanın UV-Vis spektrofotometrede 520 nm'de ölçüldü ve TBARS konsantrasyonu MDA'nın 155 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ yok olma katsayısı kullanılarak belirlendi.

2.12. Kök ve Sürgünlerin Glutasyon (GSH) İçeriğinin Belirlenmesi

Taze 0,5 g kök ve sürgün örnekleri 1 mM EDTA içeren %5'lik metafosforik asit içinde homojenize ettikten sonra homojenat 10,000 rpm'de 15 dk. santrifüjlendi. Elde edilen süpernatanın 25 μ l'si üzerine 250 mM K_2HPO_4 , 200 μ M NADPH, 600 μ M DTNB, 0,3 U glutasyon redüktaz içeren karışıma son hacim 1 ml olacak şekilde eklendi. Absorbans değişimi UV-Vis spektrofotometrede 412 nm'de 3 dakika boyunca ölçüldü ve ölçüm sonucu GSH + GSSG miktarı elde edildi. Glutasyon konsantrasyonu 0-5 μ M konsantrasyonlarda GSH'ın (Sigma, United States Pharmacopeia (USP) Reference Standard) kullanılmasıyla elde edilen standard grafik üzerinden hesaplandı. Sonuçlar μ mol/ 100 g⁻¹ TA olarak ifade edildi (Griffith, 1980)

2.13. Kök ve Sürgünlerin Prolin (pro) İçeriğinin Belirlenmesi

Prolin içeriği Bates vd. (1973)'in tanımladığı yöntemle göre belirlendi. Kuru kök ve sürgün örnekleri (0,1 g) 10 ml sülfosalisilik asit içerisinde (%3 v/w) özütlendikten sonra 5,000 rpm'de 5 dk santrifüjlendi. Elde edilen süpernatanttan 1 ml alındıktan sonra üzerine 1 ml glasiyal asetik asit ve 1 ml ninhidrin eklendi. Reaksiyon karışımı 1 saat 100°C etüvde bekletildikten sonra 10 dk buza alınarak reaksiyon sonlandırıldı. Soğuyan örnek üzerine 3 ml toluen eklendikten sonra karışım UV-Vis spektrofotometrede 520 nm'de prolin (Sigma, \geq 99%) standardına karşı okutuldu ve sonuçlar μ g/g kuru ağırlık olarak ifade edildi.

2.14. Kök ve Sürgünlerin Sistein (cys) İçeriğinin Belirlenmesi

Kök ve sürgünlerin sistein içeriği Gaitonde (1967)'nin fotometrik yöntemine göre belirlendi. Tris-HCl tamponu (20 mM, pH 8,0) ile özütlenen 1'er g taze örnek 10 s sonikatörde bekletildikten sonra 10,000 rpm'de 10 dk. santrifüjlendi. Süpernatanın 60 μ l'si üzerine 60 μ l 50 mM DTT (1,4-dithiothreitol) eklendi ve reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 15 dk. bekletildi. Süre sonunda çözelti üzerine 120 μ l asetik asit, 120 μ l asit-ninhidrin çözeltisi eklenerek 95 °C'de 10 dk bekletilen karışım üzerine 840 μ l soğuk etanol eklendi. Sistein içeriği reaksiyon karışımının UV-Vis spektrofotometrede 560 nm'de sistein standardına karşı okutulmuş olarak belirlendi ve sonuçlar nmol 100 g⁻¹ TA olarak ifade edildi.

2.15. Kök ve Sürgünlerin Poliamin İçeriğinin Belirlenmesi

Serbest poliaminler Hwang vd. (1979) ve Petşivalsky vd. (2007)'nin yönetimine göre belirlenmiştir. Kurutulmuş 150 mg örnek sıvı azot ile pulvarize edildikten sonra %5 (v/w) trikloroasetik asit ile özütlendi ve benzoil klorür ile türevlendirildi. Standard çözelti olarak putresin, spermidin ve spermin kullanıldı. Örnekler dietileter ile ekstrakte edildi ve örneklerin sıvı kısmı 50 °C'de azot altında uçurularak kurutuldu. Kuruyan örnekler HPLC'nin 120 µl mobil fazda çözüldü. Pump 1000 eklenmiş Knauer Smartline-Manager HPLC, PDA detector 2800, Autosampler, and a GraceSmart™ RP 18 kolon (5 µm particles; 4,6 x 250 mm) kullanılarak örnekler analiz edildi. Mobil faz solvent A (su) and solvent B (metanol) içermektedir ve gradiyent akış %55-70 B 20 dk., %70 B 5 dk., %70-55 B 1 dk. ve son olarak 10 dk başlangıç koşulları şeklindedir. Kolon sıcaklığı 40 °C, ve akış 0.8 ml/dk. şeklindedir.

2.16. Kök ve Sürgünlerin Çözünabilir Şeker İçeriğinin Belirlenmesi

Şeker analizi için buğday fidelerine ait 2 g kök ve sürgün örneği Güney vd. (2013)'e göre özütlendi. Analizler; Refraktif İndeks Dedektörü (RID), dörtlü bir HPLC pompası, mikro vakum degazörü (MVD), UV/VIS dedektör, termostatik kolon bölmesi (TTC) ve standart mikro ve hazırlayıcı oto örnekleyici ile donatılmış bir Agilent 1100 HPLC (Palo, Alto, CA, USA) ile yapıldı. Kolon sıcaklığı 25 °C olan Nükleosil C18 karbohidrat analitik kolon (250 x 4,0 mm iç çap, 10 µm parçacık boyutu) kullanıldı. İzokratik elüsyon için akış hızı 2 ml/dk.'ya ayarlandı ve mobil faz olarak asetonitril:su (79:21) kullanıldı. Tüm şekerlerin standard kalibrasyon eğrileri her bir şeker için (glukoz, fruktoz, sükroz) kendi standardının alıkonma zamanı ile karşılaştırılarak hesaplandı. HP ChemStation (Hewlett-Packard, Palo, Alto, CA, USA) yazılımı pik alanlarını hesaplamak için kullanıldı. Toplam şeker içeriği, tanımlanan bireysel şekerlerin toplamı şeklinde ifade edildi.

2.17. Kök ve Sürgünlerin Organik Asit İçeriğinin Belirlenmesi

Organik asit ekstraksiyonu Ayaz vd. (2011)'e göre yapıldı. Analizler şeker analizinde olduğu gibi; Refraktif İndeks Dedektörü (RID), dörtlü bir HPLC pompası, mikro vakum degazörü (MVD), UV/VIS dedektör, termostatik kolon bölmesi (TTC),

standart mikro ve hazırlayıcı oto örnekleyici ile donatılmış bir Agilent 1100 HPLC (Palo, Alto, CA, USA) kullanılarak yapıldı. Analizler için kolon sıcaklığı 25 °C’de olan bir Ace 5 C18 (Advanced Chromatography Technologies, Aberdeen, Scotland) kolonu (25 cm x 4,6 mm iç çap, 10 µm parçacık boyutu) kullanıldı. Mobil faz olarak potasyum fosfat çözeltisi (0,02 M, pH 2,04), akış hızı dakikada 0,8 ml olacak şekilde ayarlandı. Dedektör olarak 254 nm’ye ayarlanmış HP 1100 Serisi çok değişkenli dalga dedektörü kullanıldı. Standard solüsyonların kalibrasyon eğrileri her bir organik asit için (malik asit, askorbik asit, sitrik asit) kendi standartlarının alıkonma zamanları karşılaştırılarak hesaplandı. HP ChemStation (Hewlett- Packord, Palo, Alto, CA, USA) yazılımı pik alanlarını hesaplamak için kullanıldı. Toplam organik asit içeriği, tanımlanan bireysel organik asitlerin toplamı şeklinde ifade edildi.

2.18. İstatistiksel Analizler

Bütün analizler üç ($n = 3$) tekerrürlü olarak yapılmış ve sonuçlar aritmetik ortalama \pm standard hata (SEM) olarak verilmiştir. Elde edilen veriler Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows 10,0) paket programı içerisinde yer alan tek-yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile analiz edilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak $P < 0,05$ önemlilik derecesinde belirlenmiştir.

3. BULGULAR

Bu çalışmada ağır metal ve NAC uygulamalarının, buğday fidelerinin kök ve sürgününe ait morfometrik ölçümlere (uzunluk, taze ve kuru ağırlık), ağır metal içeriğine, sürgün su potansiyeline, antioksidan enzim aktivitelerine (POX, CAT, SOD, APX, GR, MDHAR, DHAR), PAL aktivitesine, TFM içeriğine, antioksidan kapasite (DPPH, FRAP ve CUPRAC) değerlerine, H₂O₂ içeriğine, fenolik asit içeriğine, toplam GSH, sistein ve prolin içeriğine, TBARS eşdeğerine, poliamin, şeker ve organik asit içeriğine olan etkileri belirlenmiştir.

3.1. Ağır Metal ve NAC Uygulaması Yapılan Buğday Bitkisinin Kök ve Sürgünlerine Ait Büyüme Parametreleri

Ağır metal (100 µM Cu, Cd, Hg ve Pb) ve NAC (1 mM) uygulamalarına maruz bırakılmış çimlenen Ceyhan-99 buğday çeşidinin kök ve sürgün uzunluğu, taze ve kuru ağırlık değerleri Tablo 3.1 de gösterilmiştir.

Ağır metal uygulanan gruptaki bitkilerin kök uzunluğu kontrol grubuna kıyasla (10,34 cm) istatistiksel olarak önemli derecede ($P < 0,05$) azalma (ortalama 2,06 cm) göstermiştir. Aynı gruplarda kök taze ve kuru ağırlıkları kök uzunluklarına benzer şekilde azalmış ve en fazla düşüşün Cu uygulanan grupta (sırasıyla 6,30 ve 0,95 mg) olduğu belirlenmiştir.

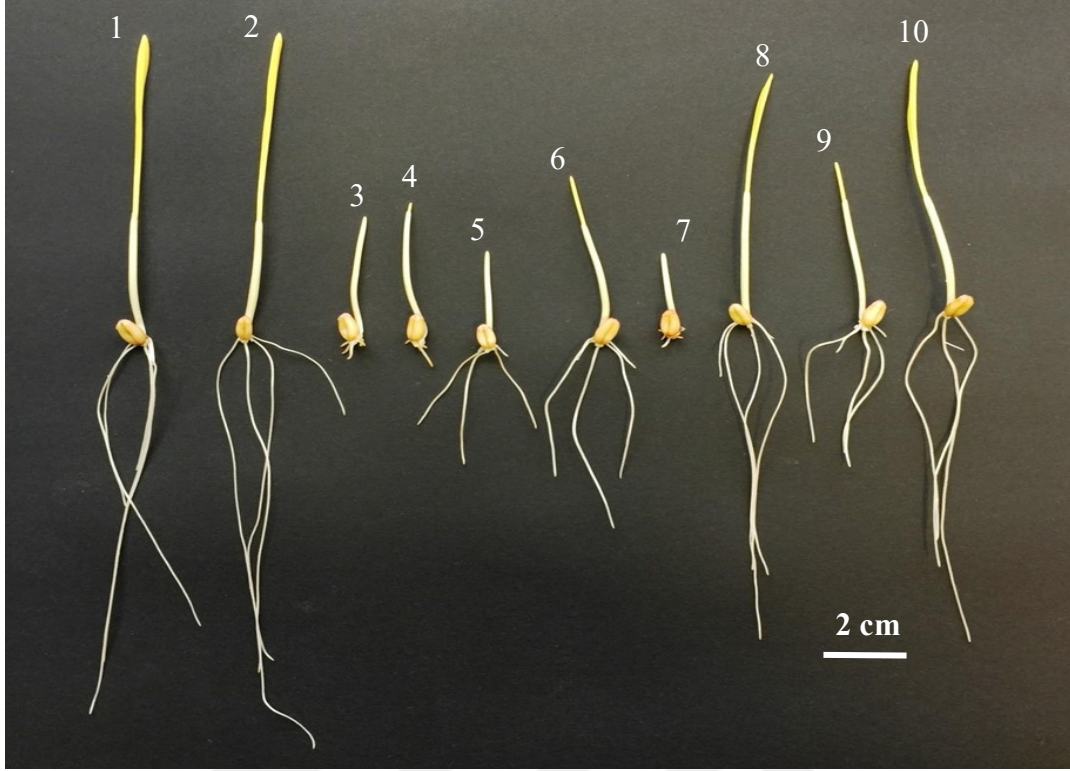
Ağır metaller ile birlikte yapılan NAC uygulaması kök uzunluğunu, taze ve kuru ağırlığını tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) artırmıştır. Kök uzunluğu ve kuru ağırlık artışı en fazla Hg + NAC uygulama grubunda (sırasıyla 8,96 cm ve 2,98 mg) belirlenirken, taze ağırlık artışı ise en fazla Pb + NAC (33,85 mg) uygulama grubunda belirlenmiştir.

Şekil 3.1'de kontrol, ağır metal ve NAC uygulama gruplarına ait morfolojik görünüm yer almaktadır. Bu fotoğrafta ağır metal uygulamalarının hem kök hemde sürgün boylarında kontrol grubuna kıyasla bir azalmaya neden olduğu ve NAC uygulanan gruplarda ise bu azalma durumunun iyileştiği ve kök ve sürgün boylarının, Cu + NAC hariç diğer gruplarda arttığı açıkça görülmektedir.

Tablo 3.1. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgün uzunluğuna, taze ağırlık ve kuru ağırlığına olan etkisi. Her değer ortalama \pm standard hata olarak belirtilmiştir (n = 3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

Kök			
Uygulamalar	Uzunluk (cm)	Taze ağırlık (mg)	Kuru ağırlık (mg)
Kontrol	10,34 \pm 0,12 ^h	31,33 \pm 0,75 ^g	3,00 \pm 0,14 ^f
NAC	10,40 \pm 0,19 ^h	36,35 \pm 1,80 ⁱ	3,25 \pm 0,13 ^g
Cu	1,10 \pm 0,09 ^{ab}	6,17 \pm 0,48 ^a	0,95 \pm 0,06 ^a
Cd	2,57 \pm 0,41 ^c	13,90 \pm 1,92 ^c	1,50 \pm 0,29 ^c
Hg	0,85 \pm 0,06 ^a	6,77 \pm 0,20 ^{ab}	1,18 \pm 0,05 ^b
Pb	3,70 \pm 0,23 ^d	24,40 \pm 0,58 ^e	2,48 \pm 0,05 ^e
NAC + Cu	1,24 \pm 0,03 ^b	8,16 \pm 0,75 ^b	1,20 \pm 0,08 ^b
NAC + Cd	4,10 \pm 0,26 ^e	20,23 \pm 1,44 ^d	2,18 \pm 0,22 ^d
NAC + Hg	8,96 \pm 0,36 ^g	29,23 \pm 1,25 ^f	2,98 \pm 0,17 ^f
NAC + Pb	7,18 \pm 0,10 ^f	33,85 \pm 1,10 ^h	2,90 \pm 0,01 ^f
Sürgün			
Kontrol	9,34 \pm 0,12 ^g	68,70 \pm 1,00 ^g	8,55 \pm 0,48 ^g
NAC	9,36 \pm 0,12 ^g	69,22 \pm 2,68 ^g	8,95 \pm 0,31 ^g
Cu	4,35 \pm 0,19 ^c	40,87 \pm 1,03 ^d	5,40 \pm 0,08 ^c
Cd	2,87 \pm 0,24 ^b	27,45 \pm 1,86 ^b	4,38 \pm 0,52 ^b
Hg	2,22 \pm 0,34 ^a	21,95 \pm 1,34 ^a	3,33 \pm 0,42 ^a
Pb	6,40 \pm 0,10 ^e	45,30 \pm 0,12 ^e	6,70 \pm 0,01 ^e
NAC + Cu	5,41 \pm 0,52 ^d	44,03 \pm 0,66 ^e	5,91 \pm 0,14 ^d
NAC + Cd	5,14 \pm 0,36 ^d	37,15 \pm 0,68 ^c	5,53 \pm 0,39 ^{cd}
NAC + Hg	8,64 \pm 0,47 ^f	59,83 \pm 1,06 ^f	7,70 \pm 0,27 ^f
NAC + Pb	8,79 \pm 0,11 ^f	58,00 \pm 0,69 ^f	7,85 \pm 0,06 ^f

Çalışmada kullanılan buğday çeşidinin sürgün uzunluğu ağır metal uygulama grubunda kontrol grubuna kıyasla (9,34 cm) istatistiksel olarak önemli derecede azalma göstermiş ve en fazla düşüş Hg uygulama grubunda (2,22 cm) belirlenmiştir. Ağır metal gruplarının sürgünlerine ait taze ve kuru ağırlıklarda da uzunluklarına benzer şekilde istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) azalma kaydedilmiş ve en fazla düşüşün yine Hg grubunda (sırasıyla 21,95 ve 3,33 mg) olduğu belirlenmiştir. Ağır metaller ile birlikte NAC uygulamasının, sürgünlerin uzunluk, taze ve kuru ağırlıklarında yalnızca metal uygulamalarına göre istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) artışlara neden olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Ceyhan-99 buğday çeşidinin ağır metal ve NAC uygulama gruplarına ait morfolojik görünüm. Gruplar soldan sağa: 1-Kontrol, 2-NAC, 3-Cu, 4-Cu + NAC, 5-Cd, 6-Cd + NAC, 7-Hg, 8-Hg + NAC, 9-Pb, 10-Pb + NAC

3.2. Ağır Metal ve NAC Uygulaması Yapılan Buğday Bitkisinin Kök ve Sürgünlerinin Ağır Metal İçeriği

Kontrol, ağır metal ve NAC uygulama koşullarında büyütülen buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde ağır metal içeriği Tablo 3.2 de verilmiştir.

Ağır metal içeriği sonuçları değerlendirildiğinde uygulanan tüm ağır metallerin (Cu, Cd, Hg ve Pb) bitkilerin kökleri tarafından su kültürü ortamından alındıkları ve aynı zamanda sürgünlere de yüksek miktarlarda iletdikleri belirlenmiştir. Kontrol grubuna ait fidelerde Cu miktarı kök ve sürgünlerde sırasıyla 1,69 ve 0,80 mg 100 g⁻¹ olarak belirlenmiş, Cu uygulaması ile bu içerik 69,64 ve 1,59 mg 100 g⁻¹'a yükselmiş ve sonrasında NAC uygulaması ile 53,72 ve 1,34 mg 100 g⁻¹'a azalmıştır. Kontrol grubuna ait fidelerin kök ve sürgünlerinde Cd içeriği sırasıyla 0,06 ve 0,01 mg 100 g⁻¹ olarak tespit edilmiş, Cd uygulaması ile bu içerik kök ve sürgünlerde sırasıyla 20,50 ve 1,66 mg 100 g⁻¹'a yükselmiş, NAC uygulaması ile bu içerik yalnızca Cd uygulanan gruba kıyasla (sırasıyla 14,42 ve 0,97 mg 100 g⁻¹) azalmıştır.

Buğday fidelerinin kontrol grubunda kök ve sürgünlerinde 0,13 ve 0,04 mg 100 g⁻¹ olan Hg miktarı Hg grubunda sırasıyla 36,10 ve 0,92 mg 100 g⁻¹'a yükselmiş ve NAC uygulaması ile bu miktar kök ve sürgünlerde sırasıyla 9,10 ve 0,12 mg 100 g⁻¹ olarak belirlenmiştir. Kök ve sürgünlerin kontrol grubunun Pb içeriği 0,10 ve 0,02 mg 100 g⁻¹ olarak tespit edilmiş, Pb uygulaması ile içerik sırasıyla 62,35 ve 1,72 mg 100 g⁻¹'a kadar yükselmiş ve Pb miktarı NAC uygulaması ile yalnızca Pb uygulanan gruba kıyasla (sırasıyla 57,32 ve 1,15 mg 100 g⁻¹) düşmüştür.

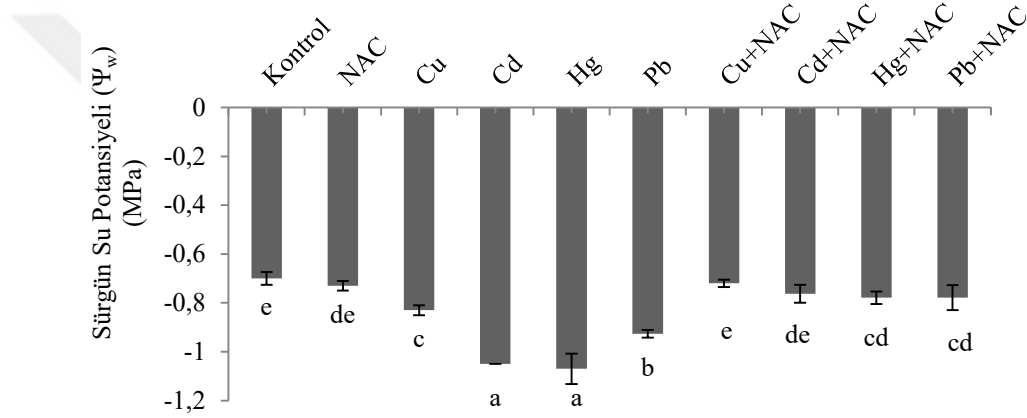
Tablo 3.2. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde ağır metal içeriğine olan etkisi. Her değer ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında P < 0,05 seviyesinde fark yoktur.

Kök (mg 100 g ⁻¹)				
Uygulamalar	Cu	Cd	Hg	Pb
Kontrol	1,69 \pm 0,03 ^a	0,06 \pm 0,00 ^a	0,13 \pm 0,00 ^a	0,10 \pm 0,00 ^a
NAC	1,38 \pm 0,06 ^a	0,07 \pm 0,00 ^a	0,05 \pm 0,00 ^a	0,06 \pm 0,01 ^a
Cu	69,64 \pm 2,55 ^c	0,01 \pm 0,00 ^a	0,57 \pm 0,03 ^a	0,09 \pm 0,00 ^a
Cd	1,98 \pm 0,06 ^a	20,50 \pm 0,03 ^c	0,01 \pm 0,00 ^a	0,09 \pm 0,01 ^a
Hg	0,76 \pm 0,02 ^a	0,06 \pm 0,00 ^a	36,10 \pm 0,22 ^c	0,04 \pm 0,00 ^a
Pb	0,85 \pm 0,01 ^a	0,03 \pm 0,01 ^a	0,38 \pm 0,01 ^a	62,35 \pm 0,48 ^c
Cu + NAC	53,72 \pm 0,37 ^b	0,01 \pm 0,00 ^a	0,81 \pm 0,04 ^a	0,12 \pm 0,02 ^a
Cd + NAC	0,97 \pm 0,19 ^a	14,42 \pm 0,18 ^b	0,21 \pm 0,01 ^a	0,07 \pm 0,00 ^a
Hg + NAC	0,76 \pm 0,02 ^a	0,03 \pm 0,00 ^a	9,10 \pm 0,15 ^b	0,15 \pm 0,02 ^a
Pb + NAC	0,53 \pm 0,01 ^a	0,03 \pm 0,01 ^a	0,81 \pm 0,01 ^a	57,32 \pm 1,35 ^b
Sürgün (mg 100 g ⁻¹)				
Kontrol	0,80 \pm 0,02 ^f	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a	0,02 \pm 0,00 ^a
NAC	0,59 \pm 0,01 ^b	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a
Cu	1,59 \pm 0,08 ^h	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a	0,04 \pm 0,00 ^a
Cd	0,74 \pm 0,02 ^e	1,66 \pm 0,07 ^c	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a
Hg	0,65 \pm 0,01 ^{cd}	0,01 \pm 0,00 ^a	0,92 \pm 0,02 ^c	0,01 \pm 0,00 ^a
Pb	0,69 \pm 0,01 ^{de}	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a	1,72 \pm 0,06 ^c
Cu + NAC	1,34 \pm 0,06 ^g	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a
Cd + NAC	0,61 \pm 0,03 ^{bc}	0,97 \pm 0,01 ^b	0,00 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a
Hg + NAC	0,43 \pm 0,01 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a	0,12 \pm 0,01 ^b	0,03 \pm 0,00 ^a
Pb + NAC	0,65 \pm 0,01 ^d	0,01 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,00 ^a	1,15 \pm 0,02 ^b

3.3. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Sürgünlerinde Su Potansiyeline (Ψ_w) Olan Etkisi

Buğday çeşidinin sürgünlerine ait su potansiyel (Ψ_w) sonuçları Şekil 3.2'de verilmektedir.

Ağır metal uygulaması yapılan fidelerin sürgünlerinde su potansiyeli (-0,83 ila -1,07 MPa arasında değişmektedir) kontrol grubuna kıyasla (-0,70 MPa) daha düşük olduğu belirlenmiş ve en fazla düşüş Hg uygulanan grupta olduğu belirlenmiştir. Sürgün su potansiyeli NAC uygulaması yapılan ağır metal gruplarında, yalnızca ağır metal uygulaması yapılan gruplara göre istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) artış ($\bar{x} = -0,78$ MPa) göstermiştir.



Şekil 3.2. Kontrol, ağır metal ve NAC uygulama koşullarında büyütülen buğday fidelerinin sürgünlerinde su potansiyeli değişimi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

3.4. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

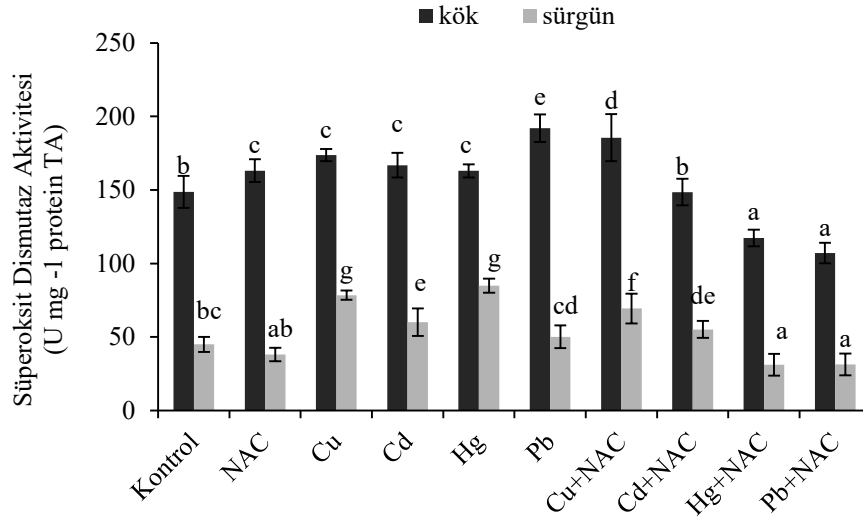
3.4.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Değişimi

Ağır metal ve NAC uygulama koşullarında buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde SOD enzimi aktivitesindeki değişim Şekil 3.3'de gösterilmiştir.

Köklerde, tüm ağır metal uygulamalarında SOD enzimi aktivitesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) artış belirlenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla (148,79 U mg^{-1} protein) en yüksek artış Pb uygulama grubunda (192,04 U mg^{-1} protein) olduğu tespit

edilmiştir. Stres koşullarında Cu + NAC uygulama grubunda (185,56 U mg⁻¹ protein) kontrol ve Cu uygulama grubuna (173,76 U mg⁻¹ protein) kıyasla enzim aktivitesinde artış belirlenirken, Hg + NAC ve Pb + NAC uygulama gruplarında (sırasıyla 117,38 ve 107,08 U mg⁻¹ protein) ise enzim aktivitesinde kontrol ve ağır metal gruplarına göre istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) düşüş belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan buğday çeşidinin sürgünlerinde de köklerde olduğu gibi ağır metal uygulamalarının SOD enzimi aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla önemli derecede ($P < 0,05$) artışa neden olduğu belirlenmiştir. En fazla enzim aktivite artışı Hg uygulama koşullarında (1,9 kat artış) kaydedilmiştir. Enzim aktivitesinde Cu + NAC ve Cd + NAC uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış (sırasıyla 69,32 ve 55,08 U mg⁻¹ protein) gözlenirken Hg + NAC ve Pb + NAC uygulama gruplarında azalma (sırasıyla 31,11 ve 31,24 U mg⁻¹ protein) tespit edilmiştir.



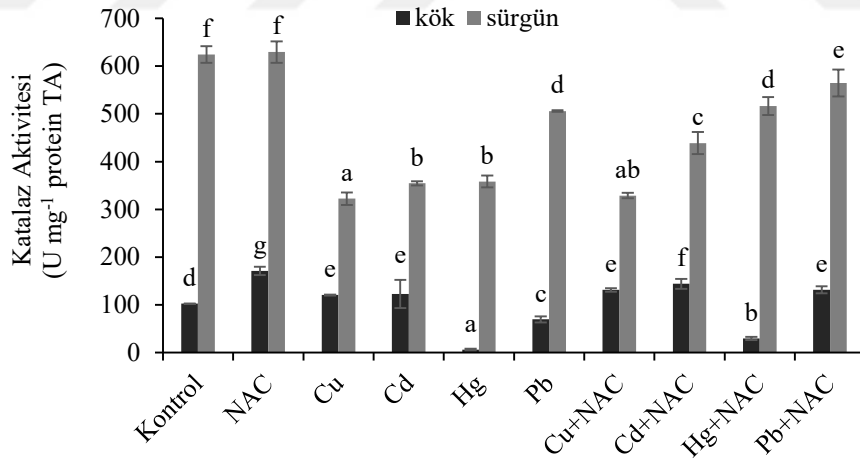
Şekil 3.3. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde SOD enzim aktivitesine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

3.4.2. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi Değişimi

Kontrol, ağır metal stresi ve NAC uygulamalarında katalaz enzim aktivitesindeki değişimler Şekil 3.4'te verilmiştir.

Katalaz aktivitesi ekmeçlik buğday çeşidine ait fidelerin köklerinde Cu (120,40 ve 122,73 U mg⁻¹ protein) ve Cd uygulanması ile kontrol grubuna (102,21 U mg⁻¹ protein) kıyasla istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde artış sağlarken, Hg ve Pb uygulanması (sırasıyla 5,68 ve 69,45 U mg⁻¹ protein) aktivitede belirgin bir azalma sergilemiştir. Aynı ağır metal grubuna NAC uygulandığında Cu, Cd ve Pb gruplarında CAT aktivitesi kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde artış gösterirken aksine Hg + NAC grubunda 3,5 kat azalma tespit edilmiştir.

Sürgünlerde CAT aktivitesi, yalnızca ağır metal uygulanan (322,26 ile 505,91 U mg⁻¹ protein arasında) ve ağır metal ile birlikte NAC uygulanan gruplarda (328,85 ve 564,89 U mg⁻¹ protein arasında) kontrol grubuna kıyasla (625,34 U mg⁻¹ protein) önemli derecede ($P < 0,05$) azalma belirlenmiştir.

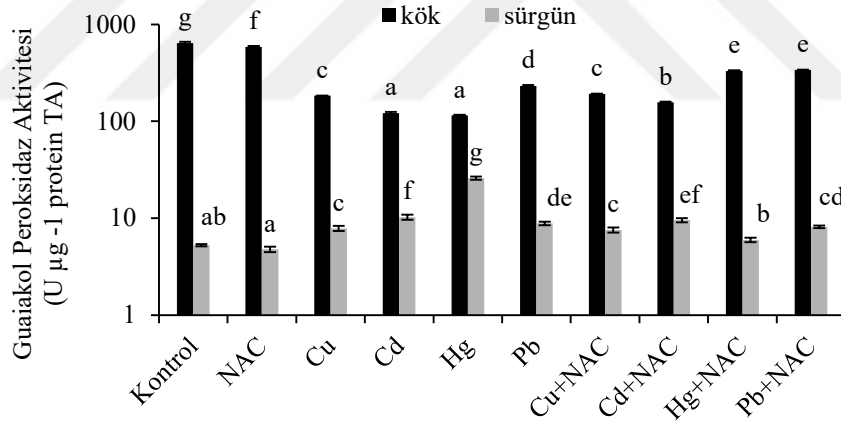


Şekil 3.4. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde CAT enzim aktivitesine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

3.4.3. Guaiakol Peroksidaz (POX) Enzim Aktivitesi Değişimi

Ağır metal stresine maruz bırakılan buğday köklerinde POX aktivitesi tüm ağır metal uygulanan gruplarda kontrol grubuna ($643,45 \text{ U } \mu\text{g}^{-1} \text{ protein}$) kıyasla istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde azalma göstermiştir (en fazla Cd ve Hg, sırasıyla $121,67$ ve $115,33 \text{ U } \mu\text{g}^{-1} \text{ protein}$). POX aktivitesi NAC uygulanan ağır metal gruplarında $157,20$ ile $338,53 \text{ U } \mu\text{g}^{-1} \text{ protein}$ arasında değiştiği ve ağır metal uygulanan gruplarda arttığı ve belirlenmiştir (Şekil 3.5).

Buğday köklerininine kıyasla sürgünlerde daha düşük POX aktivitesi belirlenmiştir. Ağır metal stresi uygulanan deney gruplarında sürgünlerin POX aktivitesi köklerinin aksine kontrol grubuna ($5,27 \text{ U } \mu\text{g}^{-1} \text{ protein}$) kıyasla artış göstermiş ve en yüksek POX aktivitesi Hg uygulama grubunda ($25,94 \text{ U } \mu\text{g}^{-1} \text{ protein}$) belirlenmiştir. Aynı şekilde NAC + ağır metal uygulama gruplarında da POX aktivitesi kontrol grubu bitkilerininine kıyasla istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) derecede artış kaydedilmiştir.

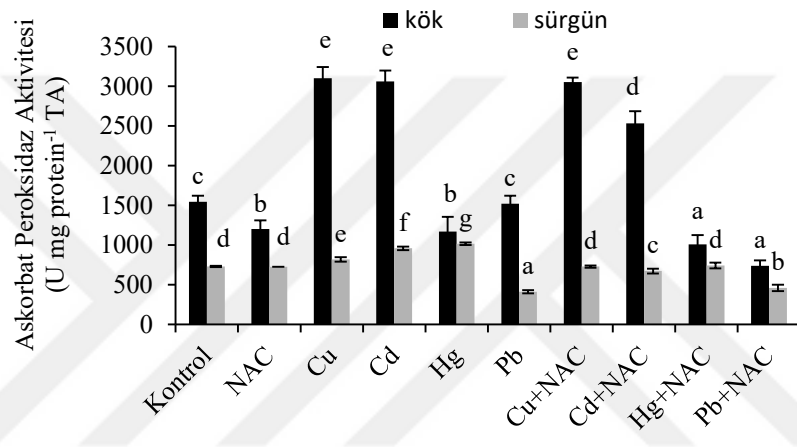


Şekil 3.5. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde POX enzim aktivitesine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir ($n=3$). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

3.4.4. Askorbat Peroksidaz (APX) Enzim Aktivitesi Değişimi

Ağır metal ve NAC uygulamalarına maruz bırakılan ekmeklik buğday çeşidine ait kök ve sürgünlerindeki APX enzim aktivitesindeki değişimler Şekil 3.6'te verilmiştir.

Kök uygulama gruplarına ait APX aktivitesi, Cu ve Cd uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla ($1544,93 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) yaklaşık olarak 2 katlık bir artış göstermiştir. Benzer şekilde Cu + NAC (2 kat) ve Cd + NAC (1,6 kat) uygulama gruplarında da APX aktivitesinde istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde artış kaydedilmiştir. Sürgünlere ait APX aktivitesi Cd ve Hg uygulama gruplarında ($958,37$ ve $1016,09 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) kontrol grubuna ($729,37 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) kıyasla artış göstermiştir. Yalnızca Pb ve Pb + NAC uygulaması yapılan uygulama gruplarında APX aktivitesinde bir azalma (sırasıyla $413,1$ ve $460,09 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) belirlenmiştir.



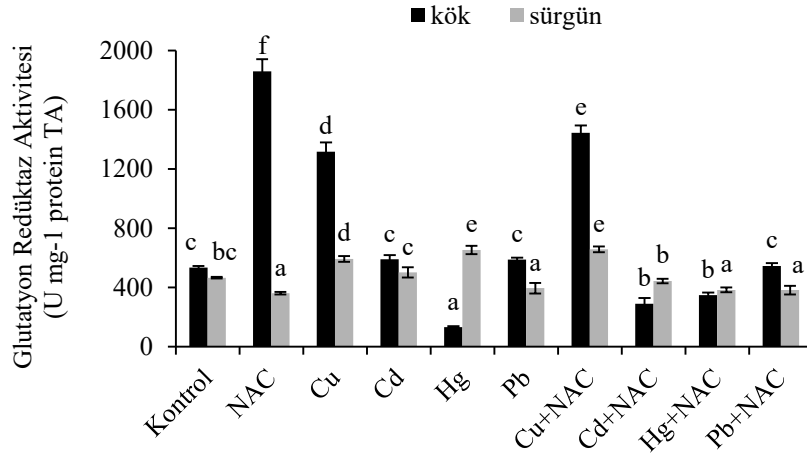
Şekil 3.6. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde APX enzim aktivitesine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir ($n=3$). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

3.4.5. Glutatyon Redüktaz (GR) Enzim Aktivitesi Değişimi

Ceyhan-99 ekmeklik buğday çeşidinin kök ve sürgünlerinde ağır metal ve NAC uygulamalarına bağlı olarak değişen GR aktivitesi Şekil 3.7' de gösterilmiştir.

Köklerde GR aktivitesi, Cu uygulaması ile kontrol grubuna ($533,20 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) kıyasla 2,5 kat bir artış gösterirken, Hg uygulaması ($132,75 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) ile istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde azalma belirlenmiştir. GR aktivitesi kontrol grubu bitkilerine kıyasla Cu + NAC uygulanan grupta 2,7 kat oranında bir artış gösterirken, Cd + NAC ve Hg + NAC uygulanan gruplarda ise (sırasıyla $290,45$ ve $348,99 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) azalma tespit edilmiştir.

Sürgünlere ait GR aktivitesinin, kontrol grubuna kıyasla ($466,12 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) Pb grubunda azaldığı ($394,97 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$), diğer ağır metal gruplarında ise arttığı kaydedilmiştir. En yüksek GR aktivitesi Hg uygulama grubunda ($653,98 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) kaydedilmiştir. GR aktivitesi ağır metal + NAC uygulama grupları arasında kontrol grubuna kıyasla yalnızca Cu + NAC uygulaması ile ($657,23 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) artmıştır.



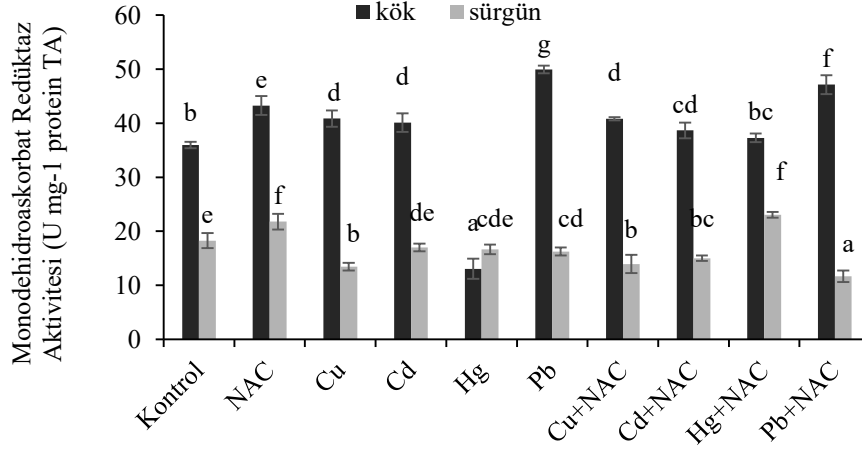
Şekil 3.7. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde GR enzim aktivitesine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir ($n=3$). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

3.4.6. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR) Enzim Aktivitesi Değişimi

Çalışmada kullanılan buğday bitkisinin kök ve sürgünlerinde ağır metal ve NAC uygulamalarına bağlı olarak MDHAR enzim aktivitesindeki değişimler Şekil 3.8'de gösterilmiştir.

MDHAR aktivitesi buğday köklerinde Cu ($40,86 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$), Cd ($40,10 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) ve Pb ($49,94 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) uygulaması yapılan ağır metal stres gruplarında kontrol grubuna kıyasla ($35,97 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde bir artış kaydedilmiştir. Fakat Hg uygulamasında kontrol grubuna kıyasla 2,8 katlık bir azalma belirlenmiştir. Tüm ağır metal + NAC uygulama gruplarında, MDHAR aktivitesinde kontrol grubuyla kıyaslandığında ($47,14 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$), istatistiksel olarak önemli derecede ($P < 0,05$) kabul edilebilecek artış ($37,28 - 47,14 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$ arasında değişmektedir) tespit edilmiştir.

Çalışmada kullanılan buğday çeşidine ait sürgünlerin MDHAR aktivitesinde, ağır metal uygulama gruplarında (13,45 – 16,97 U mg⁻¹ protein arasında değişmektedir) kontrol grubuna kıyasla (18,26 U mg⁻¹ protein) azalma belirlenmiştir. MDHAR aktivitesi yalnızca Hg + NAC uygulama grubunda (23,02 U mg⁻¹ protein) kontrol grubuna kıyasla artış kaydedilmiştir.



Şekil 3.8. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde MDHAR enzim aktivitesine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

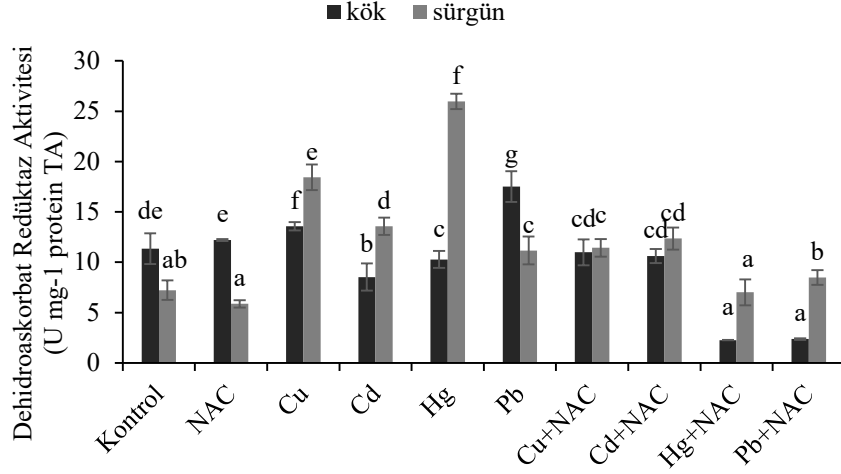
3.4.7. Dehidroaskorbat Redüktaz (DHAR) Enzim Aktivitesi Değişimi

Kök ve sürgünlerde, ağır metal ve NAC uygulamasının DHAR enzim aktivitesinde neden olduğu değişimler Şekil 3.9’de gösterilmiştir.

DHAR enzim aktivitesi, Cu ve Pb ağır metal uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla (11,35 U mg⁻¹ protein) artış (sırasıyla 13,54 ve 17,52 U mg⁻¹ protein), aksine Cd ve Hg uygulamasında (sırasıyla 8,53 ve 10,28 U mg⁻¹ protein) azalma gösterdiği belirlenmiştir. Ağır metal gruplarına NAC uygulandığında ise DHAR aktivitesinin Hg ve Pb uygulama gruplarında (ortalama 2,30 U mg⁻¹ protein) kontrol grubuna kıyasla azalma gösterdiği kaydedilmiştir.

Sürgünlerde ağır metal uygulamasının tüm uygulama gruplarında DHAR aktivitesinin kontrollerine kıyasla istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde artırdığı,

ve aktivite artışının en fazla 3,6 kat ile Hg grubunda olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubuna ait sürgünlerle kıyaslandığında, ağır metal + NAC grupları arasında yalnızca Cu + NAC ve Cd + NAC uygulama gruplarında (sırasıyla 11,43 ve 12,36 U mg⁻¹ protein) DHAR aktivitesinde artış belirlenmiştir.



Şekil 3.9. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde DHAR enzim aktivitesine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında P < 0,05 seviyesinde fark yoktur.

3.5. Ağır Metal ve NAC Uygulanan Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinin Toplam Fenolik Madde (TFM) İçeriği ve Fenil Alanin Amonyum Liyaz (PAL) Aktivitesi

Ağır metal ve NAC uygulanan Ceyhan-99 buğday çeşidine ait kök ve sürgünlerin toplam fenolik madde içerikleri Tablo 3.3'te verilmiştir.

Çalışmada seçilen ağır metaller ile muamele edilen buğday fidelerinin köklerinde TFM içeriği kontrol grubuna kıyasla (22,13 mg 100 g⁻¹) istatistiksel olarak önemli (P < 0,05) düzeyde arttığı saptanmıştır. TFM içeriği ağır metal uygulanan gruplarda 46,79 – 86,88 mg 100 g⁻¹ arasında olduğu ve en yüksek artışın Cd uygulanan grupta (86,88 mg 100 g⁻¹) olduğu tespit edilmiştir. Yalnızca NAC uygulanan kontrol grubunda TFM içeriği (34,81 mg 100 g⁻¹) hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, ağır metal uygulanan gruplarda NAC uygulamasının yapılması ile TFM içeriği [39,19 (Pb + NAC) – 70,97 mg 100 g⁻¹ (Cd + NAC)] kontrol

grubuna kıyasla artış gösterdiği, ancak ağır metal uygulanan gruplara kıyasla azaldığı kaydedilmiştir.

Uygulama yapılmayan buğday fidelerine ait sürgünlerde TFM içeriği 82,94 mg 100 g⁻¹ ve yalnızca NAC uygulamasının yapıldığı kontrol grubunda ise 76,10 mg 100 g⁻¹ olarak belirlenmiştir. Yalnızca ağır metal uygulanan bitkilere ait köklerde benzer şekilde TFM içeriğinin (101,67– 125,81 mg 100 g⁻¹) kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek artışın da Hg grubunda olduğu belirlenmiştir. Ağır metal + NAC uygulama gruplarında, TFM içeriğinin [77,23 (Cd + NAC) – 84,24 mg 100 g⁻¹ (Hg + NAC)] kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde bir değişim olmadığı ancak yalnızca ağır metal uygulamasının yapıldığı gruplara kıyasla azaldığı belirlenmiştir.

Kökteki ağır metal uygulama gruplarında PAL aktivitesi TFM içeriğine benzer şekilde kontrol grubuna kıyasla (0,45 U mg⁻¹ protein) daha yüksek olduğu belirlenmiştir ve en yüksek PAL aktivitesi Cd uygulama grubunda (1,14 U mg⁻¹ protein) kaydedilmiştir. PAL aktivitesi Pb + NAC grubu (0,50 U mg⁻¹ protein) hariç diğer ağır metal + NAC uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Buğday fidelerine ait sürgünlerin PAL aktivitesi Tablo 3.3'te görüldüğü gibi ağır metal ve ağır metal + NAC uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla (0,23 U mg⁻¹ protein) istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) derecede arttığı belirlenmiş ve en yüksek artışlar sırasıyla Cu (0,33 U mg⁻¹ protein) ve Cd + NAC (0,34 U mg⁻¹ protein) uygulama gruplarında olduğu kaydedilmiştir.

3.6. Ağır Metal ve NAC Uygulanan Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerine Ait Antioksidan Kapasite (AK) Değerleri ve Hidrojen Peroksit (H₂O₂) İçeriği

Ağır metal ve NAC uygulamalarına maruz bırakılan Ceyhan-99 buğday çeşidine ait kök ve sürgünlerin farklı yöntemler ile belirlenen AK (DPPH, FRAP ve CUPRAC) değerleri ve H₂O₂ içeriği Tablo 3.3'te gösterilmiştir.

Buğday fidelerine ait köklerde AK değerlerinin ağır metal uygulamaları ile kontrol grubuna kıyasla (DPPH 0,23, FRAP 0,85 ve CUPRAC 0,94 µmol Trolox g⁻¹) arttığı tespit edilmiş, en yüksek artışın DPPH ve CUPRAC için Cu grubunda (1,08 ve 2,92 µmol Trolox g⁻¹), FRAP için Cd uygulama grubunda (FRAP 4,83 µmol Trolox g⁻¹) olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde ağır metal + NAC gruplarında da AK değerleri kontrol

grubuna kıyasla arttığı ve en yüksek artışın Cu + NAC uygulama grubunda (DPPH 0,80, FRAP 3,99 ve CUPRAC 2,45 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$) olduğu kaydedilmiştir.

Sürgünlerde de AK değerleri ağır metal ve NAC uygulamaları ile artmış ve en yüksek AK değerleri ağır metal grupları arasında Hg uygulama grubunda (DPPH 1,24, FRAP 7,55 ve CUPRAC 5,30 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$), ağır metal + NAC uygulama grupları arasından da Hg + NAC grubunda (DPPH 1,11, FRAP 7,24 ve CUPRAC 4,26 $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$) belirlenmiştir.

Tablo 3.3'te görüldüğü gibi ağır metal stresi altında köke ait tüm uygulama gruplarında H_2O_2 içeriğinin 62,40 (Pb) ile 113,54 $\text{nmol } 100 \text{ g}^{-1}$ (Cu) arasında değiştiği ve kontrol grubuna kıyasla (50,10 $\text{nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı belirlenmiştir. H_2O_2 içeriğini kökte en fazla Cu uygulamasının arttırdığı tespit edilmiştir. NAC muamelesinin kökte ağır metal + NAC uygulama gruplarında H_2O_2 içeriğinde, yalnızca ağır metal uygulama gruplarına kıyasla azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Ancak Cu + NAC (106,61 $\text{nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) ve Cd + NAC (66,62 $\text{nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) gruplarında H_2O_2 içeriğinin kontrol grubuna kıyasla arttığı belirlenmiştir.

Sürgünlere ait ağır metal uygulama gruplarında H_2O_2 içeriğinin kontrol grubuna kıyasla (77,00 $\text{nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) arttığı ve 104,33 (Hg uygulama grubu) – 137,90 $\text{nmol } 100 \text{ g}^{-1}$ (Cu uygulama grubu) arasında değiştiği belirlenmiştir. Ağır metal + NAC uygulama gruplarında ise H_2O_2 içeriğinin [83,23 (Cd + NAC grubu) – 122,10 $\text{nmol } 100 \text{ g}^{-1}$ (Cu + NAC grubu) arasında değişmektedir] ağır metal uygulama gruplarına kıyasla azaldığı, ancak kontrol grubuna kıyasla arttığı kaydedilmiştir.

Tablo 3.3. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde TFM (mg GA 100 g⁻¹) içeriğine, AK (DPPH, FRAP ve CUPRAC, µmol Trolox g⁻¹) değerlerine, PAL (U mg⁻¹ protein) aktivitesine ve H₂O₂ (nmol 100 g⁻¹) içeriğine olan etkisi. Her değer ortalama ± standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında P < 0,05 seviyesinde fark yoktur.

Kök						
Uygulamalar	PAL	TFM	DPPH	FRAP	CUPRAC	H ₂ O ₂
Kontrol	0,45 ± 0,02 ^a	22,13 ± 0,25 ^a	0,23 ± 0,02 ^a	0,85 ± 0,01 ^a	0,94 ± 0,04 ^a	50,10 ± 2,24 ^a
NAC	0,50 ± 0,01 ^a	34,81 ± 1,82 ^b	0,43 ± 0,01 ^b	1,55 ± 0,17 ^b	1,37 ± 0,11 ^b	54,20 ± 0,65 ^b
Cu	0,66 ± 0,04 ^{bc}	74,80 ± 2,69 ^e	1,08 ± 0,02 ^g	4,76 ± 0,15 ^h	2,92 ± 0,03 ^h	113,54 ± 0,71 ^h
Cd	1,14 ± 0,03 ^f	86,88 ± 3,41 ^f	0,97 ± 0,02 ^f	4,83 ± 0,11 ^h	2,70 ± 0,16 ^g	81,13 ± 0,88 ^f
Hg	1,04 ± 0,06 ^e	72,12 ± 5,19 ^e	0,97 ± 0,07 ^f	4,27 ± 0,26 ^g	2,74 ± 0,11 ^g	78,06 ± 1,80 ^e
Pb	0,81 ± 0,04 ^d	46,79 ± 2,95 ^c	0,68 ± 0,04 ^d	3,80 ± 0,22 ^{ef}	2,02 ± 0,08 ^d	62,40 ± 0,50 ^c
Cu+NAC	0,60 ± 0,01 ^b	58,62 ± 3,29 ^d	0,80 ± 0,03 ^e	3,99 ± 0,06 ^f	2,45 ± 0,08 ^f	106,61 ± 1,71 ^g
Cd+NAC	1,06 ± 0,02 ^e	70,97 ± 2,69 ^e	0,79 ± 0,03 ^e	3,59 ± 0,09 ^{de}	2,18 ± 0,09 ^e	66,62 ± 0,77 ^d
Hg+NAC	0,70 ± 0,05 ^c	45,79 ± 3,68 ^c	0,50 ± 0,01 ^c	1,84 ± 0,08 ^c	1,65 ± 0,02 ^c	53,64 ± 0,25 ^b
Pb+NAC	0,50 ± 0,08 ^a	39,19 ± 1,97 ^b	0,53 ± 0,01 ^c	3,45 ± 0,02 ^d	1,66 ± 0,08 ^c	55,92 ± 1,50 ^b
Sürgün						
Kontrol	0,23 ± 0,03 ^b	82,94 ± 3,69 ^b	0,66 ± 0,01 ^a	5,09 ± 0,03 ^{ab}	3,40 ± 0,08 ^{ab}	77,00 ± 1,73 ^b
NAC	0,19 ± 0,02 ^a	76,10 ± 2,65 ^a	0,65 ± 0,01 ^a	4,98 ± 0,14 ^{ab}	3,17 ± 0,14 ^a	69,57 ± 0,38 ^a
Cu	0,33 ± 0,01 ^{de}	101,67 ± 2,92 ^c	1,07 ± 0,02 ^d	5,70 ± 0,09 ^c	3,97 ± 0,06 ^{de}	137,90 ± 3,38 ^h
Cd	0,26 ± 0,01 ^c	111,21 ± 2,11 ^d	1,20 ± 0,02 ^e	5,24 ± 0,24 ^c	3,60 ± 0,17 ^{bc}	127,46 ± 11,13 ^c
Hg	0,32 ± 0,01 ^{de}	125,81 ± 2,19 ^e	1,24 ± 0,02 ^f	7,55 ± 0,24 ^f	5,30 ± 0,40 ^f	104,33 ± 0,95 ^d
Pb	0,27 ± 0,01 ^c	109,61 ± 2,99 ^d	1,08 ± 0,02 ^d	6,26 ± 0,19 ^d	4,05 ± 0,21 ^{de}	128,00 ± 3,00 ^e
Cu+NAC	0,31 ± 0,01 ^d	80,49 ± 3,36 ^{ab}	0,75 ± 0,01 ^b	4,92 ± 0,12 ^a	3,61 ± 0,13 ^{bc}	122,10 ± 2,79 ^e
Cd+NAC	0,34 ± 0,02 ^e	77,23 ± 0,72 ^a	1,02 ± 0,01 ^c	5,79 ± 0,19 ^b	3,78 ± 0,17 ^{cd}	83,23 ± 0,72 ^b
Hg+NAC	0,28 ± 0,01 ^c	84,04 ± 3,82 ^b	1,11 ± 0,02 ^d	7,24 ± 0,01 ^e	4,26 ± 0,09 ^c	94,00 ± 1,00 ^c
Pb+NAC	0,26 ± 0,02 ^c	83,71 ± 2,65 ^b	0,75 ± 0,02 ^b	5,91 ± 0,26 ^c	3,88 ± 0,17 ^{cd}	91,63 ± 0,25 ^c

3.7. Ağır Metal ve NAC Uygulaması Yapılan Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerine Ait Fenolik Asit (FA) İçeriği

Buğday fidelerine ait kök ve sürgünlerde, ağır metal ve NAC uygulaması etkisinde FA içeriğine ait değişimler sırasıyla Tablo 3.4, 3.5, 3.6 ve 3.7’de verilmiştir.

Buğday çeşidinin köklerinde *p*-hidroksibenzoik asit (*p*-HBA), vanilik asit (VaA), *p*-kumarik asit (*p*-KuA) ve ferulik asit (FeA) olmak üzere 4 farklı serbest formda fenolik asit belirlenmiştir. Hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubunda yalnızca *p*-KuA (2,3 - 0,8 ng g⁻¹)’in varlığı tespit edilmiştir. Serbest toplam FA (Σ FA) içeriğinin köke ait ağır metal uygulama gruplarında 193,6 (Cu) – 2961,3 ng g⁻¹ (Hg) arasında, ağır metal + NAC uygulama gruplarında ise 6,4 (Hg + NAC) - 2486,5 ng g⁻¹ (Cd + NAC) arasında değiştiği ve her iki uygulama gruplarına ait serbest Σ FA içeriklerinin kontrol grubuna (2,3 ng g⁻¹) kıyasla daha yüksek olduğu kaydedilmiştir.

Sürgün gruplarında *p*-HBA, VaA, *p*-KuA, FeA, siringik asit (SrA) ve salisilik asit (SaA) olmak üzere 6 farklı serbest formda FA varlığı tespit edilmiştir. Serbest formda FA’ler arasında yalnızca *p*-KuA (0,4 ng g⁻¹) ve FeA (1,2 ng g⁻¹) hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubunda tespit edilmiştir. Ağır metal uygulama gruplarında *p*-HBA içeriğinin 21,0 – 107,2 ng g⁻¹, VaA içeriğinin 35,0 – 289,3 ng g⁻¹, SrA içeriğinin 43,1 – 1173,9 ng g⁻¹, *p*-KuA içeriğinin 11,2 – 5,8 ng g⁻¹, FeA içeriğinin 83,3 – 585,0 ng g⁻¹, SaA içeriğinin 87,7 – 881,7 ng g⁻¹ arasında değiştiği belirlenmiştir. Ağır metal + NAC uygulama gruplarında ise *p*-HBA içeriğinin 42,2 – 159,73 ng g⁻¹, VaA içeriğinin 63,7 – 355,2 ng g⁻¹, SrA içeriğinin 80,6 – 1924,2 ng g⁻¹, *p*-KuA içeriğinin 17,5 – 73,1 ng g⁻¹, FeA içeriğinin 184,9 – 1096,4 ng g⁻¹, SaA içeriğinin 74,9 – 169,8 ng g⁻¹ arasında değiştiği kaydedilmiştir. Serbest formda Σ FA içeriğinin ağır metal uygulama gruplarında 193,6 (Cu) – 2961,3 ng g⁻¹ (Hg) arasında, ağır metal + NAC uygulama grupları 436,8 (Pb + NAC) – 3778,4 ng g⁻¹ (Cd + NAC) arasında değiştiği belirlenmiştir.

Buğday fidelerine ait kök ve sürgünlerde ester formunda FA değişimleri Tablo 3.5’te gösterilmektedir. Köke ait uygulama gruplarında protokateşik asit (PKA), *p*-HBA, VaA, SrA, *p*-KuA, sinapik asit (SiA) ve FeA olmak üzere toplamda 7 farklı ester formunda FA içeriği belirlenmiştir. Bu FA arasında tüm uygulama gruplarında en yüksek miktarda bulunan ester formunda FA FeA olduğu kaydedilmiştir. Toplam hidroksibenzoik asit (Σ HBA) içeriğinin ağır metal uygulama gruplarında 505,1 (Cd) – 1520,3 ng g⁻¹ (Cu), ağır metal + NAC uygulama gruplarında 572,1 (Cd + NAC) – 2124,8 ng g⁻¹ (Cu + NAC)

Tablo 3.4. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde serbest formda FA içeriğine olan etkisi. Her değer ortalama \pm standars hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her satır kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

Kök									
Uygulamalar	<i>p</i> -HBA	VaA	<i>p</i> -KuA	FeA	Σ HBA	Σ HSA	Σ FA		
Kontrol	nd \pm 0,00	nd \pm 0,00	2,3 \pm 0,1 ^a	nd \pm 0,00	-	2,3	2,3		
NAC	nd \pm 0,00	nd \pm 0,00	0,8 \pm 0,1 ^a	nd \pm 0,00	-	0,8	0,8		
Cu	2,2 \pm 0,2 ^a	3,4 \pm 1,5 ^a	4,1 \pm 0,2 ^a	17,0 \pm 0,4 ^a	5,6	21,1	26,7		
Cd	3,6 \pm 0,4 ^a	7,3 \pm 1,7 ^a	5,5 \pm 0,8 ^a	58,1 \pm 6,5 ^b	10,9	63,6	74,5		
Hg	353,4 \pm 31,2 ^c	336,5 \pm 28,7 ^d	367,6 \pm 50,9 ^c	1639,5 \pm 53,7 ^e	689,9	2007,1	2697,0		
Pb	14,7 \pm 3,2 ^a	40,9 \pm 3,2 ^a	30,3 \pm 5,1 ^a	91,6 \pm 1,4 ^{bc}	55,6	121,9	177,5		
Cu + NAC	11,0 \pm 0,4 ^a	21,3 \pm 2,8 ^a	27,4 \pm 1,2 ^a	116,2 \pm 3,1 ^c	32,3	143,6	175,9		
Cd + NAC	89,3 \pm 10,6 ^b	223,6 \pm 31,7 ^c	98,4 \pm 8,9 ^b	2075,2 \pm 17,6 ^f	312,9	2173,6	2486,5		
Hg + NAC	1,9 \pm 0,1 ^a	nd \pm 0,00	2,3 \pm 0,2 ^a	2,2 \pm 0,3 ^a	1,9	4,5	6,4		
Pb + NAC	25,3 \pm 1,7 ^a	112,8 \pm 17,4 ^b	37,3 \pm 3,5 ^a	323,7 \pm 17,5 ^d	138,1	361,0	499,1		
Sürgün									
	<i>p</i> -HBA	VaA	SrA	<i>p</i> -KuA	FeA	SaA	Σ HBA	Σ HSA	Σ FA
Kontrol	nd \pm 0,00	nd \pm 0,00	nd \pm 0,00	0,4 \pm 0,0 ^a	1,2 \pm 0,2 ^a	nd \pm 0,00	-	1,6	1,6
NAC	92,1 \pm 6,1 ^d	145,2 \pm 5,0 ^c	251,4 \pm 3,8 ^c	41,8 \pm 1,7 ^c	314,5 \pm 4,8 ^d	33,2 \pm 0,5 ^b	521,9	356,3	878,2
Cu	21,0 \pm 1,6 ^a	35,0 \pm 2,1 ^a	43,1 \pm 2,4 ^a	11,2 \pm 0,8 ^b	83,3 \pm 1,4 ^b	nd \pm 0,00	99,1	94,5	193,6
Cd	71,8 \pm 4,1 ^c	195,0 \pm 2,3 ^d	690,2 \pm 26,0 ^d	48,7 \pm 1,6 ^g	387,2 \pm 1,5 ^c	118,9 \pm 4,5 ^d	1075,7	435,9	1511,6
Hg	68,9 \pm 6,8 ^c	289,3 \pm 15,6 ^g	1173,9 \pm 32,1 ^f	46,0 \pm 1,4 ^f	501,5 \pm 20,5 ^f	881,7 \pm 28,5 ^f	2413,8	547,5	2961,3
Pb	107,2 \pm 5,8 ^c	227,1 \pm 8,2 ^c	904,9 \pm 18,1 ^c	55,8 \pm 0,7 ^h	585,0 \pm 14,1 ^g	87,7 \pm 1,1 ^c	1326,9	640,8	1967,7
Cu + NAC	42,2 \pm 1,7 ^b	74,2 \pm 4,4 ^b	184,9 \pm 5,4 ^b	17,5 \pm 0,4 ^c	184,9 \pm 3,2 ^c	nd \pm 0,00	301,3	202,4	503,7
Cd + NAC	159,7 \pm 3,43 ^g	355,2 \pm 9,8 ^h	1924,2 \pm 99,4 ^g	73,1 \pm 2,0 ^j	1096,4 \pm 33,8 ^h	169,8 \pm 6,2 ^e	2608,9	1169,5	3778,4
Hg + NAC	120,6 \pm 1,8 ^f	243,8 \pm 3,9 ^f	713,6 \pm 8,6 ^d	61,1 \pm 1,6 ⁱ	592,0 \pm 21,9 ^g	74,9 \pm 1,3 ^e	1152,9	653,1	1806,0
Pb + NAC	48,1 \pm 6,1 ^b	63,7 \pm 4,2 ^b	80,6 \pm 2,3 ^a	24,0 \pm 1,4 ^d	210,3 \pm 2,5 ^c	10,1 \pm 0,3 ^a	202,5	234,3	436,8

p-HBA: *p*- hidroksibenzoik asit; VaA: Vanilik asit; *p*-KuA:*p*-Kumarik asit; FeA: Ferulik asit; SrA: Siringik asit; SaA: Salisilik asit; HBA: Hidroksibenzoik asit; HSA: Hidroksisinamik asit; FA: Fenolik asit

arasında değiştiği tespit edilmiştir. Toplam hidroksisinamik asit (Σ HSA) iğeriğinin ağır metal uygulama gruplarında 2488,3 (Pb) – 5925,6 ng g⁻¹ (Cd), ağır metal + NAC uygulama gruplarında 684,0 (Hg + NAC) – 7173,4 ng g⁻¹ (Cu + NAC) arasında değiştiği saptanmıştır. Yalnızca ağır metal uygulaması yapılan gruplarda ester formunda Σ FA iğeriğinin kontrol grubuna kıyasla (1566,5 ng g⁻¹) arttığı kaydedilirken, ağır metal + NAC uygulama grupları arasında ise yalnızca Hg + NAC (1537,1 ng g⁻¹) grubunda artış belirlenememiştir.

Buğday fidelerine ait sürgün uygulama gruplarında köke ait ester formunda FA'lere ek olarak kafeik asit (KaA) belirlenmiş ve toplamda 8 farklı FA'in varlığı tespit edilmiştir. Sürgün gruplarında da en yüksek miktarda bulunan FA'in FeA olduğu belirlenmiştir. Σ HBA iğeriğinin ağır metal uygulama gruplarında 2160,4 (Cu) – 4198,9 ng g⁻¹ (Cd), ağır metal + NAC uygulama gruplarında 1459,2 (Cu + NAC) – 3384,8 ng g⁻¹ (Hg + NAC) arasında değiştiği belirlenmiştir. Σ HSA iğeriğinin ağır metal uygulama gruplarında 29708,0 (Hg) – 70893,9 ng g⁻¹ (Pb), ağır metal + NAC uygulama gruplarında 30532,2 (Cu + NAC) – 136925,0 ng g⁻¹ (Hg + NAC) arasında değiştiği kaydedilmiştir. Ester formunda Σ FA iğeriğinde sürgüne ait uygulama grupları arasında yalnızca Pb (73840,5 ng g⁻¹) ve Hg + NAC (140309,8 ng g⁻¹) gruplarında kontrol grubuna kıyasla (48154,3 ng g⁻¹) artış tespit edilmiştir.

Buğday çeşidine ait fidelerin kök ve sürgünlerinde belirlenen glikozit formunda FA'ler Tablo 3.6'da verilmiştir. Tespit edilen kök ve sürgünlere ait glikozit formunda FA'leri PKA, gentisik asit (GA), *p*-HBA, KaA, VaA, SrA, *p*-KuA, SiA ve FeA'tir. Hiçbir uygulamanın yapılmadığı kök kontrol grubunda en yüksek miktarda bulunan glikozit formunda FA'in SrA (1020,7 ng g⁻¹) olduğu tespit edilmiştir. Köke ait ağır metal uygulama gruplarında Σ HBA iğeriğinin 1725,3 (Pb) – 5663,7 ng g⁻¹ (Cu) arasında, NAC + ağır metal uygulama gruplarında ise 2429,7 (Cd + NAC) – 4817,3 ng g⁻¹ (Cu + NAC) arasında değiştiği belirlenmiştir. Ağır metal gruplarının Σ HSA iğeriğinin 852,7 (Pb) – 3925,9 ng g⁻¹ (Cu), NAC uygulaması yapılan ağır metal gruplarında ise 454,7 (Hg + NAC) – 3428,3 ng g⁻¹ (Cu + NAC) arasında değiştiği kaydedilmiştir. Buğday fidelerinin köklerine ait glikozit Σ FA iğeriğinin ağır metal ve ağır metal + NAC uygulama gruplarında hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubuna kıyasla (1943,7 ng g⁻¹) artış tespit edilmiştir. Sürgünlerin ağır metal gruplarında glikozit formunda Σ HBA iğeriğinin 5054,3 (Pb) – 10922,1 ng g⁻¹ (Cd), arasında, Σ HSA iğeriğinin ise 2711,3 (Hg) – 5367,0 ng g⁻¹ arasında değiştiği kaydedilmiştir.

Tablo 3.5. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde ester formunda FA içeriğine olan etkisi. Her değer ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında P < 0,05 seviyesinde fark yoktur.

Uygulamalar	Kök										
	PKA	<i>p</i> -HBA	VaA	SrA	<i>p</i> -KuA	SiA	FeA	Σ HBA	Σ HSA	Σ FA	
Kontrol	46,8 \pm 2,5 ^c	63,9 \pm 5,3 ^a	297,0 \pm 6,7 ^d	253,1 \pm 3,4 ^c	49,8 \pm 1,7 ^a	46,9 \pm 2,1 ^a	809,0 \pm 9,8 ^b	660,8	905,7	1566,5	
NAC	29,6 \pm 1,0 ^a	62,5 \pm 2,1 ^a	187,9 \pm 10,1 ^a	223,1 \pm 4,5 ^d	61,4 \pm 2,9 ^a	83,9 \pm 6,7 ^b	1380,0 \pm 26,0 ^c	503,1	1525,3	2028,4	
Cu	182,5 \pm 6,2 ^h	320,5 \pm 5,2 ^c	668,8 \pm 20,3 ^h	348,5 \pm 7,6 ^g	210,4 \pm 20,2 ^d	463,1 \pm 6,9 ^c	4498,5 \pm 88,9 ^g	1520,3	5172,0	6692,3	
Cd	42,9 \pm 0,6 ^{bc}	107,1 \pm 6,9 ^b	295,1 \pm 12,6 ^d	60,0 \pm 0,5 ^a	162,8 \pm 13,1 ^c	1196,0 \pm 110,2 ^c	4566,8 \pm 157,8 ^g	505,1	5925,6	6430,7	
Hg	106,2 \pm 4,6 ^g	581,6 \pm 20,5 ^c	497,0 \pm 6,6 ^f	113,5 \pm 3,3 ^b	173,9 \pm 33,4 ^c	177,8 \pm 4,7 ^b	3716,7 \pm 54,9 ^c	1298,3	4068,4	5366,7	
Pb	100,1 \pm 1,2 ^f	104,7 \pm 3,3 ^b	562,9 \pm 8,4 ^g	246,3 \pm 7,5 ^c	191,3 \pm 12,5 ^{cd}	204,2 \pm 8,7 ^b	2092,8 \pm 45,9 ^{3d}	1014,0	2488,3	3502,3	
Cu + NAC	235,2 \pm 4,0 ⁱ	426,2 \pm 8,6 ^d	942,1 \pm 6,5 ⁱ	521,3 \pm 11,1 ^h	269,9 \pm 5,2 ^c	575,1 \pm 16,8 ^d	6328,4 \pm 241,7 ^h	2124,8	7173,4	9298,2	
Cd + NAC	86,0 \pm 0,2 ^c	97,1 \pm 2,2 ^b	209,5 \pm 2,5 ^b	179,5 \pm 7,1 ^c	130,7 \pm 5,9 ^b	1192,0 \pm 13,4 ^c	4129,5 \pm 75,8 ^f	572,1	5452,2	6024,3	
Hg + NAC	70,5 \pm 3,9 ^d	113,3 \pm 10,5 ^b	385,8 \pm 11,7 ^c	283,5 \pm 2,7 ^f	57,2 \pm 9,6 ^a	48,4 \pm 0,8 ^a	578,4 \pm 22,7 ^a	853,1	684,0	1537,1	
Pb + NAC	40,4 \pm 0,7 ^b	69,2 \pm 1,4 ^a	265,0 \pm 5,9 ^c	212,2 \pm 11,0 ^d	72,9 \pm 5,6 ^a	83,1 \pm 11,8 ^a	940,7 \pm 9,1 ^b	586,8	1096,7	1683,5	
Sürgün											
Uygulamalar	PKA	<i>p</i> -HBA	KaA	VaA	SrA	<i>p</i> -KuA	SiA	FeA	Σ HBA	Σ HSA	Σ FA
Kontrol	197,5 \pm 8,9 ^c	61,0 \pm 1,9 ^a	50,7 \pm 0,5 ^{cd}	114,6 \pm 33,1 ^a	752,9 \pm 5,7 ^a	861,2 \pm 70,2 ^d	358,2 \pm 23,1 ^a	45758,2 \pm 1162,4 ^b	1126,0	47028,3	48154,3
NAC	345,8 \pm 16,8 ^c	93,5 \pm 1,7 ^d	106,3 \pm 2,6 ^g	228, \pm 5,3 ^{cd}	1384,4 \pm 20,7 ^c	1260,5 \pm 65,9 ^c	721,8 \pm 8,4 ^{cdc}	772482 \pm 328,2 ^f	2051,8	79336,8	81388,6
Cu	198,1 \pm 4,7 ^c	61,9 \pm 0,5 ^a	27,0 \pm 1,8 ^a	235,1 \pm 4,9 ^d	1665,3 \pm 20,1 ^d	507,3 \pm 47,7 ^{bc}	691,8 \pm 20,6 ^{cd}	45217,1 \pm 1031,0 ^b	2160,4	46443,2	48603,6
Cd	153,0 \pm 8,6 ^b	93,4 \pm 2,4 ^d	36,3 \pm 2,0 ^b	506,8 \pm 2,7 ^h	3445,7 \pm 54,4 ^g	529,3 \pm 65,6 ^{bc}	2228,7 \pm 55,6 ^h	51825,6 \pm 2242,6 ^c	4198,9	54619,9	58818,8
Hg	129,9 \pm 4,7 ^{ab}	87,0 \pm 2,4 ^c	26,0 \pm 0,9 ^a	386,4 \pm 17,0 ^f	2407,8 \pm 82,9 ^f	252,9 \pm 23,3 ^a	680,9 \pm 135,3 ^c	28748,2 \pm 62,1 ^a	3011,1	29708,0	32719,1
Pb	212,6 \pm 10,1 ^c	99,0 \pm 1,2 ^c	47,9 \pm 2,0 ^c	341,4 \pm 3,6 ^c	2293,6 \pm 70,9 ^f	912,1 \pm 30,0 ^d	775,5 \pm 2,9 ^{dc}	69158,4 \pm 853,6 ^c	2946,6	70893,9	73840,5
Cu + NAC	132,1 \pm 6,3 ^{ab}	61,6 \pm 0,4 ^a	52,5 \pm 0,3 ^{dc}	221,0 \pm 8,4 ^{bc}	1044,5 \pm 16,1 ^b	381,7 \pm 29,2 ^{ab}	532,5 \pm 7,4 ^b	29565,5 \pm 827,9 ^a	1459,2	30532,2	31991,4
Cd + NAC	287,2 \pm 21,3 ^d	80,9 \pm 1,2 ^b	54,0 \pm 1,8 ^c	426,1 \pm 2,8 ^g	2058,3 \pm 34,8 ^c	572,0 \pm 86,9 ^c	946,2 \pm 38,5 ^f	52074,5 \pm 891,8 ^c	2852,5	53646,7	56499,2
Hg + NAC	404,3 \pm 23,2 ^f	118,2 \pm 2,2 ^f	149,7 \pm 0,8 ^h	422,5 \pm 4,9 ^g	2439,8 \pm 157,7 ^f	1995,0 \pm 182,1 ^f	1266,4 \pm 47,3 ^g	133513,9 \pm 2573,5 ^g	3384,8	136925,0	140309,8
Pb + NAC	107,4 \pm 2,5 ^a	78,2 \pm 1,6 ^b	82,3 \pm 1,6 ^f	211,1 \pm 5,8 ^b	1364,7 \pm 31,3 ^c	747,2 \pm 14,3 ^d	788,0 \pm 14,5 ^c	59266,1 \pm 1311,7 ^d	1761,4	60883,6	62645,0

PKA: Protokateşik asit; *p*-HBA: *p*-hidroksibenzoik asit; VaA: Vanilik asit; *p*-KuA:*p*-Kumarik asit; FeA: Ferulik asit; SrA: Siringik asit; SaA: Salisilik asit; SiA: Sinamik asit; KaA: Kafeik asit; HBA: Hidroksibenzoik asit; HSA: Hidroksisinamik asit; FA: Fenolik asit

Ağır metal + NAC gruplarında ise ΣHBA içeriğinin 4028,1 (Cu + NAC) – 10066,1 ng g⁻¹ (Cd + NAC) arasında, ΣHSA içeriğinin ise 2812,1 (Cu + NAC) – 6195,4 ng g⁻¹ (Pb + NAC) arasında değişiklik sergilediği tespit edilmiştir. Sürgünlere ait glikozit formunda ΣFA içeriğinin ise kontrol grubuna kıyasla (8668,2 ng g⁻¹) Cu (11143,4 ng g⁻¹) ve Cd (16294,3 ng g⁻¹) uygulama gruplarında arttığı, ağır metal + NAC grupları arasında yalnızca Cu + NAC (6840,2 ng g⁻¹) uygulanan grupta düştüğü belirlenmiştir.

Buğday fidelerinin kök ve sürgünlerine ait ester-bağlı formda FA içeriğindeki değişimler Tablo 3.7’de gösterilmiştir. Köke ait uygulama gruplarında *p*-HBA, *p*-KuA, SiA ve FeA olmak üzere 4 farklı ester-bağlı formda FA içeriği belirlenmiştir. Bu FA arasında tüm uygulama gruplarında en yüksek miktarda bulunan FA’in FeA (255573,9 – 625217,7 ng g⁻¹) olduğu tespit edilmiştir. Ağır metal uygulama gruplarının ΣHBA içeriğinin 55,7 (Pb) – 600,8 ng g⁻¹ (Hg) arasında, ΣHSA içeriğinin ise 279210,4 (Hg) – 628867,3 ng g⁻¹ (Cu) arasında değiştiği belirlenmiştir. Ağır metal + NAC gruplarında ΣHBA içeriğinin 31,0 (Pb + NAC) – 526,6 ng g⁻¹ (Cu + NAC) arasında, ΣHSA içeriğinin ise 339173,0 (Hg + NAC) – 731773,6 ng g⁻¹ (Cu + NAC) arasında değişiklik sergilediği kaydedilmiştir. Köke ait ester bağlı ΣFA içeriğinde yalnızca Hg uygulanan Hg (279811,2 ng g⁻¹) ve Hg + NAC (339226,8 ng g⁻¹) gruplarında kontrol grubuna kıyasla (378804,0 ng g⁻¹) düşüş kaydedilmiştir.

Sürgünlere ait uygulama gruplarında SrA, *p*-KuA, SiA ve FeA olmak üzere 4 farklı ester-bağlı formda FA içeriği tespit edilmiştir. Ester-bağlı formda ΣHBA içeriğinin ağır metal gruplarında 75,6 (Pb) – 187,3 ng g⁻¹ (Cd) arasında, ağır metal + NAC gruplarında ise 102,0 (Hg + NAC) – 183,0 ng g⁻¹ (Cd + NAC) arasında değişiklik sergilediği belirlenmiştir. Ester-bağlı formda ΣHSA içeriğinin ise ağır metal gruplarında 176866,6 (Hg) – 327171,7 ng g⁻¹ (Cd) arasında, ağır metal + NAC gruplarında ise 236356,5 (Hg + NAC) – 357955,2 ng g⁻¹ (Cd + NAC) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Sürgün uygulama gruplarında ester-bağlı formda ΣFA içeriğinin kontrol grubuna kıyasla (161774,3 ng g⁻¹) artış gösterdiği ve en yüksek artışların Cd (Cd grubunda 327359,0 ve Cd + NAC grubunda 358138,2 ng g⁻¹) uygulanan gruplarda olduğu kaydedilmiştir.

Tablo 3.6. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde glikozit formunda FA içeriğine olan etkisi. Her değer ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

Kök										
Glikozit	Kontrol	NAC	Cu	Cd	Hg	Pb	Cu + NAC	Cd + NAC	Hg + NAC	Pb + NAC
PKA	101,2 \pm 4,3 ^d	35,8 \pm 1,3 ^a	552,6 \pm 15,1 ^g	123,5 \pm 3,3 ^c	135,7 \pm 8,8 ^f	74,4 \pm 4,3 ^b	584,9 \pm 8,2 ^h	105,3 \pm 8,6 ^d	87,0 \pm 4,3 ^c	64,1 \pm 6,9 ^b
p-HBA	49,6 \pm 1,0 ^a	45,2 \pm 1,6 ^a	642,2 \pm 31,3 ^g	335,1 \pm 12,5 ^e	817,9 \pm 11,9 ^h	64,8 \pm 5,8 ^b	593,5 \pm 13,5 ^f	222,2 \pm 10,7 ^d	91,1 \pm 2,9 ^c	83,3 \pm 1,2 ^c
KaA	2,5 \pm 0,4 ^a	7,4 \pm 0,3 ^b	44,4 \pm 3,9 ^g	15,3 \pm 0,4 ^d	25,9 \pm 2,5 ^f	8,7 \pm 0,4 ^b	44,4 \pm 0,9 ^g	11,0 \pm 0,9 ^e	7,7 \pm 0,8 ^b	23,6 \pm 1,5 ^c
VaA	352,6 \pm 12,9 ^a	435,4 \pm 19,1 ^b	1869,0 \pm 65,4 ^h	914,9 \pm 17,7 ^c	734,6 \pm 10,1 ^c	823,0 \pm 14,6 ^d	1653,7 \pm 31,2 ^g	931,1 \pm 22,1 ^e	914,5 \pm 7,9 ^g	1054,2 \pm 30,6 ^f
SrA	1020,7 \pm 80,6 ^c	1007,6 \pm 22,9 ^c	2599,9 \pm 81,6 ^g	360,4 \pm 11,7 ^a	311,9 \pm 10,1 ^a	763,0 \pm 7,3 ^b	1985,2 \pm 48,8 ^f	1171,1 \pm 44,1 ^d	1941,8 \pm 90,9 ^f	1765,0 \pm 74,5 ^c
p-KuA	19,7 \pm 0,3 ^a	29,9 \pm 1,0 ^b	902,7 \pm 13,1 ⁱ	362,2 \pm 7,2 ^g	289,1 \pm 6,3 ^e	68,3 \pm 1,9 ^d	792,7 \pm 8,7 ^h	334,3 \pm 3,2 ^f	38,9 \pm 1,2 ^c	39,6 \pm 0,5 ^{ab}
SiA	96,6 \pm 6,5 ^a	147,5 \pm 9,7 ^b	376,4 \pm 25,9 ^f	929,6 \pm 6,6 ^h	95,9 \pm 7,6 ^a	169,2 \pm 6,9 ^d	303,8 \pm 5,7 ^e	846,6 \pm 15,2 ^g	110,3 \pm 4,8 ^b	105,5 \pm 14,0 ^a
FeA	300,8 \pm 15,7 ^a	373,7 \pm 17,7 ^b	2602,4 \pm 16,6 ^h	2428,6 \pm 67,5 ^g	1158,0 \pm 8,5 ^d	606,5 \pm 7,0 ^c	2287,4 \pm 51,3 ^f	1843,7 \pm 16,8 ^c	297,8 \pm 6,8 ^a	330,8 \pm 13,4 ^{ab}
ΣHBA	1524,1	1524,0	5663,7	1733,9	2000,1	1725,2	4817,3	2429,7	3034,4	2966,6
ΣHSA	419,6	558,5	3925,9	3735,7	1568,9	852,7	3428,3	3035,6	454,7	499,5
ΣFA	1943,7	2082,5	9589,6	5469,6	3569,0	2577,9	8245,6	5465,3	3489,1	3466,1
Sürgün										
PKA	146,5 \pm 0,8 ^c	1528,0 \pm 1,2 ^c	219,6 \pm 8,1 ^e	173,2 \pm 5,8 ^d	74,5 \pm 5,0 ^a	76,5 \pm 2,1 ^a	133,7 \pm 4,3 ^c	246,1 \pm 4,9 ^h	143,8 \pm 7,5 ^c	171,7 \pm 2,5 ^d
GA	90,1 \pm 2,3 ^a	94,7 \pm 3,4 ^a	192,0 \pm 4,7 ^c	645,5 \pm 9,3 ^g	217,6 \pm 1,7 ^f	121,9 \pm 4,3 ^b	144,4 \pm 3,7 ^c	967,3 \pm 12,8 ^h	142,5 \pm 11,7 ^c	172,0 \pm 2,2 ^d
p-HBA	145,7 \pm 4,8 ^c	162,5 \pm 2,4 ^d	165,6 \pm 5,5 ^d	239,6 \pm 3,4 ^f	106,2 \pm 1,7 ^a	133,4 \pm 3,9 ^b	123,5 \pm 5,4 ^b	253,8 \pm 3,7 ^g	186,1 \pm 8,8 ^e	253,2 \pm 11,6 ^g
KaA	279,2 \pm 4,4 ^b	420,9 \pm 15,8 ^f	353,6 \pm 5,7 ^c	523,9 \pm 6,1 ^c	242,4 \pm 7,5 ^a	394,1 \pm 6,6 ^c	380,8 \pm 9,5 ^d	371,6 \pm 9,7 ^d	550,2 \pm 4,2 ^h	609,1 \pm 9,5 ^f
VaA	341,5 \pm 4,1 ^a	438,5 \pm 35,9 ^{bc}	491,9 \pm 54,9 ^{cd}	787,0 \pm 15,7 ^f	424,3 \pm 5,1 ^{bc}	453,3 \pm 27,5 ^c	377,6 \pm 20,4 ^{ab}	645,3 \pm 20,1 ^c	528,3 \pm 65,6 ^d	751,4 \pm 2,6 ^f
SrA	2923,0 \pm 54,9 ^a	3932,6 \pm 67,8 ^c	4697,3 \pm 205,8 ^c	9076,8 \pm 216,2 ^g	4314,7 \pm 147 ^d	4269,2 \pm 99,1 ^d	3248,9 \pm 66,3 ^b	7953,6 \pm 99,8 ^f	4676,7 \pm 24,4 ^e	7814,1 \pm 99,6 ^f
p-KuA	157,5 \pm 3,7 ^{fg}	173,2 \pm 5,1 ^h	139,0 \pm 5,5 ^d	147,6 \pm 6,6 ^{dc}	75,9 \pm 3,9 ^a	98,3 \pm 2,5 ^c	87,9 \pm 4,5 ^b	149,4 \pm 6,2 ^{ef}	147,3 \pm 9,2 ^{dc}	163,2 \pm 4,2 ^g
SiA	540,7 \pm 8,7 ^c	703,9 \pm 54,1 ^d	663,9 \pm 24,9 ^d	1111,8 \pm 92,5 ^g	529,2 \pm 7,9 ^c	466,1 \pm 6,5 ^b	390,6 \pm 11,6 ^a	1000,1 \pm 58,3 ^f	682,8 \pm 6,8 ^d	815,2 \pm 9,8 ^c
FeA	4044,0 \pm 160,7 ^d	5030,9 \pm 115,6 ^g	4210,5 \pm 679,0 ^{dc}	3588,9 \pm 256,8 ^e	1863,8 \pm 20,7 ^a	2547,4 \pm 83,4 ^b	1952,8 \pm 67,0 ^a	4672,7 \pm 462,0 ^f	4234,0 \pm 56,9 ^e	4607,9 \pm 203,2 ^f
ΣHBA	3646,8	6156,3	5776,4	10922,1	5137,3	5054,3	4028,1	10066,1	5677,4	9162,4
ΣHSA	5021,4	6328,9	5367,0	5372,2	2711,3	3505,9	2812,1	6193,7	5614,3	6195,4
ΣFA	8668,2	12485,2	11143,4	16294,3	7848,6	8560,2	6840,2	16259,8	11291,7	15357,8

PKA: Protokateşik asit; p-HBA: p- hidroksibenzoik asit; VaA: Vanilik asit; p-KuA:p-Kumarik asit; FeA: Ferulik asit; SrA: Siringik asit; SiA: Sinamik asit; KaA: Kafeik asit; GA: Gentisik asit; HBA: Hidroksibenzoik asit; HSA: Hidroksisinamik asit; FA: Fenolik asit

Tablo 3.7. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde ester-bağlı formunda FA içeriğine olan etkisi. Her değer ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında P < 0,05 seviyesinde fark yoktur.

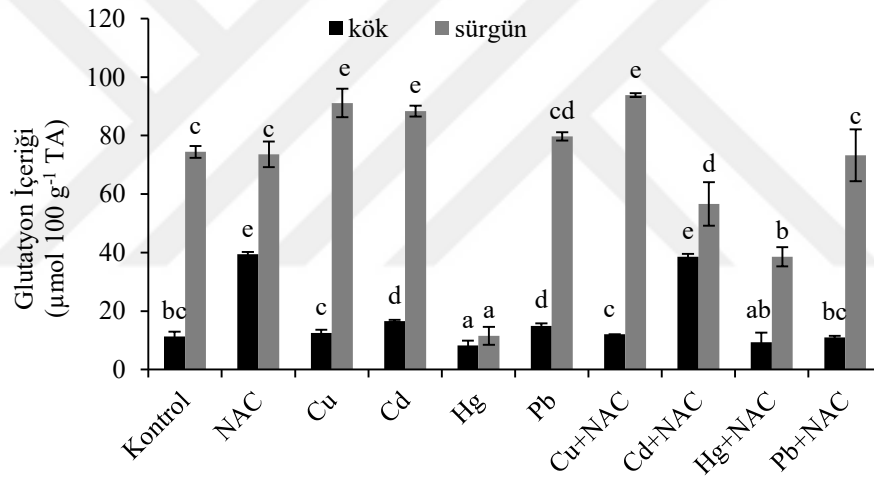
Kök							
Uygulamalar	<i>p</i> -HBA	<i>p</i> -KuA	SiA	FeA	Σ HBA	Σ HSA	Σ FA
Kontrol	46,1 \pm 1,3 ^a	25684,2 \pm 727,8 ^a	135,0 \pm 19,6 ^{ab}	352938,7 \pm 8212,3 ^c	46,1	378757,9	378804,0
NAC	37,3 \pm 0,7 ^a	27038,3 \pm 320,9 ^a	117,5 \pm 3,3 ^a	3441194,2 \pm 7540,2 ^c	37,3	371350,0	371387,3
Cu	377,5 \pm 20,6 ^d	99494,8 \pm 3684,3 ^c	857,6 \pm 35,6 ^d	528514,9 \pm 10672,2 ^f	377,5	628867,3	629244,8
Cd	208,1 \pm 21,0 ^c	35608,6 \pm 1065,2 ^b	1101,1 \pm 61,2 ^c	491566,1 \pm 4779,7 ^c	208,1	528275,8	528483,9
Hg	600,8 \pm 36,3 ^f	23475,5 \pm 670,5 ^a	161,0 \pm 24,5 ^{ab}	255573,9 \pm 9082,3 ^a	600,8	279210,4	279811,2
Pb	55,7 \pm 7,7 ^a	40866,6 \pm 1458,8 ^b	243,1 \pm 10,9 ^c	543581,4 \pm 7063,2 ^f	55,7	584691,1	584746,8
Cu+NAC	526,6 \pm 67,5 ^e	105463,8 \pm 8472,7 ^c	1092,1 \pm 85,9 ^c	625217,7 \pm 38554,6 ^g	526,6	731773,6	732300,2
Cd+NAC	134,4 \pm 5,5 ^b	38906,1 \pm 894,5 ^b	873,2 \pm 58,9 ^d	545016,6 \pm 5660,2 ^f	134,4	584795,9	584930,3
Hg+NAC	53,8 \pm 1,7 ^a	27037,7 \pm 611,8 ^a	98,2 \pm 5,0 ^a	312037,1 \pm 3166,7 ^b	53,8	339173,0	339226,8
Pb+NAC	31,0 \pm 3,9 ^a	24519,2 \pm 877,0 ^a	207,6 \pm 21,6 ^{bc}	417529,6 \pm 17831,0 ^d	31,0	442256,4	442287,4
Sürgün							
	SrA	<i>p</i> -KuA	SiA	FeA	Σ HBA	Σ HSA	Σ FA
Kontrol	77,8 \pm 3,2 ^a	4785,4 \pm 160,5 ^b	61,1 \pm 6,5 ^a	156850,0 \pm 3964,9 ^a	77,8	161696,5	161774,3
NAC	100,7 \pm 6,4 ^b	6835,5 \pm 51,7 ^c	123,6 \pm 13,1 ^d	215591,8 \pm 18387,5 ^b	100,7	222550,9	222651,6
Cu	114,9 \pm 6,8 ^c	6368,0 \pm 15,1 ^d	124,3 \pm 16,4 ^d	260372,6 \pm 6740,6 ^c	114,9	266864,9	266979,8
Cd	187,3 \pm 22,9 ^f	8539,7 \pm 256,3 ^g	143,0 \pm 5,4 ^e	318489,0 \pm 17005,1 ^d	187,3	327171,7	327359,0
Hg	116,8 \pm 11,2 ^c	3385,0 \pm 84,9 ^a	100,6 \pm 11,2 ^c	173381,0 \pm 9078,1 ^a	116,8	176866,6	176983,4
Pb	75,6 \pm 6,7 ^a	5937,6 \pm 134,9 ^c	81,9 \pm 11,7 ^b	231804,9 \pm 12398,3 ^b	75,6	237824,4	237900,0
Cu+NAC	150,6 \pm 15,0 ^c	7050,5 \pm 52,7 ^c	133,6 \pm 12,6 ^{de}	281021,3 \pm 13475,7 ^c	150,6	288205,4	288356,0
Cd+NAC	183,0 \pm 12,0 ^f	10700,2 \pm 137,5 ^h	179,5 \pm 17,4 ^f	347075,5 \pm 5363,6 ^c	183,0	357955,2	358138,2
Hg+NAC	102,0 \pm 4,0 ^b	7504,9 \pm 119,5 ^f	100,8 \pm 5,7 ^c	228750,8 \pm 10175,2 ^b	102,0	236356,5	236458,5
Pb+NAC	136,5 \pm 4,1 ^d	7509,1 \pm 175,3 ^f	68,9 \pm 12,3 ^a	260911,5 \pm 5746,6 ^c	136,5	268489,5	268626,0

p-HBA: *p*-hidroksibenzoik asit; VaA: Vanilik asit; *p*-KuA:*p*-Kumarik asit; FeA: Ferulik asit; SrA: Siringik asit; SiA: Sinamik asit; HBA: Hidroksibenzoik asit; HSA: Hidroksisinamik asit; FA: Fenolik asit

3.8. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Glutasyon (GSH) İçeriğine Olan Etkisi

Ağır metal ve NAC uygulama koşullarında buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde GSH içeriğindeki değişim Şekil 3.10'da gösterilmiştir.

Köklere ait uygulama gruplarında yalnızca Cu ($12,53 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) ve Cu + NAC uygulamalarının ($12,06 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) GSH içeriğinde kontrol grubuna kıyasla ($11,26 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca GSH içeriğinde Hg uygulamasının (Hg uygulama grubu için $8,26$ ve Hg + NAC uygulama grubu için $9,36 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) düşüşe neden olduğu ancak Cd ($16,57 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) ve Pb ($14,96 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) uygulamalarının ise kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) artışa neden olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 3.10. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde GSH içeriğine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir ($n=3$). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

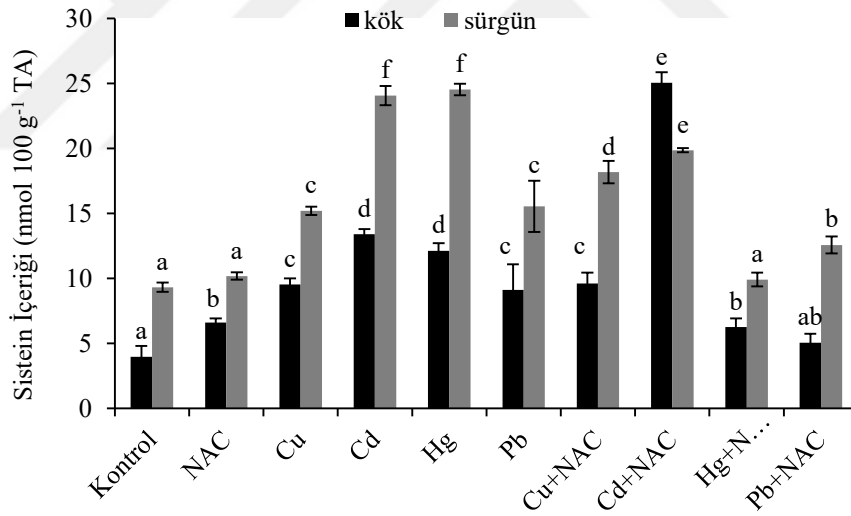
Sürgüne ait kontrol ve uygulama gruplarında GSH içeriğinin kök GSH içeriğine kıyasla daha yüksek bulunmuştur (Şekil 3.10). Hg uygulamasının sürgün GSH içeriğinde kontrol grubuna kıyasla 6,5 kat bir azalma ve Hg hariç, ağır metal uygulamalarının GSH içeriğinde artışa neden olmuştur. GSH içeriğinin ağır metal + NAC uygulama grupları arasında, yalnızca Cu + NAC uygulama grubunda ($93,84 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) arttığı, diğer

uygulama gruplarında ise düştüğü ve en fazla düşüşün Hg + NAC grubunda ($38,55 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) olduğu tespit edilmiştir.

3.9. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Sistein (cys) İçeriğine Olan Etkisi

Ağır metal ve NAC uygulanan fidelerin kök ve sürgünlerine ait cys içeriği Şekil 3.11'da gösterilmektedir.

Köke ait ağır metal uygulama grupları arasında, en yüksek cys içeriği Cd ($13,4 \text{ nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) ve Hg ($12,13 \text{ nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) uygulanan gruplarında belirlenmiş ve bu gruplarda cys içeriği kontrol grubuna kıyasla ($3,97 \text{ nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) artış gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca ağır metal + NAC grupları arasında da kontrol grubuna kıyasla en fazla artışın Cd + NAC grubunda ($25,06 \text{ nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 3.11. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde cys içeriğine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir ($n=3$). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

Sürgün ağır metal uygulama gruplarına ait cys içeriğinin kontrol grubuna kıyasla ($9,32 \text{ nmol } 100 \text{ g}^{-1}$) istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı ve en yüksek

artışın Cd (24,07 nmol 100 g⁻¹) ve Hg (24,54 nmol 100 g⁻¹) uygulama gruplarında olduğu belirlenmiştir. Ağır metal + NAC uygulama gruplarında ise Hg + NAC (9,92 nmol 100 g⁻¹) hariç diğer gruplarda da cys içeriğinin arttığı belirlenmiştir.

3.10. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Prolin (pro) İçeriğine Olan Etkisi

Ağır metal ve NAC uygulama koşullarında buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde pro içeriğindeki değişim Şekil 3.12’de gösterilmiştir.

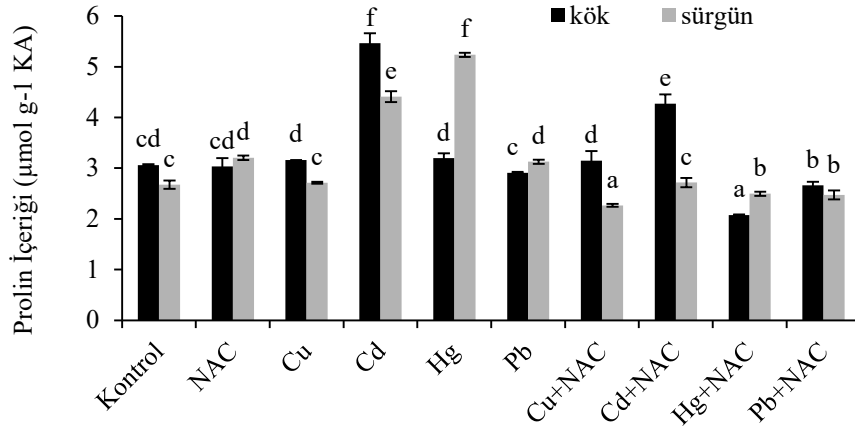
Köke ait gruplarda arasında pro içeriğinin yalnızca Cd uygulanan gruplarda (Cd grubu için 5,46 µmol g⁻¹ ve Cd + NAC için 4,27 µmol g⁻¹) kontrol grubuna kıyasla (3,10 µmol g⁻¹) istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı, Pb uygulanan grupta ise (2,73 µmol g⁻¹) azaldığı belirlenmiştir.

Ağır metal uygulamalarının (Cu ağır metali hariç) buğday fidelerinin sürgünlerinde pro içeriğini kontrol grubuna (2,67 µmol g⁻¹) kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) artırdığı ve en fazla artışın Hg uygulama grubunda (5,23 µmol g⁻¹) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçların tam aksine ağır metal + NAC uygulamalarının Cd + NAC uygulama grubunda pro içeriğinde bir değişikliğe neden olmadığı, ancak kontrollerle karşılaştırıldığında diğer gruplarda kontrol grubuna kıyasla bir azalmaya neden olduğu kaydedilmiştir.

3.11. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde TBARS (Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri) Eşdeğerine Olan Etkisi

Çalışmada kullanılan buğday bitkisinin kök ve sürgünlerinde ağır metal ve NAC uygulamalarına bağlı olarak TBARS değerinde meydana gelen değişimler Şekil 3.13’de gösterilmektedir.

Ağır metal uygulanan bitkilerin kök TBARS içeriğinin hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol gruplarına kıyasla (sırasıyla 1,15 nmol g⁻¹) istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre en yüksek artış Cu (6,15 nmol g⁻¹) uygulama grubunda kaydedilmiştir. Öte yandan NAC + ağır metal uygulama gruplarında, ağır metal gruplarına kıyasla TBARS içeriğinde en belirgin azalma Hg + NAC uygulama grubunda bulunmuştur.



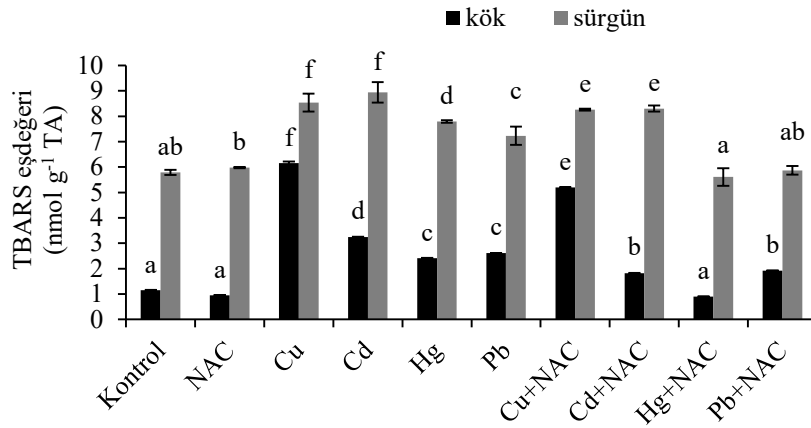
Şekil 3.12. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde pro içeriğine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

Sürgüne ait kontrol grubunda $5,79 \text{ nmol g}^{-1}$ olarak bulunmuş olan TBARS içeriği ağır metal uygulama gruplarında artış göstermiştir. Buna göre en yüksek artış Cd ($8,94 \text{ nmol g}^{-1}$) ve Cu ($8,74 \text{ nmol g}^{-1}$) uygulama gruplarında tespit edilmiştir. Ağır metal + NAC uygulama gruplarında TBARS içeriğinin $5,61$ ila $8,30 \text{ nmol g}^{-1}$ arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu grupta istatistiki olarak önemli bulunan en belirgin azalma Hg + NAC tespit edilmiştir.

3.12. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Poliamin İçeriğine Olan Etkisi

Kontrol, ağır metal ve NAC uygulama koşullarında büyütülen buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde poliamin içeriği Tablo 3.8 de verilmiştir.

Putresin (Put), spermidin (Spd) ve spermin (Spm) olmak üzere buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde belirlenen üç farklı poliamin çelidinin içeriğinde meydana gelen değişimler, fidelere uygulanan ağır metal çeşidine göre farklılık göstermiştir.



Şekil 3.13. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde TBARS eşdeğeri içeriğine olan etkisi. Her dikey çubuk ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

Köke ait hiçbir muamelenin olmadığı kontrol grubunda Put içeriği $127,98 \text{ nmol g}^{-1}$, Spd içeriği $2,19 \text{ nmol g}^{-1}$ ve Spm içeriği $314,42 \text{ nmol g}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Ağır metal uygulama gruplarında Put içeriğinin $28,08$ (Pb) – $194,93 \text{ nmol g}^{-1}$ (Cu) arasında, Spd içeriğinin $0,36$ (Pb) – $11,45 \text{ nmol g}^{-1}$ (Cu), Spm içeriğinin $7,75$ (Pb) – $328,96 \text{ nmol g}^{-1}$ (Cu) arasında değişiklik gösterdiği kaydedilmiştir. Köke ait ağır metal uygulama grupları arasında Put, Spd ve Spm içeriğinin kontrol grubuna kıyasla en düşük miktarda olan grubun Pb uygulama grubu olduğu belirlenmiştir. Ağır metal + NAC uygulama gruplarında ise Put içeriğinin $17,72$ (Pb + NAC) – $146,02 \text{ nmol g}^{-1}$ (Cu + NAC), Spd içeriğinin $0,44$ (Hg + NAC) – $11,49 \text{ nmol g}^{-1}$ (Cu + NAC), Spm içeriğinin ise $10,56$ (Pb) – $226,75$ (Cu + NAC) nmol g^{-1} arasında değiştiği kaydedilmiştir. Put ve Spd içeriğinin yalnızca Cu ve Cu + NAC uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı bulunmuştur (Tablo 3.8).

Sürgünlere ait ağır metal ve ağır metal + NAC uygulama gruplarında Put, Spd ve Spm içeriklerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) düştüğü tespit edilmiştir. Kontrol grubunun Put içeriği $107,58 \text{ nmol g}^{-1}$, Spd içeriği $250,67 \text{ nmol g}^{-1}$ ve Spm içeriği $296,99 \text{ nmol g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Uygulanan ağır metaller arasında en düşük Put, Spd ve Spm içeriği Cd uygulama grubunda (sırasıyla $15,51$, $6,04$ ve $7,30 \text{ nmol g}^{-1}$) belirlenmiştir. Poliamin içeriğinin NAC uygulaması yapılan ağır metal gruplarında kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir, ancak Put, Spd ve

Spm içeriklerinin Cd + NAC ve Hg + NAC gruplarında Cd ve Hg gruplarına kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı tespit edilmiştir.

Tablo 3.8. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde poliamin içeriğine (nmol g^{-1} KA) olan etkisi. Her değer ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir ($n=3$). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında $P < 0,05$ seviyesinde fark yoktur.

Kök			
Uygulamalar	Put	Spd	Spm
Kontrol	127,98 \pm 1,67 ^c	2,19 \pm 0,22 ^{bc}	314,42 \pm 45,79 ^e
NAC	91,75 \pm 1,99 ^{cd}	3,62 \pm 0,51 ^d	342,37 \pm 10,90 ^f
Cu	194,93 \pm 24,41 ^g	11,45 \pm 2,04 ^e	328,96 \pm 6,73 ^e
Cd	80,62 \pm 3,12 ^c	0,79 \pm 0,33 ^a	48,14 \pm 2,07 ^b
Hg	101,27 \pm 15,40 ^d	2,83 \pm 0,54 ^{cd}	47,46 \pm 3,11 ^b
Pb	28,08 \pm 5,35 ^a	0,36 \pm 0,27 ^a	7,75 \pm 1,62 ^a
Cu + NAC	146,02 \pm 2,95 ^f	11,49 \pm 1,98 ^e	226,75 \pm 33,57 ^d
Cd + NAC	91,93 \pm 4,66 ^{cd}	1,41 \pm 0,07 ^{ab}	90,98 \pm 0,83 ^c
Hg + NAC	67,06 \pm 0,08 ^b	0,44 \pm 0,00 ^a	41,63 \pm 6,39 ^b
Pb + NAC	17,72 \pm 0,60 ^a	4,12 \pm 0,01 ^d	10,56 \pm 0,32 ^a
Sürgün			
Kontrol	107,58 \pm 3,17 ^c	250,67 \pm 22,61 ^c	296,99 \pm 24,45 ^d
NAC	108,65 \pm 7,44 ^e	259,36 \pm 12,25 ^c	335,11 \pm 18,22 ^e
Cu	56,30 \pm 1,56 ^c	57,61 \pm 2,88 ^b	89,05 \pm 3,92 ^c
Cd	15,51 \pm 0,41 ^a	6,04 \pm 0,06 ^a	7,30 \pm 1,16 ^a
Hg	22,06 \pm 1,35 ^b	7,68 \pm 1,12 ^a	8,62 \pm 0,91 ^a
Pb	22,63 \pm 6,04 ^b	14,25 \pm 3,17 ^a	7,53 \pm 0,16 ^a
Cu + NAC	55,29 \pm 3,93 ^c	61,77 \pm 6,86 ^b	79,03 \pm 12,51 ^c
Cd + NAC	69,14 \pm 5,91 ^d	60,78 \pm 7,17 ^b	79,41 \pm 12,27 ^c
Hg + NAC	70,66 \pm 6,62 ^d	50,62 \pm 5,88 ^b	46,98 \pm 0,41 ^b
Pb + NAC	18,50 \pm 2,60 ^{ab}	11,33 \pm 0,84 ^a	8,38 \pm 0,97 ^a

3.13. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Şeker İçeriğine Olan Etkisi

Ağır metal ve NAC uygulama koşullarında buğday fidelerinin kök ve sürgünlerine ait çözünebilir şeker içeriğindeki değişimler Tablo 3.9'da verilmiştir.

Köke ait ağır metal uygulama gruplarında fruktoz içeriğinin Cd grubunda (906,06 mg 100 g⁻¹) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı belirlenmiştir. Öte yandan glukoz ve sükroz içeriklerinin tüm ağır metal uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla (sırasıyla 389,0 ve 327,08 mg 100 g⁻¹) arttığı, en yüksek glukoz içeriği Pb uygulama grubunda (660,44 mg 100 g⁻¹) ve en yüksek sükroz içeriği ise Cu grubunda (842,21 mg 100 g⁻¹) belirlenmiştir. Buğday fidelerinin köklerine ait toplam (Σ) şeker içeriğinin ağır metal uygulama gruplarında 1516,71 (Hg) - 2346,13 mg 100 g⁻¹ (Cu), ağır metal + NAC gruplarında ise 1859,30 (Cu + NAC) - 2662,93 mg 100 g⁻¹ (Cd + NAC) arasında değiştiği, ve kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı kaydedilmiştir.

Buğday fidelerinin sürgünlerine ait ağır metal ve NAC uygulamalarının bireysel şeker ve toplam şeker içeriğinde kontrollerine kıyasla (fruktoz 547,5, glukoz 2102,15, sükroz 649,89 ve toplam şeker 3299,54 mg 100 g⁻¹) istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) artışa neden olduğu kaydedilmiştir. En yüksek fruktoz ve sükroz içeriği Pb uygulama grubunda (sırasıyla 1262,56 ve 1121,64 mg 100 g⁻¹), glukoz içeriği ise Cu uygulama grubunda (2895,51 mg 100 g⁻¹) belirlenmiştir. Ağır metal + NAC uygulama gruplarında en yüksek fruktoz ve glukoz içeriği Cu + NAC grubunda (sırasıyla 1128,71 ve 2756,79 mg 100), sükroz içeriği ise Cd + NAC (2317,84 mg 100 g⁻¹) gruplarında tespit edilmiştir. Sürgüne ait toplam şeker içeriğinin ağır metal uygulama gruplarında 4770,86 (Cd) - 4870,60 mg 100 g⁻¹ (Cu) arasında, ağır metal + NAC uygulama gruplarında 3685,48 (Hg + NAC) - 4762,60 mg 100 g⁻¹ (Cu + NAC) arasında değiştiği ve kontrollerine kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı kaydedilmiştir.

Tablo 3.9. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde şeker içeriğine (mg 100 g⁻¹ TA) olan etkisi. Her değer ortalama ± standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında P < 0,05 seviyesinde fark yoktur.

Kök				
Uygulamalar	Fruktoz	Glukoz	Sükroz	ΣŞeker
Kontrol	548,30 ± 39,26 ^{cd}	389,00 ± 49,46 ^a	327,08 ± 21,33 ^b	1264,38 ± 15,43 ^b
NAC	466,87 ± 27,40 ^{ab}	372,33 ± 3,60 ^a	219,86 ± 33,48 ^a	1059,06 ± 56,81 ^a
Cu	444,54 ± 19,04 ^a	553,83 ± 28,10 ^b	842,21 ± 30,00 ^g	1840,58 ± 22,22 ^d
Cd	906,06 ± 56,03 ^f	653,19 ± 22,33 ^c	786,88 ± 32,91 ^f	2346,13 ± 46,39 ^f
Hg	600,50 ± 48,51 ^d	511,84 ± 23,88 ^b	404,37 ± 22,57 ^c	1516,71 ± 87,55 ^c
Pb	597,08 ± 39,51 ^{cd}	660,44 ± 57,16 ^c	547,00 ± 25,66 ^d	1804,52 ± 11,27 ^d
Cu + NAC	530,83 ± 43,67 ^{bc}	646,50 ± 42,92 ^c	681,97 ± 56,23 ^c	1859,30 ± 65,51 ^d
Cd + NAC	1051,56 ± 39,58 ^g	718,23 ± 26,87 ^d	893,14 ± 17,68 ^g	2662,93 ± 24,01 ^h
Hg + NAC	797,89 ± 26,08 ^e	870,02 ± 24,57 ^c	864,31 ± 32,99 ^g	2532,22 ± 66,84 ^g
Pb + NAC	819,49 ± 18,75 ^c	616,53 ± 11,55 ^c	596,60 ± 18,96 ^d	2032,62 ± 18,35 ^c
Sürgün				
Kontrol	547,50 ± 20,90 ^a	2102,15 ± 98,77 ^b	649,89 ± 58,23 ^b	3299,54 ± 71,02 ^b
NAC	601,36 ± 32,80 ^a	1924,26 ± 3,58 ^a	449,47 ± 5,42 ^a	2975,09 ± 26,88 ^a
Cu	887,50 ± 50,59 ^b	2895,51 ± 32,11 ^f	1087,59 ± 32,11 ^f	4870,60 ± 49,01 ^f
Cd	1197,79 ± 17,91 ^g	2742,43 ± 51,82 ^e	830,64 ± 25,40 ^c	4770,86 ± 52,76 ^f
Hg	1150,65 ± 26,68 ^{fg}	2593,07 ± 51,43 ^d	1070,12 ± 17,54 ^d	4813,84 ± 95,49 ^f
Pb	1262,56 ± 64,11 ^h	2404,22 ± 62,23 ^c	1121,64 ± 45,80 ^d	4788,42 ± 99,72 ^f
Cu + NAC	1128,71 ± 21,92 ^{ef}	2756,79 ± 56,73 ^e	877,10 ± 65,95 ^c	4762,60 ± 30,86 ^f
Cd + NAC	1034,82 ± 10,94 ^d	2317,84 ± 94,46 ^c	898,96 ± 31,36 ^c	4251,62 ± 80,07 ^e
Hg + NAC	964,81 ± 21,64 ^c	2041,97 ± 41,03 ^b	678,70 ± 63,83 ^b	3685,48 ± 92,50 ^c
Pb + NAC	1076,60 ± 37,43 ^{de}	2027,83 ± 53,69 ^b	843,99 ± 6,97 ^c	3948,42 ± 27,92 ^d

3.14. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Organik Asit İçeriğine Olan Etkisi

Ağır metal ve NAC uygulamasının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerindeki organik asit içeriği Tablo 3.10'da verilmiştir.

Buğday fidelerinin köklerinde tartarik asit içeriğinin ağır metal uygulama grubunda 771,55 – 356,22 mg 100 g⁻¹ arasında, ağır metal + NAC grubunda ise 453,48 – 738,84 mg 100 g⁻¹ arasında değiştiği ve yalnızca Hg (356,22 mg 100 g⁻¹) ve Hg + NAC (453,48 mg 100 g⁻¹) uygulama gruplarında kontrollerine (537,76 mg 100 g⁻¹) kıyasla azaldığı

belirlenmiştir. Malik asit içeriğinin ağır metal gruplarında 265,81 (Cu) - 392,33 mg 100 g⁻¹ (Hg) arasında, ağır metal + NAC gruplarında 203,14 (Cu + NAC) - 288,11 mg 100 g⁻¹ (Cd + NAC) arasında değiştiği ve tüm uygulama gruplarında kontrollerine (107,93 mg 100 g⁻¹) kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı kaydedilmiştir. Askorbik asit içeriğinin ağır metal gruplarında 115,00 (Cu) - 248,55 mg 100 g⁻¹ (Hg) arasında, ağır metal + NAC gruplarında da 25,91 (Cu + NAC) - 250,35 mg 100 g⁻¹ (Pb + NAC) arasında değiştiği ve yalnızca Hg, Pb ve Pb + NAC uygulama gruplarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (205,54 mg 100 g⁻¹) istatistiki olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) arttığı tespit edilmiştir. Kök uygulama gruplarına ait sitrik asit içeriği ise ağır metal uygulaması ile 44,21 (Hg) - 85,73 mg 100 g⁻¹ (Pb) arasında, ağır metal + NAC uygulaması ile 42,02 (Cd + NAC) - 95,36 mg 100 g⁻¹ (Pb + NAC) arasında değiştiği ve tüm uygulama gruplarında kontrollerine (40,61 mg 100 g⁻¹) kıyasla istatistiki olarak önemli bulunan ($P < 0,05$) bir artış belirlenmiştir.

Tartarik asit içeriğinin sürgüne ait ağır metal gruplarında 339,27 (Hg) - 470,84 mg 100 g⁻¹ (Pb) arasında, ağır metal + NAC gruplarında ise 407,92 (Pb + NAC) - 469,79 mg 100 g⁻¹ (Cd + NAC) arasında değiştiği ve Hg grubunda kontrol grubuna (364,57 mg 100 g⁻¹) kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) azaldığı belirlenmiştir. Sürgünlere ait malik asit içeriği ağır metal uygulamaları ile 322,92 (Pb) - 974,12 mg 100 g⁻¹ (Cu) arasında, ağır metal + NAC uygulamaları ile de 258,72 (Pb + NAC) - 734,39 mg 100 g⁻¹ (Cu + NAC) arasında değişmektedir ve içeriğin tüm gruplarda kontrol grubuna (1554,13 mg 100 g⁻¹) kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) azaldığı kaydedilmiştir. Askorbik asit içeriğinin ağır metal grubunda 188,97 (Pb) - 276,56 mg 100 g⁻¹ (Cd), ağır metal + NAC grubunda 201,51 (Cd + NAC) - 257,55 mg 100 g⁻¹ (Cu + NAC) arasında değiştiği ve malik asit içeriğinde olduğu gibi tüm gruplarda kontrol grubuna (330,82 mg 100 g⁻¹) kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) azaldığı tespit edilmiştir. Sitrik asit içeriğinde ağır metal gruplarında kontrol grubuna (46,5 mg 100 g⁻¹) kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) bir değişim belirlenememiş, Hg + NAC grubunda (60,95 mg 100 g⁻¹) ise kontrol grubuna kıyasla artış belirlenmiştir.

Tablo 3.10. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde organik asit içeriğine (mg 100 g⁻¹ TA) olan etkisi. Her değer ortalama \pm standard hata (SEM) olarak belirtilmiştir (n=3). Karşılaştırma için tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Her kolon kendi içinde karşılaştırılmıştır ve aynı harf ile gösterilen değerler arasında P < 0,05 seviyesinde fark yoktur.

Kök				
Uygulamalar	Tartarik Asit	Malik Asit	Askorbik Asit	Sitrik Asit
Kontrol	537,76 \pm 6,00 ^c	107,93 \pm 0,66 ^a	205,54 \pm 31,90 ^c	40,61 \pm 2,02 ^b
NAC	752,02 \pm 6,09 ^{fg}	96,37 \pm 3,71 ^a	247,45 \pm 21,19 ^d	31,34 \pm 0,37 ^a
Cu	652,15 \pm 38,13 ^e	265,81 \pm 17,24 ^c	115,00 \pm 19,00 ^b	44,92 \pm 2,42 ^{bc}
Cd	771,55 \pm 4,61 ^g	361,87 \pm 1,87 ^e	219,33 \pm 11,55 ^{cd}	47,03 \pm 1,02 ^c
Hg	356,22 \pm 11,92 ^a	392,33 \pm 2,71 ^f	248,55 \pm 8,34 ^d	44,21 \pm 1,03 ^{bc}
Pb	667,18 \pm 39,40 ^e	352,87 \pm 1,25 ^e	242,44 \pm 28,60 ^d	85,73 \pm 2,29 ^f
Cu + NAC	604,99 \pm 30,51 ^d	203,14 \pm 6,66 ^b	25,91 \pm 2,41 ^a	58,88 \pm 3,31 ^c
Cd + NAC	718,09 \pm 23,34 ^f	288,11 \pm 7,29 ^d	196,87 \pm 15,71 ^c	42,02 \pm 2,16 ^{bc}
Hg + NAC	453,48 \pm 22,99 ^b	287,94 \pm 12,08 ^d	145,11 \pm 16,16 ^b	53,20 \pm 0,95 ^d
Pb + NAC	738,84 \pm 42,11 ^{fg}	259,90 \pm 3,65 ^c	250,35 \pm 13,22 ^d	95,36 \pm 7,67 ^g
Sürgün				
Kontrol	364,57 \pm 27,52 ^{ab}	1554,13 \pm 20,18 ^c	330,82 \pm 33,37 ^c	46,50 \pm 1,76 ^a
NAC	511,32 \pm 5,32 ^e	1746,38 \pm 209,48 ^f	259,14 \pm 11,64 ^{cd}	84,13 \pm 1,20 ^c
Cu	409,99 \pm 14,27 ^{bc}	974,12 \pm 50,89 ^d	218,29 \pm 4,76 ^{ab}	45,86 \pm 0,55 ^a
Cd	414,20 \pm 26,70 ^c	440,40 \pm 2,50 ^b	276,56 \pm 21,60 ^d	41,74 \pm 4,89 ^a
Hg	339,27 \pm 6,28 ^a	396,74 \pm 6,09 ^{ab}	231,77 \pm 7,17 ^{bc}	47,68 \pm 0,06 ^a
Pb	470,84 \pm 37,32 ^{de}	322,92 \pm 14,85 ^{ab}	188,97 \pm 31,48 ^a	42,78 \pm 1,00 ^a
Cu + NAC	455,37 \pm 38,38 ^{cd}	734,39 \pm 79,14 ^c	257,55 \pm 0,69 ^{cd}	51,14 \pm 5,29 ^{ab}
Cd + NAC	469,79 \pm 12,73 ^{de}	625,27 \pm 84,42 ^c	201,51 \pm 6,42 ^{ab}	43,97 \pm 0,71 ^a
Hg + NAC	412,65 \pm 42,02 ^c	279,47 \pm 5,46 ^a	208,77 \pm 10,17 ^{ab}	60,95 \pm 16,77 ^b
Pb + NAC	407,92 \pm 12,39 ^{bc}	258,72 \pm 0,88 ^a	202,65 \pm 14,03 ^{ab}	42,11 \pm 0,17 ^a

3.15. Ağır Metal ve NAC Uygulamalarının Buğday Fidelerinin Kök ve Sürgünlerinde Morfolojik Parametre Sonuçları ile Farklı Antioksidan Değerleri Arasındaki İlişki

Buğday fidelerinin kök ve sürgünlerinde ağır metal ve NAC uygulamasıyla fide uzunluğu, taze ve kuru ağırlık ile antioksidan enzim aktivite (POX, CAT, SOD, APX, GR, MDHAR, DHAR), TFM, GSH, cys, pro, TBARS ve H₂O₂ içeriği değerleri istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır (Tablo 3.11 ve 3.12). Buna göre ağır metal ve NAC uygulamaları yapılan buğday fidelerinin köklerine ait sonuçlar birbirleri ile istatistiki olarak ilişkilendirildiğinde, sırasıyla UZ, TA ve KA sonuçlarının, POX (sırasıyla 0,903**,

0,790**, 0,788**, $P < 0,01$), APX (-0,633*, -0,698*, -0,719*, $P < 0,05$), TFM (-0,835*, -0,818**, -0,831** $P < 0,05$, $P < 0,01$), TBARS (-0,786**, -0,802**, -0,843**, $P < 0,01$) ve H_2O_2 (-0,826**, -0,888**, -0,914**, $P < 0,01$) içerikleri ile yüksek düzeyde ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca TFM ve TBARS içerikleri de H_2O_2 içeriği ile (0,677* ve -0,968** $P < 0,05$, $P < 0,01$) yüksek düzeyde ilişkili olduğu kaydedilmiştir. Antioksidan enzimler arasında yalnızca POX ve APX aktivitesi TFM (-0,891** ve 0,674* $P < 0,01$, $P < 0,05$) yüksek düzeyde ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.12'de yer alan sonuçlara bakıldığında, sürgün UZ, TA ve KA değerleri POX (-0,709*, -0,746*, -0,768*, $P < 0,05$), CAT (0,899**, 0,858**, 0,889**, $P < 0,01$), SOD (-0,868**, -0,786**, -0,843**, $P < 0,01$), GR (-0,729*, -0,642*, -0,727*, $P < 0,05$), DHAR (-0,870**, -0,847**, -0,890**, $P < 0,01$), cys (-0,945**, -0,965**, -0,946**, $P < 0,01$), pro (-0,660*, -0,656*, -0,658*, $P < 0,05$) ve TBARS (sırasıyla -0,894**, -0,846**, -0,841**, $P < 0,01$) içerikleriyle ve UZ ve TBARS içeriğinin H_2O_2 (-0,655* ve 0,703* $P < 0,05$) içeriği ile yüksek düzeyde ilişkili olduğu saptanmıştır.

Tablo 3.11. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin köklerinde uzunluk (UZ), kuru ağırlık (KA), taze ağırlık (TA), POX, CAT, SOD, APX, GR, MDHAR ve DHAR aktivitelerinin, toplam fenolik madde (TFM) glutatyon (GSH), sistein (cys), prolin (pro), TBARS ve H₂O₂ içeriğinin Pearson korelasyonları.

Değişken	TA	KA	POX	CAT	SOD	APX	GR	MDHAR	DHAR	TFM	GSH	Prolin	Sistein	TBARS	H ₂ O ₂
UZ	0,934**	0,944**	0,903**	0,177	-0,567	-0,633*	0,078	0,274	-0,331	-0,835**	0,257	-0,402	-0,489	-0,786**	-0,826**
TA	1	0,990**	0,790**	0,231	-0,560	-0,698*	0,021	0,451	-0,301	-0,818**	0,310	-0,374	-0,419	-0,802**	-0,888**
KA	-	1	0,788**	0,142	-0,548	-0,719*	-0,032	0,391	-0,286	-0,831**	0,300	-0,415	-0,394	-0,843**	-0,914**
POX	-	-	1	0,269	-0,290	-0,501	0,315	0,231	-0,046	-0,891**	0,195	-0,423	-0,619	-0,566	-0,622
CAT	-	-	-	1	0,087	0,388	0,643*	0,617	0,140	-0,079	0,638*	0,348	0,139	0,157	0,104
SOD	-	-	-	-	1	0,578	0,407	0,015	0,890**	0,340	0,092	0,318	0,198	0,569	0,565
APX	-	-	-	-	-	1	0,293	0,123	0,373	0,674*	0,096	0,646*	0,485	0,772**	0,796**
GR	-	-	-	-	-	-	1	0,410	0,337	-0,154	0,340	-0,099	-0,293	0,382	0,364
MDHAR	-	-	-	-	-	-	-	1	0,090	-0,301	0,247	-0,042	-0,179	0,079	-0,108
DHAR	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,095	0,248	0,184	0,185	0,354	0,308
TFM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-0,004	0,673*	0,674*	0,576	0,677*
GSH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,324	0,515	-0,298	-0,232
Prolin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,634*	0,204	0,260
Sistein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,119	0,228
TBARS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,968**

** $P < 0,01$ seviyesinde önemli, * $P < 0,05$ seviyesinde önemli

Tablo 3.12. Ağır metal ve NAC uygulamalarının buğday fidelerinin sürgünlerinde uzunluk (UZ), kuru ağırlık (KA), taze ağırlık (TA), POX, CAT, SOD, APX, GR, MDHAR ve DHAR aktivitelerinin, toplam fenolik madde (TFM), glutatyon (GSH), sistein (cys), prolin (pro), TBARS ve H₂O₂ içeriğinin Pearson korelasyonları.

Değişken	TA	KA	POX	CAT	SOD	APX	GR	MDHAR	DHAR	TFM	GSH	Prolin	Sistein	TBARS	H ₂ O ₂
UZ	0,981**	0,989**	-0,709*	0,899**	-0,869**	-0,606	-0,729*	0,376	-0,870**	-0,148	0,096	-0,660*	-0,945**	-0,894**	-0,655*
TA	1	0,989**	-0,746*	0,858**	-0,786**	-0,506	-0,642*	0,406	-0,847**	-0,220	0,152	-0,656*	-0,965**	-0,846**	-0,616
KA	-	1	-0,768**	0,889**	-0,843**	-0,597	-0,727*	0,383	-0,890**	-0,200	0,197	-0,658*	-0,946**	-0,841**	-0,609
POX	-	-	1	-0,478	0,649*	0,514	0,562	-0,183	0,877**	-0,022	-0,680*	0,816**	0,733*	0,353	0,187
CAT	-	-	-	1	-0,843**	-0,525	-0,814**	0,452	-0,743*	-0,388	-0,070	-0,326	-0,785**	-0,896**	-0,774**
SOD	-	-	-	-	1	0,609	0,915**	-0,406	0,890**	0,130	-0,066	0,499	0,733*	0,807**	0,599
APX	-	-	-	-	-	1	0,620	0,234	0,588	-0,263	-0,358	0,651*	0,526	0,433	0,133
GR	-	-	-	-	-	-	1	-0,409	0,758*	0,267	-0,083	0,338	0,617	0,664*	0,526
MDHAR	-	-	-	-	-	-	-	1	-0,367	-0,354	-0,409	0,119	-0,382	-0,495	-0,448
DHAR	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-0,004	-0,398	0,688*	0,765*	0,646*	0,495
TFM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,162	-0,435	0,210	0,277	0,175
GSH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-0,529	-0,110	0,335	0,283
Prolin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,700*	0,338	0,164
Sistein	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,820**	0,490
TBARS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,703*

** $P < 0,01$ seviyesinde önemli, * $P < 0,05$ seviyesinde önemli

4. TARTIŞMA

Dünya sağlık örgütü (WHO)'nün değerlendirmelerine göre dünyanın çeşitli bölgelerinde milyonlarca insan yetersiz beslenmekte, milyonlarcası ise yeterli gıda almasına rağmen vitamin ve mineral bakımından dengesiz ve yetersiz beslenen “gizli açlık” ile mücadele etmektedir. Küreselleşme ile birlikte gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkeler gelişmiş ülkelere gittikçe artan oranda bağımlı hale gelmekte ve zaten var olan gelir dağılımı eşitsizliği de yıldan yıla artmaktadır (Aktas, 2006). Bir ülkede hızla artan nüfus oranı, dış ülkelere olan teknolojik ve ticari bağımlılık ile birleştiğinde, o ülkede yoksulluk ve açlık önlenemez bir hal almaktadır. Gelişmiş ülkeler dünyadaki açlık sorununu, henüz insan sağlığına etkileri tam olarak anlaşılabilen genetiği değiştirilmiş ürünler ile çözmeye çalışmaktadır. Ancak yalnızca ekonomik kâr amaçlı yapılan bu çalışmalar, açlık ve yoksulluk sorununu çözmediği gibi yeterli besin kalitesi sağlama açısından da zayıf kalmaktadır (Aktas, 2006; Kaur vd., 2015). Küresel ısınma ile birlikte artan kuraklık, gelişen sanayi ile birlikte artan ağır metal kirliliği gibi, bitkiler üzerinde stres oluşturan koşullardan dolayı tarımsal alanlar gittikçe azalmakta ve birim alan başına düşen verimle birlikte ürün kalite ve miktarı da düşmektedir. Bu durum açlık ve yoksulluğun tüm dünyada dramatik bir şekilde artışına neden olmaktadır (Kaur vd., 2015; Schmidhuber ve Tubiello 2007). Bu nedenlerden dolayı tarımda verimi artırabilmek için kısa süreli ve tekrarlı çözümler yerine, uzun vadeli, yalnızca birim alan başına düşen verimin yanında besin kalitesinin de dikkate alındığı yeni çözüm yöntemleri geliştirilmelidir.

Yenilebilir tohum olan tahılların tüm dünya çapında buğday, arpa, mısır, çavdar, yulaf, trikale gibi çok çeşitli türleri bulunmaktadır. Tahıllar gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en temel besin kaynağıdır. Tahıl ve tahıl ürünleri, E vitamini, bazı B vitaminleri, magnezyum ve çinko gibi birçok mikronutrient içeren önemli bir enerji, karbohidrat, protein ve lif kaynağıdır. Ayrıca çeşitli biyoaktif bileşikler içerdiklerinden dolayı birçok açıdan insan sağlığına faydalıdır. Buğday dünyada en çok yetiştirilen tahıllar arasında listenin başında yer almaktadır. Buğday un, bulgur, kuskus, kırık buğday, nişasta gibi birçok gıdanın üretiminde kullanılır. Bu nedenlerden ve ayrıca kolay ve hızlı yetişmesinden dolayı buğday stres çalışmaları ve besin içeriği gibi farklı fizyolojik ve biyokimyasal çalışmalarda dünya çapında başrollerde görev almaktadır (McKevith, 2004).

N-asetilsistein (NAC), sistein amino asidinin asetillenmesi ile oluşan düşük molekül ağırlıklı bir moleküldür. Uzun yıllardır bronşit, kardiyak rahatsızlıklar, HIV/AIDS gibi hastalıkların ve ağır metal zehirlenmesi ile kemoterapi teşvikli toksisite gibi durumlarda tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Samuni vd., 2013). Son birkaç yıldır biyotik ve abiyotik stres altındaki bitkilerin strese karşı verdikleri cevabı NAC'ın nasıl etkilediği konusunda çeşitli çalışmalar yapılmıştır ancak bu çalışmalar NAC'ın stres altındaki bitkilerde oluşturduğu etkileri açıklama konusunda yeterli değildir.

Mevcut çalışmada *Triticum aestivum* L. 'Ceyhan-99' buğday çeşidinin Cu, Cd, Hg ve Pb (100 µM) ağır metal stresine karşı vermiş olduğu yanıt ve bu yanıtı karşı NAC'ın (1 mM) rolü, enzimatik olan ve olmayan antioksidan savunma sistemi bileşenleri fizyolojik ve biyokimyasal düzeyinde aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Ağır metal stresi bitkilerde, ağır metallerin özellikle işlevsel proteinlerde farklı metaller yerine geçerek, enzimlere bağlanarak ya da bitkide ROS oluşumunu artırarak büyümenin azalmasına ya da engellenmesine neden olmaktadır (Michalak, 2006). Büyüme ölçütlerinden bazıları olan kök uzunluğu, taze ve kuru ağırlık değerlerine bakıldığında, kontrol grubuna kıyasla kök uzunluğunda azalmaya en fazla Hg (9,49 cm azalma) uygulaması, taze ve kuru ağırlıkta ise en fazla Cu (sırasıyla 25,03 ve 2,05 mg azalma) uygulaması neden olmuştur. Sürgünlere ait uzunluk, taze ve kuru ağırlıkta kontrol grubuna kıyasla en fazla azalmaya Hg (sırasıyla 7,14 cm, 46,75 mg ve 5,01 mg azalma) uygulaması neden olmuştur. Morfolojik parametrelere ait bu sonuçlardan büyümeyi en fazla Hg uygulamasının indirgediği anlaşılmaktadır. Munzuroglu ve Geckil (2002)'in kışlık buğday bitkisi ile yapmış oldukları çalışmada, uyguladıkları aynı derişime sahip farklı ağır metaller (CuCl₂, CdCl₂, CoCl₂, HgCl₂, PbCl₂ ve ZnCl₂) arasında kök uzunluğunu önemli düzeyde azaltan ağır metalin Hg olduğunu ortaya koymuşlardır.

Buğday kök ve sürgünlerinde NAC'ın ağır metallerin olumsuz etkilerini iyileştirme rolünün incelendiği bu çalışmada, buğday fidelerine ait uygulama gruplarında ağır metal stresi nedeniyle indirgenen kök ve sürgüne ait uzunluk, taze ve kuru değerlerinde NAC'ın istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) artışa neden olması, NAC'ın Cu hariç diğer ağır metallerin morfometrik ölçümler üzerindeki olumsuz etkilerini hafiflettiğini göstermektedir. Ağır metaller içerisinde kök ve sürgün uzunluğunda, taze ve kuru ağırlıkta yalnızca ağır metal uygulama gruplarına kıyasla en fazla artış Hg + NAC grubunda belirlenmiştir. Bu sonuçlar Hg'nin diğer ağır metallere kıyasla tiyol (sülfidril, -SH) gruplarına olan yüksek ilgisi (James vd., 2005) ile ilişkili olabilir.

Buğday bitkisinde oluşturulan uygulama gruplarına ait ağır metal içeriklerine ait değerler incelendiğinde (Tablo 3.2), su kültürü ortamına katılan ağır metallerin köklerle alındığı ve köklerden sürgünlere doğru iletildiği anlaşılmaktadır. Ağır metaller ile birlikte NAC uygulamasının ise içsel ağır metal içeriğinde bir azalmaya neden olduğu ve en fazla azalmanın da Hg içeriğinde olduğu belirlenmiştir. Kadmiyum uygulaması yapılan iki arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşidinde içsel Cd içeriğinin arttığı ve NAC uygulaması ile birlikte Cd içeriğinin istatistiksel olarak önemli düzeyde ($P < 0,05$) azaldığı belirlenmiştir (Sun vd., 2014). Benzer şekilde Deng vd. (2010) *Solanum nigrum* L. bitkisine Cd uygulamışlar, bitkinin kök ve sürgün uzunluğunda ve kuru ağırlığında genel bir azalmaya paralel Cd içeriğinde artış olduğunu belirlemişlerdir. Mevcut çalışmada Cd ile birlikte NAC uygulamasının, kök ve sürgün uzunluğu ve kuru ağırlığında artış ve Cd içeriğinde önemli bir azalmaya neden olduğunu bulunmuştur. Ağır metallerin –SH içeren bileşikler ile kompleks oluşturdukları uzun zamandan beri bilinmektedir (Jensen vd., 1999; James vd., 2005; Jalilehvand vd., 2011; Sun vd., 2014). Bu bağlamda NAC'ın sahip olduğu –SH grubu ile ağır metaller arasında bağ oluştuğu ve oluşan kompleks yapının ağır metallerin köklerle alınmasına engel olabileceği düşünülmektedir (Sun vd., 2014). Bu ifade çalışmamızdaki mevcut bulgularla desteklenmektedir, çünkü Hg'nin –SH grubuna diğer ağır metallere göre daha yüksek ilgisi bulunmaktadır (Shrivastava vd., 2015) ve stres altındaki buğday bitkisinin ağır metal içeriğinde en fazla azalma Hg ağır metal grubuna kıyasla Hg + NAC grubunda belirlenmiştir (Tablo 3.2).

Bitki büyümesinin düzenlenmesinde en temel faktörlerden biri de sudur. Turgorun hücre genişlemesinde önemli rolü olduğundan dolayı su potansiyeli (Ψ_w) bitki büyümesinde dolaysız bir şekilde etkilidir (Boyer, 1968). Bu nedenle hücre ve tüm bitki arasındaki su ilişkisini anlamak, bitkilerin çevresel streslere karşı verdiği cevabı anlamaya yardımcı olmaktadır. Ağır metaller çok düşük derişimlerde toksik etki gösterdiklerinden osmotik potansiyel üzerine olan etkileri ihmal edilebilir. Ancak bu durum ağır metallerin bitkilerin su potansiyelinin üzerine bir etkilerinin olmadığı anlamına gelmez. Ağır metallerin etkileri, onların kimyasal özelliklerine, etki alanlarına, organik kompleks oluşturabilme kapasitelerine göre değişiklik göstermektedir. Ağır metaller kökten alındıklarında hücre zar özelliklerini ve enzim aktivitelerini değiştirmekte ve sonuçta hücrelerin su ilişkisinin değişmesine yol açmaktadırlar (Poschenrieder ve Barceló, 2004). Özellikle ağır metallerin zarda bulunan akuaporin yapısını bozarak hücre içi su dengesinin kaybına bu durum da turgor kaybı ile büyüme de azalmaya neden olduğu bilgisi literatürde

yer almaktadır (Irfan vd., 2014). Mevcut çalışmada uyguladığımız farklı ağır metaller arasında sürgün boyunda en fazla indirgenmeye neden olan Hg uygulaması, aynı zamanda buğday sürgünlerinde su potansiyelinde de en fazla azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular mevcut çalışmada uygulanan ağır metaller arasında Hg'nın akuaporinlerde en yüksek inhibisyona neden olmasından ve hücre zar potansiyelini depolarize edebilmesinden kaynaklanabilir (Zhang ve Tyerman, 1999). Ağır metaller ile birlikte uygulanan NAC'ın ise tüm ağır metal + NAC uygulama gruplarında su potansiyelinde artışa neden olduğu kaydedilmiştir. Benzer şekilde ağır metal + NAC uygulama gruplarında TBARS içeriği ağır metal gruplarına kıyasla önemli düzeyde ($P < 0,05$) azaldığı tespit edilmiştir.

Ağır metallerin bitki dokularına zarar verme yollarından biri de ROS üretimini uyararak dokularda ROS içeriğinin artışı sağlamak ve dokularda oksidatif stres oluşturmaktır (Foyer vd., 1997). Aslında tüm bitkilerde oksidatif stres, oksidan ve antioksidanlar arasındaki denge sayesinde kontrol altına alınır. Stres altında olmayan bitkilerde antioksidan sistem bitki için yeterli korumayı sağlar. Ancak ROS içeriğindeki artış bitkilerde antioksidan savunma mekanizması bileşenlerini aktive eder. Antioksidanlar ROS'ları ortadan kaldırarak ya da ROS içeriğini azaltarak, ROS'ların neden oldukları hücresel hasarı en alt düzeye indirmeye çalışırlar (Alscher vd., 1997). Tablo 3.3'te görüldüğü gibi buğday bitkisinin kök ve sürgünlerinde uygulanan tüm ağır metal gruplarında, H_2O_2 içeriğinin kontrol grubuna kıyasla arttığı belirlenmiştir. NAC uygulanan ağır metal gruplarında ise H_2O_2 içeriğinin kontrol grubuna kıyasla arttığı ancak, H_2O_2 içeriğinin ise ağır metal gruplarına kıyasla daha düşük olduğu kaydedilmiştir. *S. nigrum* bitkisinin H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ içeriğinin Cd stresi koşullarında arttığı, ancak stres koşullarına NAC eklenmesi durumunda ise, ağır metal grubuna kıyasla H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ içeriğinin azaldığı rapor edilmiştir (Deng vd., 2010).

Bitkiler oksidatif strese karşı SOD, POX ve CAT gibi enzimlerden oluşan enzimatik antioksidanlar ve glutatyon, karotenoidler ve askorbat gibi enzimatik olmayan antioksidanlar ile kendilerini korumaktadırlar (Hall, 2002, Caregnato vd., 2008). Reaktif oksijen türleri üretenler ve bu oluşan ROS'ları temizleyenler arasındaki etkileşim, bitkinin fizyolojik durumuna ve farklı çevresel, gelişimsel ve biyokimyasal uyaranlara (Mittler, 2002) bağlı olarak büyük ölçüde değişmektedir. Bu tez çalışmasında ağır metal stresi altında NAC uygulaması yapılan buğday bitkisinin kök ve sürgünlerinde, antioksidan enzim aktivitelerinde uygulanan ağır metal çeşidine bağlı olarak istatistiksel olarak önemli

düzye ($P < 0,05$) değişimler belirlenmiştir. Bitki hücrelerinin tüm bölmelerinde bulunan ve son derece reaktif olan SOD, $O_2^{\cdot-}$ 'in H_2O_2 'ye dönüşmesini sağlayan önemli bir antioksidan enzimdir. Buğday bitkisine ait kökte, SOD enzim aktivitesindeki en yüksek artışa ağır metal uygulama grupları arasında sadece Pb uygulamasında, ağır metal + NAC grupları arasında ise sadece Cu + NAC uygulamasında belirlenmiştir. Sürgün uygulama gruplarında ise en yüksek SOD aktivitesi Hg ve Cu + NAC uygulama gruplarında kaydedilmiştir. Böylece SOD aktivitesi aynı buğday bitkisinde farklı ağır metal uygulamaları ile stres toleransı oluşturmada farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Bu tez çalışma sonuçlarına benzer şekilde SOD aktivitesi aynı türün farklı çeşitlerinde ya da farklı türlerin aynı uygulama grupları arasında da farklı değişimler (artış ya da azalış) gösterdiği literatürde yer alan bazı çalışmalar ile belirlenmiştir (Sreenivasulu vd., 2000; Deng vd., 2010; Sun vd., 2014).

Bitki hücrelerinde yalnızca peroksizomlarda bulunan katalaz (CAT), stres boyunca artan ROS'ların temizlenmesinde etkin bir role sahiptir. İki molekül H_2O_2 'in H_2O ve O_2 'e dönüşmesini sağlar. Literatürde yer alan çalışmalara göre CAT aktivitesinin artış ve azalışları uygulanan ağır metal çeşidine ve aynı ağır metalin farklı derişimlerine göre farklılık göstermektedir ve önemli bir stres belirleyicidir (İbrahim ve Bafeel, 2009; Soydam-Aydın vd., 2015). Mevcut çalışmada yer alan sonuçlara göre CAT aktivitesinin kökte Cu ve Cd uygulamaları ile kontrol grubuna kıyasla arttığı, Hg ve Pb uygulamaları ile de düştüğü belirlenmiştir. Ancak Pb ile birlikte NAC uygulanması durumunda CAT aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla arttığı kaydedilmiştir. Sürgünde ise aktivitenin tüm uygulamalar ile kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde ($P < 0,05$) azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar özellikle sürgünlerde ağır metal stresi (Cu, Cd, Hg ve Pb) altında CAT aktivitesinin H_2O_2 'in zararlı etkilerinin hafifletilmesinde fazla etkin olamadığını göstermektedir. Sun vd. (2014)'in yaptıkları çalışmada, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde CAT aktivitesi her iki arpa (*Hordeum vulgare* L. 'Weisuobuzhi' ve *H. vulgare* L. 'Dong-17') çeşidinin köklerinde Cd uygulaması ile artmış ve Cd + NAC uygulaması ile de yine artış göstermiştir. Ancak *H. vulgare* L. 'Weisuobuzhi' sürgününde CAT aktivitesi Cd uygulaması ile artış gösterirken, *H. vulgare* L. 'Dong-17' sürgününde azalma göstermiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ise CAT aktivitesinin *S. nigrum* köklerinde 50 ve 200 μM derişimindeki Cd ve NAC uygulamaları ile arttığı rapor edilmiştir (Deng vd., 2010).

Oksidoredüktaz enzim grubuna dahil olan POX, H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 dönüştürerek hücrel yapıları oksidasyondan korur. Stres koşullarında ise POX aktivitesi, stres çeşidine,

süresine, şiddetine ve bitki türüne göre değişiklik gösterir (Lin vd., 2015). Çalışmamızda Cu, Cd, Hg, Pb ağır metalleri ve bunların NAC ile olan uygulamaları buğday kökünde POX aktivitesi kontrollerine kıyasla önemli düzeyde ($P < 0,05$) azalırken, aynı uygulamaların yapıldığı sürgünlerde ise aktivite artmıştır (Şekil 3.5). Bu durum POX aktivitesinin farklı organlarda dağılımında ve POX'ın ifade edilmesinde özgünlük olmaması ile ilişkili olabilir (Sun vd., 2009). Ayrıca bahsi geçen sonuçlar buğday köklerinde POX aktivitesinin ağır metal stres etkisi ile artan H_2O_2 'i H_2O ve O_2 'e dönüştürmede etkinliğinin zayıf kaldığını göstermektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçların aksine Sun vd. (2014) NAC ile muamele ettikleri Cd stresi altındaki iki farklı *H. vulgare* L. çeşidinin köklerinde, Deng vd. (2010) ise yine Cd ve NAC ile muamele ettikleri *S. nigrum* L. köklerinde, POX aktivitesinde hiçbir muamelenin yapılmadığı kontrol gruplarına kıyasla artış belirlemişlerdir. Ancak başka bir çalışmada $100 \mu M$ $CdCl_2$ uygulanan *T. aestivum* L. köklerinde POX aktivitesinde azalma gözlenirken, aynı bitkinin sürgünlerinde ise aktivitede artış belirlenmiştir (Dey vd., 2007).

Askorbat-glutasyon (AsA-GSH) döngüsü kloroplastlarda, sitozolde, mitokondri ve peroksizomlarda bulunan ROS'ların temizlenmesinden sorumlu farklı enzimler (APX, GR, MDHAR ve DHAR) ve metabolitler (GSH ve AsA) içeren tepkimeler grubudur. Ağır metal stres koşullarında enzimlere iletilen sinyal ile ya da gen ifadelerinin düzenlenmesi ile enzim aktiviteleri artabilir. Diğer yandan ağır metal enzim yapılarını etkileyerek enzim aktivitelerinde azalmaya yol açabilir (Cohu ve Pilon, 2007). Bu sebeplerden dolayı ağır metal stresi altında enzimatik cevapları analiz etmek oldukça güçtür. Bu döngüye ait önemli enzimlerden biri olan APX, H_2O_2 'yi H_2O 'ya dönüştürerek hücreleri oksidatif stres hasarından korur. Ağır metal stresine (Cu, Cd, Hg ve Pb) maruz bırakılan buğday bitkisinin APX aktivitesine ait sonuçlar değerlendirildiğinde, kökte aktivite yalnızca, CAT aktivitesine benzer şekilde, Cu ve Cd uygulamaları ile sürgünde ise Pb hariç diğer ağır metal uygulamaları ile kontrollerine kıyasla önemli düzeyde artış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 3.6). Askorbat peroksidaz aktivitesi üzerine NAC'ın etkisi ise uygulanan ağır metale göre farklılık göstermiştir. Kökte APX aktivitesinde yalnızca Cu + NAC ve Cd + NAC uygulama gruplarında artış gözlenirken, sürgünde ise NAC hiçbir grupta APX aktivitesinde artış sağlamadığı belirlenmiştir. Sun vd. (2014) yaptıkları çalışmada, her iki arpa çeşidine ait köklerde APX aktivitesi Cd uygulaması ile artarken, Cd + NAC uygulaması ile APX aktivitesinde kontrollerine kıyasla önemli düzeyde bir değişime neden olmamıştır. Aynı çalışmada kök sonuçlarının tam aksine, sürgüne ait APX aktivitesinde

ağır metal uygulaması ile bir azalma belirlenmiş ve NAC uygulamasının APX aktivitesinde herhangi bir değişime neden olmadığı rapor edilmiştir. Deng vd. (2010) ise bahsedilen çalışmanın aksine *S. nigrum* L. köklerinde, Cd ile birlikte NAC uygulamasının APX aktivitesinin kontrollerine kıyasla artış gösterdiğini belirlemişlerdir.

Köke ait ağır metal gruplarında GR aktivitesinde yalnızca Cu uygulanan grupta, sürgünde ise Pb hariç diğer ağır metal uygulanan gruplarda artış belirlenmiştir. Kökte MDHAR aktivitesinin Cu, Cd ve Pb uygulanan gruplarında, DHAR aktivitesinin ise yalnızca Cu ve Pb uygulanan gruplarında kontrollerine kıyasla arttığı tespit edilmiştir. Sürgünlerde ise MDHAR aktivitesinde tüm uygulama gruplarında bir azalma, DHAR aktivitesinde ise tüm uygulama gruplarında istatistiksel olarak önemli ($P < 0,05$) düzeyde bir artış kaydedilmiştir. Mevcut çalışmada köklerde AsA-GSH döngüsüne ait belirlenen enzimlerin tümü yalnızca Cu grubunda kontrollerine kıyasla artış göstermiştir. Ağır metaller ile birlikte uygulanan NAC'ın, GR aktivitesi artışına kök ve sürgünlere ait Cu + NAC uygulama grubunda, MDHAR aktivitesinin artışına kökte Pb + NAC ve sürgünde Hg + NAC grubunda, DHAR aktivitesinin artışına ise yalnızca sürgüne ait Cu + NAC ve Cd + NAC gruplarında neden olmuştur. Bu sonuçlara göre NAC'ın AsA-GSH döngüsüne ait enzimler üzerine olan etkisi, enzim yapısına, birlikte uygulandığı ağır metal çeşidine ve bitki organına göre farklılık göstermektedir.

Bitkiler yüksek çeşitlilikte sekonder metabolit üretirler ve bunların en önemli ve en büyük gruplarından biri fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerin bitkilerde çok farklı görevleri vardır ve içerikleri çevresel faktör ve stres koşullarına göre değişiklik göstermektedir (Diaz vd., 2001; Sakiyama vd., 2002; Grace ve Logan, 2000; Lavolaa vd., 2000). Fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri hakkında literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Rice-Evans vd., 1997; Michalak, 2006; Ramakrishna ve Ravishankar, 2011). Ağır metal stresi altındaki bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri, onların özellikle metalleri şelatlayabilme kapasiteleri ile ilişkilendirilmektedir. Fenolik bileşikler sahip oldukları hidroksil (-OH) ve karboksil (-COOH) grupları sayesinde Cu gibi metalleri yüksek oranda şelatlama kapasitesine sahiptirler (Jung vd., 2003). Fenolik bileşiklerin bir diğer antioksidan özellikleri ise, ağır metal etkisi ile oluşan lipid alkoksil radikallerini temizleyebilmesidir. Ancak bu özelliği yapısındaki -OH grup pozisyonuna ve sayısına göre değişiklik göstermektedir. Fenolik bileşikler serbest radikallerin difüzyonunu engelleyerek lipid peroksidasyon sürecini azaltır ya da engellerler, böylece fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri sayesinde hücre zar

akışkanlığı azaltılarak zar yapısı ve geçirgenliği dengelenmiş olur (Michalak, 2006). Hücrelerin toplam fenolik içeriği ile antioksidan kapasiteleri arasında pozitif bir ilişki bulunduğu öncesinde rapor edilmiştir (Souri vd., 2008). Bu tez çalışmasında, uygulanan ağır metaller (Cu, Cd, Hg ve Pb) buğday bitkisinin hem kök hem de sürgünlerinde TFM içeriğinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde ağır metal ile birlikte NAC uygulamasının da buğday kök ve sürgünlerinde TFM içeriğinin kontrol grubuna kıyasla artışına neden olduğu, ancak bu gruplarda TFM içeriğinin ağır metal gruplarına göre daha düşük olduğu kaydedilmiştir. Kısa vd. (2016) Cu, Cd ve Pb stresi koşullarında yetişen mısır sürgünlerinde, Mannan vd. (2015) ağır metaller ile kirletilmiş alanlarda yetişen *Nephrolepis biserrata* bitkisinde, Márquez-García vd. (2012) Cd uyguladıkları *Erica andevalensis* bitkisinde TFM içeriğinin kontrol bitkilerine kıyasla arttığını göstermişlerdir. Ayrıca çay gibi tanen bakımından zengin içerikli bitkilerin kendini yüksek Mn içeriğinden, *Nymphaea* bitkisinin yüksek polifenolik içeriğinden dolayı kendini Cr, Pb ve Hg'ya karşı koruyabildiği bilgisi literatürde yer almaktadır (Lavid vd., 2001). Tablo 3.3'te görüldüğü üzere üç farklı yöntemle (DPPH, FRAP ve CUPRAC) belirlenen AK değerlerinin, TFM içeriğine benzer şekilde ağır metal ve ağır metal + NAC uygulama gruplarında arttığı, ancak yalnızca ağır metal uygulamasının yapıldığı gruplara kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar TFM içeriğinin buğday çeşidini ağır metal stresine karşı korumada etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu sonuçlar değerlendirildiğinde NAC'ın buğdayın hem kök ve hem de sürgünlerini ağır metal stresinin olumsuz etkilerine karşı korumadaki etkinliğini göstermektedir.

Fenolik bileşiklerin büyük ve önemli bir alt grubu olan fenolik asitler, hidroksibenzoik (HBA) ve hidroksisinamik asit (HSA) türevlerinden oluşmaktadırlar. SiA, *p*-KuA, FeA, KaA, klorojenik asit (KlA) ve rosmarinik asit (RA) gibi basit fenolik asitler HSA sınıfına aittir. Gallik asit, KaA, SaA, 3, 4-HBA gibi fenolik asitler HBA sınıfına dahildir. Yapılarında bulunan –OH gibi işlevsel gruplar sayesinde ise ROS temizlenmesine ve MDA oluşumunu engellemeye yardımcı olarak hücrelerin antioksidan kapasitelerine destek sağlarlar (Saxena vd., 2012; Sytar vd., 2012). Fenolik asitlerin antioksidan ve antiradikal özellikleri aromatik halkalarına bağlı –OH grup sayısı ile pozitif bir ilişki göstermektedir (Sroka ve Cisowski, 2003). Antioksidan özelliklerinin yanı sıra SiA, FeA, *p*-CoA ve CaA gibi FA'lerin lignin öncülü olmaları ile de önem taşımaktadırlar. Ağır metal stresi koşullarında bitkiler lignin biyosentezini artırarak ağır metallere karşı bir bariyer oluşturur ve ağır metal alınmasını azaltırlar. Böylece bitkiler ağır metal stresinin olumsuz

etkilerine karşı kendilerini korumaya çalışırlar (Michalac, 2006). Mevcut tez çalışmasında buğday bitkisinin kök ve sürgünlerin uygulama gruplarında belirlenen serbest, ester, glikozit ve ester-bağlı formdaki fenolik asitlerin içeriğinin uygulanan ağır metal çeşidine bağlı olarak kök ve sürgünlerde farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Buğday köklerine ait ağır metal ve NAC uygulama gruplarının serbest, ester, glikozit ve ester-bağlı formdaki fenolik asit içeriklerini toplam (Σ) FA olarak değerlendirdiğimizde, yalnızca ester-bağlı formdaki fenolik asitin Hg grubunda kontrollerine kıyasla azaldığı, aksine diğer tüm uygulama gruplarında ise toplam fenolik asit içeriklerinin kontrollerine kıyasla arttığı kaydedilmiştir. Sürgün uygulama gruplarında ise toplam fenolik asit içeriği artış ve azalışlar sergilemiştir. Kök ve sürgünlerin NAC muamelesi yapılan gruplarda fenolik asit içeriklerindeki artış ve azalışlar uygulanan ağır metale ve fenolik asit grubuna göre farklılık göstermiştir. *p*-HBA biyotik ve abiyotik stres koşullarında artarak hücre çeperi geçirgenliğini azaltmak suretiyle abiyotik stres toleransına katkıda bulunmaktadır. Nikel (Ni) stresi koşullarında karabuğday (*Fagopyrum esculentum*) bitkisinde *p*-HBA içeriğinin arttığı tespit edilmiştir (Sytar vd., 2012). Ayrıca buğday bitkisine dıştan uygulanan *p*-HBA'in bitkiyi kuraklık stresine karşı koruduğu belirlenmiştir (Sawada vd., 2006). Ancak üşüme stresi mısır fidelerinde *p*-HBA içeriğinde bir değişime neden olmamıştır (Horváth vd., 2007). Literatürde yer alan bulgular artan *p*-HBA içeriğinin bitkilerin çeşitli stres koşullarına karşı tolerans kazanmasında önemli olduğunu göstermektedir (Sytar vd., 2012; Horváth vd., 2007). Tez çalışmasına ait fenolik asit sonuçlarının yer aldığı Tablo 3.4-7'de, *p*-HBA içeriğinin ağır metal uygulama gruplarında genel olarak arttığı görülmektedir. Tolra vd. (2005) Al stresine maruz bırakılan *Rumex acetosela* bitkisinde FeA ve *p*-KuA içeriklerini incelediklerinde, bahsedilen fenolik asit içeriklerinde herhangi bir değişim olmadığını ve bu fenolik asitlerin Al stresinin olumsuz etkilerinin iyileştirilmesinde bir etkilerinin olmadığını rapor ettiler. Ancak Sytar vd. (2012) ise Al stresi koşullarında büyütülen karabuğday bitkisinde *p*-KuA içeriğinde azalma rapor ettiler. Stres koşullarında *p*-KuA içeriğindeki bu azalmanın nedeninin *p*-KuA'in lignin polimerleşmesine katılarak, bitkinin ağır metal almasında bir bariyer oluşturduğu ve ağır metallerin toksik etkilerinden kendini koruduğuna dair ipuçları rapor edilmiştir (de Ascensao ve Dubey, 2003; Ederli vd., 2004). Ayrıca lignin ve süberin ağır metalleri bağlayarak, onların hücreler arasına geçişlerini sınırlandırır. Sinamik asit önemli bir sinyal molekülü olan SaA öncülüdür. Karabuğday bitkisinde Ni stresi koşullarında SiA içeriğinde artış olduğu belirlenmiştir. Bu artışın sinyal molekülü olan ve Ni toksisitesine karşı bitki savunmasında önemli rol

oynayabilecek SaA içeriği ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır. (Sytar vd., 2012). Ayrıca SiA içeriğinde artış Cd stresi koşullarında *Erica andevalensis* bitkisinde de belirlenmiştir (Marquez-Garcia vd., 2012). Literatürde yer alan bu sonuçlara benzer şekilde bu çalışmada ağır metal (Cu, Cd, Hg ve Pb) stresi koşullarında büyütülen buğday bitkisinin kök ve sürgünlere ait uygulama gruplarının ester, glikozit ve ester bağlı formda SiA içeriğinin de (Tablo 3.5-7) genel olarak kontrollerine kıyasla arttığı tespit edilmiştir.

Ağır metal stresi koşullarında yetişen bitkiler, ağır metallere karşı yüksek ilgileri olan düşük molekül ağırlıklı tiyol moleküller sentezler (Zhu vd., 1999a; b; Freeman vd., 2004; Yadav, 2010). Düşük molekül ağırlıklı en önemli tiyoller glutatyon (GSH) ve sistein (cys) dir ve GSH proteinik olmayan tiyol bileşikleri temsil eder. Fitoşelatin (PCs) sentezinde öncül bileşik olan GSH, hücrelerde Cd, Ni gibi ağır metallerin etkisizleştirilmesinde çok önemli ve kritik bir rolü vardır. Kararlı yapısı ve suda yüksek oranda çözünebilir özellikleri GSH'u, hücreyi oksidatif strese, ağır metal stresine, iç ve dış kaynaklı kimyasallara karşı koruyan ideal bir biyokimyasal bileşik yapar (Yadav, 2010). Literatürde yer alan bazı çalışmalarda GSH biyosentezinin artışı, Ni ve Cd stresine karşı toleransı arttırdığı ve bazı bitki sürgünlerinde Cd birikimini arttırdığı sonucuna varılmıştır (Zhu vd., 1999a; b; Freeman vd., 2004). Ayrıca GSH indirgeme kapasitesi bakımından *Arabidopsis* mutantı (*cad2*)'nin Cu ve Cd stresine aşırı hassas olduğu belirtilmiştir (Howden vd., 1995; Cobbett vd., 1998). Ancak yine de GSH'ın artışı ile ağır metal stres toleransı arasında her zaman bir ilişki bulunmamaktadır. Bu durum ağır metal stresine karşı oluşturulan ve son derece karmaşık olan tolerans mekanizmasını desteklemede GSH'ın yetersiz olmasından dolayı kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Yadav, 2010). Tez çalışmasında ağır metal uygulaması yapılan buğday bitkisinin hem kök hem de sürgünlerine ait GSH içeriğinin Cu, Cd ve Pb ağır metallerinin neden olduğu stres etkisi ile arttığı, ancak Hg muamelesi ile azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte yalnızca NAC uygulaması yapılan kontrol grubuna ait köklerde GSH içeriğinin arttığı ancak sürgünler de herhangi bir değişiklik olmadığı kaydedilmiştir. Ağır metaller ile birlikte NAC uygulanması durumunda ise kökte yalnızca Cd + NAC grubunda, sürgünde ise yalnızca Cu + NAC grubunda GSH içeriğinin hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrollerine kıyasla arttığı tespit edilmiştir (Şekil 3.10).

Yapılan çalışmalar bazı ağır metallerin bitkilerde sistein (cys) genlerini uyararak cys içeriğinde artışa neden olabileceğini göstermiştir (Domínguez-Solís vd., 2004; Howarth vd., 2003). Mevcut çalışmada uygulanan farklı ağır metaller (Cu, Cd, Hg ve Pb) ile birlikte

kontrol bitkisinin hem kök hem de sürgünlerine kıyasla artan cys içeriği bahsedilen ifadeyi doğrulamaktadır. Ayrıca dıştan uygulanan NAC'ın Hg grubunun sürgünleri hariç diğer gruplarda yine cys içeriğinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. İki farklı arpa genotipi ile yapılan çalışmada, Cd uygulamasının 'Weisuobuzhi' genotipinde cys içeriğinde azalmaya neden olduğu, 'Dong 17' genotipinde ise kontrollerine kıyasla önemli bir değişime neden olmadığı, Cd + NAC uygulanan bitkilerde, cys içeriğinin 'Weisuobuzhi' genotipinde kontrol grubuna kıyasla azaldığı, 'Dong 17' genotipinde ise arttığı belirlenmiştir (Sun vd., 2014). Domínguez-Solís vd. (2004) kontrol bitkisine kıyasla daha yüksek cys sentezi yapabilen iki farklı transgenik *A. thaliana* L. bitkisi geliştirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada cys sentez kapasiteleri farklı transgenik olan ve olmayan bitkileri Cd (250 µM) stresine maruz bırakılarak strese karşı bitki tolerans düzeyleri karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda Cd stresi koşullarında transgenik olan ve olmayan bitkilerin cys düzeylerinin azaldığı, transgenik olmayan ve transgenik olan ancak diğer bitkiye göre daha az cys içeriğine sahip bitkilerde GSH içeriğinin azaldığı, fakat en yüksek cys sentezi yapabilen transgenik bitkide ise GSH içeriğinin arttığı belirlenmiştir. Transgenik olmayan bitkiye dıştan cys uygulandığında ise, farklı Cd düzeylerinde kök büyüme eğrileri ve Cd tolerans düzeyleri yüksek düzeyde cys sentezi yapabilen transgenik bitki ile benzerlik gösterdiği kaydedilmiştir (Domínguez-Solís vd., 2004). Yapılan bu çalışma önemli bir cys kaynağı olan NAC'ın ağır metal stresine karşı bitki savunmasındaki rolünün önemi hakkında ipuçları sağlamaktadır.

GSH ve pro stres koşullarında indirgenmiş -S kaynağı (Anjum vd., 2010) ve N kaynağı (Kishor ve Sreenivasulu, 2014) olarak hareket etmektedirler. Ayrıca GSH ve pro biyosentezinin düzenlenmesi ışığa bağlıdır. Prolin bitkilerde büyüme ve gelişme dahil olmak üzere bir çok metabolik düzenlemede işlevi vardır. Ağır metal stresi bitkilerde pro gibi osmolitlerin birikmesini teşvik eder. Ancak ağır metal stresi koşullarında pro birikimi bitkinin strese karşı bir cevabı mı yoksa stres toleransı ile ilişkili olup olmadığı tartışma konusudur (Anjum vd., 2014; Kishor ve Sreenivasulu, 2014). Bu çalışmada pro içeriğinin ağır metal stresi koşullarında yalnızca Cd ve Cd + NAC grubunda kontrollerine kıyasla arttığı belirlenmiştir. Ağır metal stresi (Cd, Co, Pb, Zn) koşullarında yetiştirilen *T. aestivum*, *Vigna mungo* ve *Cajanus cajan* bitkilerinin pro içeriklerinin ağır metal derişimi artışına paralel olarak arttığı belirlenmiştir (Saradhi ve Alia, 1991). Mehta ve Gaur (1999) *Chlorella vulgaris*'in kültür ortamına ekledikleri Cu, Cr, Ni ve Zn ağır metallerin pro birikimini teşvik ettiği ve pro içeriğinin ise zaman ve ortamda bulunan ağır metal

derişimine bağlı olarak değiştiğini, metal toksisitesi ile pro birikimi arasında pozitif bir ilişki bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu araştırmalarda kaydedilen sonuçlar, pro'in ağır metaller tarafından bozulan bitki su dengesini yeniden düzenlenmesine yardımcı olmasına (Costa ve Morel, 1994; Schat vd., 1997), ağır metal etkisi ile oluşan hidroksil radikallerinin sprebilmesine (Smirnoff ve Cumbes, 1989), ağır metalleri sitoplazmada şelatlayabilmesine (Fargo ve Mullen, 1979) ve ağır metal alınımını azaltabilmesine bağlanmıştır (Wu vd., 1998).

Poliaminler, birçok temel hücresel işleme dahil olan bir fitohormon benzeri alifatik amin bileşikleri grubudur. Poliaminler, tohum çimlenmesi, iek tomurcuklanmasının teşvik edilmesi, desteklenmesi ve geliştirilmesi, meyve gelişimi, morfogenez, biyotik veya abiyotik strese verilen cevap gibi bitki gelişiminin birçok aşamalarında önemli bir rol oynar (Gill ve Tuteja, 2010). Bitkilerde  poliamin sınıfı vardır; Spermidin (spd), Spermin (spm) ve Putresin (put). Literatürde yer alan bir çok çalışmada, UV, tuz ve ağır metal stresi gibi çevresel stres koşullarında yetişen bitkilerde poliamin içeriklerinde strese bağlı oluşan değişimler belirlenmiştir (Kramer vd., 1991; Aziz vd., 1998; Weinstein vd., 1986). Mevcut tez çalışmasında poliamin içeriklerindeki değişimler uygulanan ağır metale göre değişiklik göstermektedir. Putresin, spd ve spm içerikleri köke ait uygulama gruplarında yalnızca Cu ve Cu + NAC uygulama gruplarında kontrollerine kıyasla arttığı, sürgünde ise tüm uygulama gruplarında azaldığı belirlenmiştir. Groppa vd. (2007) Cd ve Cu stresi koşullarında yetiştirilen buğday bitkisinin yapraklarına ait stres gruplarında put içeriğinin kontrol grubuna kıyasla arttığını, spd içeriğinin değişmediğini ve spm içeriğinin ise azaldığı tespit etmişlerdir. Benzer şekilde yulaf ve fasulye yapraklarında put içeriğinin Cd ve Cu uygulaması ile arttığı Weinstein vd. (1986) rapor etmiştir. Ancak ayçiçeği bitkisinin yaprak disklerinde Cd ve Cu uygulaması ile put ve spd içeriğinin azaldığı, spm içeriğinin ise değişmediği kaydedilmiştir (Groppa vd., 2001). Kurşun stresi koşullarında yetiştirilen arpa bitkisi yapraklarına ait stres gruplarında put içeriği kontrol grubuna kıyasla azaldığı, spd ve spm içeriğinin ise zamana bağlı olarak arttığı belirlenmiştir (Legocka vd., 2015). Bu sonuçlar bitkilerde poliamin içeriği değişimlerinin yalnızca çevresel koşullara değil aynı zamanda bitki türüne de bağlı olduğunu göstermektedir (Groppa vd., 2007).

Çevresel stres etkisi ile oluşan ROS'ların bitkilerde iki farklı süreçle birikimi engellenir: (i) ROS oluşumunun önlenmesi (ii) enzimatik ve enzimatik olmayan düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlarla ROS'ların süpürülmesi. Bilinen antioksidanların yanı sıra znebilir şekerlerin ROS oluşumu ve süpürülmesinde önemli rollerinin olduğu rapor

edilmiştir (Couée vd., 2006; Bolouri-Moghaddam vd., 2010). Şeker metabolizmasına bağlı ekstra gen taşıyan transgenik bitkilerin abiyotik stres koşullarında verdikleri yanıtlar, abiyotik stres esnasında şekerlerin koruyucu niteliğini desteklemektedir (Keunen vd., 2013). Hücre çeperi polisakkaritlerinin parçalanması (Oligogalakturonidler gibi) stres koşullarında şeker sinyalleri üretebilir, bu sonuç da biyotik ve abiyotik stres cevabı arasında önemli etkileşim olduğunu göstermektedir. Oligogalakturonidlerin yonca köklerinde enzimatik ve metabolik antioksidan savunma sistemini uyardığı, bu durumun da şeker sinyali ile oksidatif strese karşı bitki cevabının bağlantılı olabileceği kaydedilmiştir (Camejo vd., 2012; Keunen vd., 2013). Çözünür şekerlerin fotosentez, mitokondri solunumu ve yağ asidi β -oksidasyonu ile yakın ilişkisi sayesinde hücre redoks dengesinde merkezi bir konuma sahiptir (Couée vd., 2006). Bu nedenle, şeker seviyelerindeki değişiklikler, kloroplastlar, mitokondri ve peroksizomlardaki oksidatif metabolizma ile ilgili bitki hücrelerindeki ROS üretiminin derecesini etkileyebilir. Şekerler özellikle yüksek derişimlerde bulduklarında ROS süpürücü, düşük derişimlerde ise substrat ve sinyal molekülü olarak görev yapabilirler (Keunen vd., 2013). Tez çalışmasında ağır metal stresi koşullarında yetiştirilen buğday fidelerine ait köklerde glukoz ve fruktoz içeriğinin ağır metal uygulama gruplarında, fruktoz içeriğinin ise yalnızca Cd ve Hg uygulama gruplarında kontrollerine kıyasla arttığı, ağır metal ortamına eklenen NAC'ın ise tüm uygulama gruplarında bireysel şekerlerde artışa neden olduğu kaydedilmiştir. Sürgüne ait ağır metal ve ağır metal + NAC gruplarında bireysel şeker içeriğinin kontrollerine kıyasla genel olarak arttığı belirlenmiştir. Kuraklık stresi koşullarında yetiştirilen *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. bitkisinin genç fidelerine ait sukroz içeriğinin kontrol bitkisine kıyasla azaldığı, fruktoz ve glukoz içeriğinin ise arttığı rapor edilmiştir (Epron ve Dreyer, 1996). Farklı bir çalışmada su mercimeği (*Lemna polyrrhiza* L.)'e ait toplam şeker içeriğinin Pb ve Cd derişimlerinin artışına bağlı olarak azaldığı belirtilmiştir (John vd., 2008).

Organik asitler bitki hücrelerinde ağır metalleri inaktif ve toksik olmayan formlara dönüştüren şelatör gibi işlev gösterebilen biyomoleküllerdir. Organik asit içeriğindeki değişim ve organik asit + ağır metal kompleksinin stabil kalma süresi organik asit, ağır metal çeşidine ve bitki türüne bağlı olarak değişmektedir. Alüminyum (Al) + organik asit kompleksinde Al + sitrat en uzun süre stabil kalan kompleks olduğu rapor edilmiştir (Zheng vd., 1998). Ayrıca organik asitlerin Zn ve Ni şelatlama kapasitelerinin Pb, Cu ve Cd'dan daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Ernst vd., 1992). Kadmiyum tolerans düzeyleri farklı olan *Solanum nigrum* ve *S. torvum* bitkileri ile yapılan çalışmada, Cd-tolerant olan *S.*

nigrum'un malik asit ve sitrik asit içerikleri Cd stresi koşullarında arttığı, Cd-tolerant olmayan *S. torvum* bitkisinin malik asit ve sitrik asit içeriğinin ise kontrollerine kıyasla azaldığı bildirilmiştir (Xu vd., 2012). Mevcut tez çalışmasında ağır metal ve NAC uygulamasının buğday bitkisi fidelerinin kök ve sürgünlerinde organik asit içeriğinde neden olduğu değişimlerin ağır metal çeşidine bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Köke ait Cd uygulama grubunda organik asit içeriğinin kontrol grubuna kıyasla arttığı, sürgüne ait Cd grubunda ise tartarik asit içeriğinin arttığı ancak malik, askorbik ve sitrik asit içeriğinin azaldığı belirlenmiştir. Kadmiyum stresi koşullarında yetiştirilen domates (*Solanum lycopersicum* L.) ve kabak (*Cucumis sativus* L.) fidelerine ait kök ve sürgünün ağır metal gruplarına ait malik asit ve sitrik içeriği kontrollerine kıyasla arttığı, tartarik asit içeriğinin ise azaldığı, ancak kabak fidesinin sürgünlerine ait sitrik asit içeriğinin azaldığı rapor edilmiştir (Wu vd., 2015).

5. SONUÇLAR

1) Köke ait pearson korelasyon sonuçlarına göre POX, APX, TFM, TBARS ve H₂O₂ değerlerinin UZ, TA ve KA değerleri ile önemli ($P < 0,05$) ve çok önemli ($P < 0,01$) seviyesinde, TFM içeriğinin POX ve APX aktivitesi ile önemli seviyede ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Sürgüne ait pearson korelasyon sonuçlarına göre POX, CAT, SOD, GR, DHAR, cys, pro ve TBARS değerlerinin UZ, TA ve KA değerleri ile önemli ($P < 0,05$) ve çok önemli ($P < 0,01$) seviyesinde ilişkili olduğu kaydedilmiştir.

2) Ağır metal uygulamaları ile buğday kök ve sürgün boyları azalmıştır. Ancak, NAC uygulaması kök ve sürgün uzunluklarındaki azalma durumunu tersine çevirmiş ve ağır metallerin olumsuz etkilediği büyüme parametrelerini iyileştirmiştir.

3) Bitkiye dıştan yapılan NAC uygulaması ağır metal absorpsiyonunu azaltmıştır.

4) NAC uygulaması su potansiyelini ağır metal uygulama gruplarına kıyasla artırmıştır.

5) NAC uygulanan gruplarda H₂O₂ içeriği ağır metal uygulama gruplarına kıyasla belirgin bir şekilde azalmıştır.

6) Ağır metal maruziyeti koşullarında yetiştirilen buğday bitkisine dıştan NAC uygulamasının antioksidan enzimler üzerindeki etkisi enzime ve ağır metal çeşidine bağlı olarak değişmektedir.

7) NAC uygulaması ağır metal stresi koşullarında bitkinin artan toplam fenolik madde havuzunu ve PAL aktivitesini ağır metal uygulanan grupta kıyasla azaltmıştır (Cd + NAC grubu hariç).

8) Ağır metal uygulama koşullarında artan antioksidan kapasite (DPPH, FRAP ve CUPRAC) değerleri, NAC uygulaması ile ağır metal gruplarına kıyasla azaltmıştır.

9) Kök ve sürgüne ait toplam serbest, ester, glikozit ve ester-bağlı formda toplam fenolik asit içerikleri ağır metal stresi koşullarında artmıştır (sürgün glikozit formda toplam fenolik asit içeriği hariç). Ağır metal stres koşullarında NAC uygulamasının bireysel fenolik asit havuzu üzerindeki etkileri, fenolik asit ve ağır metal çeşidine bağlı olarak değişmektedir.

10) Kök ve sürgünlere ait GSH içeriği Hg grubu hariç ağır metal stresi koşullarında kontrollerine kıyasla artmıştır. Aynı koşullarda NAC uygulaması ile GSH içeriği kökte Cu

+ NAC ve Cd + NAC uygulama gruplarında, sürgünde ise yalnızca Cu + NAC grubunda kontrollerine kıyasla arttığı saptanmıştır.

11) Sistein içeriği kök ve sürgünlere (Hg + NAC hariç) ait tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla arttığı belirlenmiştir.

12) Köke ait prolin içeriğinin kontrollerine kıyasla Cd ve Cd + NAC uygulama gruplarında, sürgünde ise Cu hariç ağır metal uygulama gruplarında artmış ve ağır metal + NAC gruplarında ise (Cd + NAC hariç) azalmıştır.

13) Kök ve sürgün gruplarında ağır metal stres etkisiyle artan TBARS içeriği, NAC uygulaması ile azalmıştır.

14) Put içeriği kök (Cu ve Cu + NAC hariç) ve sürgünlerde ağır metal ve NAC uygulamaları ile kontrollerine kıyasla azalmıştır. Köke ait Spd içeriği Cu ve Hg ağır metallerinin etkisi ile artmış, NAC uygulaması ile Cu + NAC ve Pb + NAC uygulama gruplarında kontrollerine kıyasla artmıştır. Sürgünlere ait Spd içeriği ise tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla azalmıştır. Spm içeriği kök (Cu hariç) ve sürgünlere ait tüm uygulama gruplarında azalmıştır.

15) Buğday fidelerinin kök ve sürgünlerine ait bireysel şeker (glukoz, fruktoz, sukroz) içerikleri ağır metal çeşidine bağlı olarak değişmiştir. Toplam şeker içerikleri hem kök hem de sürgünlere ait tüm uygulama gruplarında kontrollerine kıyasla artmıştır. Toplam şeker içeriği NAC uygulaması ile (Cu + NAC hariç) ağır metal uygulama gruplarına kıyasla kökte artmış sürgünde ise düşmüştür.

16) Tartarik asit içeriği kök (Hg ve Hg + NAC hariç) ve sürgünlerde (Hg hariç) tüm uygulama gruplarında kontrollerine kıyasla artmıştır. Malik asit içeriği de benzer şekilde tüm uygulama gruplarında kontrollerine grubuna kıyasla artmıştır. Köke ait askorbik asit içeriğinin (Cu hariç) ağır metal uygulaması ile kontrollerine kıyasla artmış, NAC uygulaması ile de yalnızca Pb + NAC grubunda artmıştır. Sürgüne ait askorbik asit içeriği ise tüm uygulama gruplarında azalmıştır. Sitrik asit içeriği tüm kök uygulama gruplarında artmıştır. Sürgüne ait sitrik asit içeriği ise ağır metal uygulaması ile değişmemiş, Cu + NAC ve Hg + NAC uygulamaları ile artmış, Cd + NAC ve Pb + NAC uygulamaları ile azalmıştır.

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde NAC Cd, Hg ve Pb toksisitesine karşı önemli derecede iyileştirici etkisinin olduğu belirlenmiştir.

6. ÖNERİLER

Metaller yerkabuğunda doğal olarak bulunurlar. Farklı lokalitelerin metal içerikleri ve derişimleri farklılık göstermektedir. Ağır metallerin bir kısmı çok düşük derişimlerde canlı organizmalar için biyokimyasal ve fizyolojik işlevleri sürdürmek için gereklidir fakat belirli eşik derişimlerini aştıkları zaman toksik etki gösterirler. Genel olarak, toprak ana maddelerinden türetilen tarım topraklarındaki ağır metallerin doğal derişimleri, bitkilere ve insan sağlığına zarar verecek kadar yüksek değildir. Bununla birlikte, madencilik, eritme, atık imhası, kentsel atık, araç egzozu, kanalizasyon çamuru ve zirai kimyasal gibi antropojenik kaynaklar, tarım topraklarındaki ağır metal derişimlerini büyük ölçüde artırabilir. Düşük derişimlerde yüksek toksik etki gösteren ağır metaller bitkilerin büyüme ve gelişmesini sınırlayarak dünyada tarım yapılabilecek alanların kısıtlanmasına neden olmaktadır. Bitkilerin ağır metallere karşı toleransını artırmak için gelişmiş ülkeler sınırlı alanlar için yıkama ve immobilizasyon yöntemlerini kullanmaktadır. Ancak gelişmekte olan ülkelerde pahalı olan bu yöntemleri kullanma imkanı bulunmamaktadır. Bu nedenle özellikle bu ülkelerde ağır metal kirliliğini azaltacak yöntemler geliştirilmeli ve bu yöntemlerin maliyeti de düşük olmalıdır. Aynı derişimlerde farklı ağır metal (CuCl_2 , CdCl_2 , HgCl_2 ve PbSO_4) ortamında yetiştirilen buğday fidelerine N-asetilsisteinin etkilerinin incelendiği bu çalışmada enzimatik olan ve olmayan antioksidan sistemler arasındaki bağlantılar ortaya konmaya çalışılmış ve tarımsal uygulamalarda ki etkinliği belirlenmeye çalışılmıştır.

Dıştan uygulanan NAC, bitkilerde ağır metal stresine karşı olumlu sonuçlar tespit edildiğinden, NAC'ın kökler aracılığıyla ne ölçüde alındığı ve sürgünlere iletiildiği belirlenebilir. Bu tez çalışmasında enzimatik olan ve olmayan antioksidan sistemler üzerine NAC'ın etkisi belirlenmiştir. Benzer şekilde ağır metal stresi ve NAC koşullarında yetiştirilen bitkilerde NAC'ın bitki hormonlarına etkisi ve bitki hormonları ve antioksidan sistem arasındaki ilişki de çalışılabilir.

Bu tezde NAC'ın etkisi 5 günlük buğday fidelerinde çalışılmıştır. Bundan dolayı NAC'ın ağır metal stresi altındaki buğdayın tane verimi üzerine etkisi de belirlenebilir.

Yapılan mevcut çalışmadan da anlaşılacağı gibi NAC'ın şelatlamada metal seçiciliği bulunmaktadır. Bu nedenle NAC'ın bu tezde kullanılmayan ancak ekolojik kirlilik oluşturan farklı ağır metallerin olumsuz etkilerinin düzeltmede ki etkinliği de araştırılabilir.

NAC -SH grubu içerdiğinden dolayı aynı zamanda antioksidan özellik göstermektedir. Ayrıca NAC transkripsiyon faktörlerinin de bitkinin stres cevabı vermesinde önemli rollerinin bulunduğu bilinmektedir. Bu nedenle tuzluluk, kuraklık, radyasyon gibi stres koşullarında yetişen bitkilerde, farklı derişimler ve farklı sürelerde dıştan uygulanacak NAC'ın, stres etkisini hafifletilmesindeki etkinliği araştırılabilir.



7. KAYNAKLAR

- Aebi, B., 1984. Plant Growth Regulators, XLI. Monosubstituted Benzoic Acid, Sweden Journal Agricultural Research, 11, 93-105.
- Aktaş, E., 2006. Globalisation, Poverty and Genetically Modified Agricultural Product, VII. National Congress of Agricultural Economics, University of Akdeniz, 2, 614-620.
- Alscher, R., Donahue, J., L. ve Cramer, C., L., 1997. Ractive Oxygen Species and Antioxidants: Relationship in Green Cell, Physiologia Plantarum, 100, 224–233.
- Anjum, N., A., Umar, S. ve Chan, M., T., 2010. Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants. Dordrecht, Springer.
- Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M. ve Karademir, S., E., 2004. Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 26, 7970–7981.
- Arora, A., Nair, M., G. ve Strasburg, G., M., 1998. Structure-Activity Relationships for Antioxidant Activities of a Series of Flavonoids in a Liposomal System, Free Radical Biology & Medicine, 24, 1355.
- Arora, A., Sairam, R., K., ve Srivastava, G., C., 2002. Oxidative Stress and Antyoxydative System in Plants, Current Science, 10, 1227-1238.
- Ayaz, F., A., Torun, H., Özel, A., Col, M., Duran, C., Sesli, E. ve Colak, A., 2011. Nutritional Value of Some Wild Edible Mushrooms from the Black Sea Region (Turkey), Turkish Journal of Biochemistry, 36, 213-221.
- Ayhan, B., Ekmekçi, Y. ve Tanyolaç, D., 2006. Bitkilerde Ağır Metal Zararları ve Korunma Mekanizmaları, Anadolu University Journal of Science and Technology, 7, 1, 1-16.
- Aziz, A., Martin-Tanguy, J. ve Larher, F., 1998. Stress-Induced Changes in Polyamine and Tyramine Levels can Regulate Proline Accumulation in Tomato Leaf Discs Treated with Sodium Chloride, Physiologia Plantarum, 104, 195–202.
- Balasundram, N., Sundram, K. ve Samman, S., 2006. Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial by Products: Antioxidant Activity, Occurance, and Potential Uses, Food Chemistry, 99, 191-203.
- Bates, L., S., Waldren, R., P. ve Teare, I., D., 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies, Plant and Soil, 39, 1, 205-7.
- Benzie, I., F., F. ve Strain, J., J., 1996. Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay, Analytical Biochemistry, 239, 1, 70-76.

- Blois, M., S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of Stable Free Radical, Nature, 181, 1199–1200.
- Bolouri-Moghaddam, M., R., Le Roy, K., Xiang, L., Rolland, F. ve Van den Ende, W., 2010. Sugar Signalling and Antioxidant Network Connections in Plant Cells, FEBS Journal, 277, 2022–2037.
- Bosecker, K., 2001. Microbial Leaching in Environmental Clean-Up Programmes, Hydrometallurgy, 59, 2-3, 245-248.
- Boyer, J., S., 1968. Relationship of Water Potential to Growth of Leaves, Plant Physiology, 43, 7, 1056-1062.
- Bradford, M., M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, Analytical Biochemistry, 72, 248–254.
- Camejo, D., Martí, M., C., Olmos, E., Torres, W., Sevilla, F. ve Jiménez, A., 2012. Oligogalacturonides Stimulate Antioxidant System in Alfalfa Roots, Biologia Plantarum, 56, 537–544.
- Caregnato, F., F., Koller, C., E., MacFarlane, G., R. ve Moreira, J., C., F., 2008. The Glutathione Antioxidant System as a Biomarker Suite for the Assessment of Heavy Metal Exposure and Effect in the Grey Mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh, Marine Pollution Bulletin, 56, 1119–1127.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S., B., Riberio, C., W., Lazzarotto, F. ve Margis-Pinheiro, M., 2012. Plant Responses to Stress: Role of Ascorbate Peroxidase in the Antioxidant Protection, Genetics and Molecular Biology, 35, 4, 1011-1019.
- Cobbett, C., S., May, M., J., Howden, R. ve Rolls, B., 1998. The Glutathione Deficient, Cadmium-Sensitive Mutants, *cad2-1*, of *Arabidopsis thaliana* is Deficient in - Glutamylcysteine Synthetase, Plant Journal, 16, 73–78.
- Cohu, C. M. ve Pilon, M., 2007. Regulation of Superoxide Dismutase Expression by Copper Availability, Physiologia Plantarum, 129, 4, 747-755.
- Costa, G. ve Morel, J., L., 1994. Water Relations, Gas Exchange and Amino Acid Content in Cadmium-Treated Lettuce, Plant Physiology and Biochemistry, 32, 561–570.
- Couée, I., Sulmon, C., Gouesbet, G. ve El Amrani, A., 2006. Involvement of Soluble Sugars in Reactive Oxygen Species Balance and Responses to Oxidative Stress in Plants, Journal of Experimental Botany, 57, 449–459.
- Creissen, G., P., Broadbent, P., Stevens, R., Wellburn, A., R. ve Mullineaux, P., M., 1996. Manipulation of Glutathione Metabolism in Transgenic Plants, Journal of Biochemistry, 24, 465-472.
- De Ascensao, A., R. ve Dubery, I., A., 2003. Soluble and Wall-Bound Phenolic Polymers in *Musa acuminata* Roots Exposed to Elicitors from *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*, Phytochemistry, 63, 679–686.

- Deng, X., Xia, Y., Hu, W., Zhang, H. ve Shen, Z., 2010. Cadmium-Induced Oxidative Damage and Protective Effects of N-Acetyl-L-Cysteine Against Cadmium Toxicity in *Solanum nigrum* L., Journal of Hazardous Materials, 180, 722-729.
- Diaz, J., Bernal, Pomar, F. ve Merino, F., 2001. Induction of Shikimate Dehydrogenase and Peroxidase in Pepper (*Capsicum annuum* L.) Seedlings in Response to Copper Stress and its Relation to Lignification, Plant Science, 161, 179, 2001.
- Dietz, K., J., Baier, M. ve Krämer, U., 1999. Free Radicals and Reactive Oxygen Species as Mediators of Heavy Metal Toxicity in Plants. Heavy Metal Stress in Plants: From Molecules to Ecosystems, Prasad, M., N., V. ve Hagemeyer, J., (Eds) 73-98, Springer, Verlag, Berlin.
- Dhindsa, R., S. ve Mattowe, W., 1981. Drought Tolerance in Two Mosses: Correlated with Enzymatic Defence Against Lipid Peroxidation, Journal of Experimental Botany, 32, 79-91.
- Domínguez-Solís, J., R., López-Martín, M., C., Ager, F., J., Ynsa, M., D., Romero, L., C. ve Gotor, C., 2004. Increased Cysteine Availability is Essential for Cadmium Tolerance and Accumulation in *Arabidopsis thaliana*, Plant Biotechnology Journal, 2, 469-476.
- Dyson, T., 1999. World Food Trends and Prospects to 2025, Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96, 11, 5929-5936.
- Ederli, L., Reale, L., Ferranti, F. ve Pasqualini, S., 2004. Responses Induced by High Concentration of Cadmium in *Phragmites australis* Roots, Physiologia Plantarum, 121, 66-74.
- Elgün, A., Türker, S. ve Bilgiçli, N., 2009. Tahıl Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü S.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği, Konya.
- Epron, D. ve Dreyer, E., 1996. Starch and Soluble Carbohydrates in Leaves of Water-Stressed Oak Saplings, Annals of Forest Science, 53, 263-268.
- Ernst, W., H., O., Verkleij, J., A., C. ve Schat, H., 1992. Metal Tolerance in Plants, Acta Botanica Neerlandica, 41, 3, 229-248.
- FAO, 2002. World Agriculture: Towards 2015/2030, AN FAO PERSPECTIVE Ed. By Bruinsma, J., Earthscan Publications, London.
- FAO, <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. 20.10.2015.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nation, 2015. 70 years of FAO (1945-2015), Ed. By Small, A.ve O'Broin, S., Fao Office for Corporate Communication.
- Farago, M., E. ve Mullen, W., A., 1979. Plants Which Accumulate Metals. IV. A Possible Copper-Proline Complex from the Roots of *Armeria meritima*, Helvetica Chimica Acta, 32, 93-94.

- Foyer, C., H., Lopez-Delgado, H., Dat, J-F. ve Scott, I., M., 1997. Hydrogen Peroxide and Glutathione-Associated Mechanisms of Acclamatory Stress Tolerance and Signalling, Physiologia Plantarum, 100, 241–254.
- Foyer, C., H., Theodoulou, F., L. ve Delrot, S., 2001. The Functions of Intercellular and Intracellular Glutathione Transport Systems, Trends in Plant Science, 6, 486-492.
- Foyer, C., H. ve Halliwell, B., 1976. The Presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplasts: a Proposed Role in Ascorbic Acid Metabolism, Planta, 133, 21–5.
- Freeman, J., L., Persans, M., W., Nieman, K., Albrecht, C., Peer, W., Pickering, I., J. ve Salt, D., E., 2004. Increased Glutathione Biosynthesis Plays a Role in Nickel Tolerance in *Thlaspi* Nickel Hyperaccumulators, Plant Cell, 16, 2176–2191.
- Gaitonde, M., K., 1967. A Spectrophotometric Method for the Direct Determination of Cysteine in the Presence of Other Naturally Occurring Amino Acids, Biochemical Journal, 104, 2, 627.
- Gallego, J., L., R., Ordonez, A. ve Loredo, J., 2002. Investigation of Trace Element Sources from an Industrialised Area (Aviles, Northern Spain) Using Multivariate Statistical Methods. Environment International, 27, 589-596.
- Ganesan, G., Sankararamasubramanian, H., M., Narayanan, J., M., Sivaprakash, K., R. ve Parida, A., 2008. Transcript Level Characterization of a cDNA Encoding Stress Regulated NAC Transcription Factor in the Mangrove Plant *Avicennia marina*, Plant Physiology and Biochemistry, 46, 928-934.
- Gill, S., S. ve Tuteja, N., 2010. Polyamines and Abiotic Stress Tolerance in Plants, Plant Signaling & Behavior, 5, 1, 26-33.
- Grill, E., Löffler, S., Winnacker, E., L. ve Zenk, M., H., 1989. Phytochelatins, the Heavy-Metal Binding Peptides of Plants, are Synthesised from Glutathione by a Specific γ -Glytmyl-Cysteine Dipeptidyl Tanspeptidase Phytochelatin Synthase. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America, 86, 6838-6842.
- Groppa, M., D., Tomaro, M., L. ve Benavides, M., P., 2007. Polyamines and Heavy Metal Stress: The Antioxidant Behavior of Spermine in Cadmium- and Copper-Treated Wheat Leaves, BioMetals, 20, 185-195.
- Groppa, M., D., Tomaro, M., L. ve Benavides, M., P., 2001 Polyamines as Protectors Against Cadmium or Copper-Induced Oxidative Damage in Sunflower Leaf Discs, Plant Science, 161, 481–488.
- Godfray, H., C., J., Beddington, J., R., Crute, I., R., Haddad, L., Lawrance, D., Muir, J., F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S., M. ve Toulmin, C., 2010. Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People, Science, 327, 5967, 812-818.
- Goleniowski, M., Bonfill, M., Cusido, R. ve Palazón, J., 2013. Phenolic Acids, Natural Products, 1951-1973.

- Grace, S., C. ve Logan, B., A., 2000. Energy Dissipation and Radical Scavenging by the Plant Phenylpropanoid Pathway, Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 355, 1499.
- Griffith, O., W., 1980. Determination of Glutathione and Glutathione Disulfide Using Glutathione Reductase and 2-Vinylpyridine, Analytical Biochemistry, 106, 1, 207-12.
- Gruz, J., Novák, O. ve Strnad, M., 2008. Rapid Analysis of Phenolic Acids in Beverages by UPLC–MS/MS, Food Chemistry, 111, 789-94.
- Güney, D., Bak, Z., D., Aydinoglu, F., Turna, I. ve Ayaz, F., A., 2013. Effect of Geographical Variation on the Sugar Composition of the Oriental Beech (*Fagus orientalis* Lipsky). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37, 221-230.
- Hall, J., L., 2002. Cellular Mechanisms for Heavy Metal Detoxification and Tolerance. Journal of Experimental Botany, 53, 1–12.
- Harmens, H., Koevoets, P., L., M., Verkleij, J., A., C. ve Ernst, W., H., O., 1994. The Role of Low Molecular Weight Organic Acids in Mechanisms of Increased Zinc Tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke, New Phytology, 126, 615-621.
- Hernández, L., E., Cárpena-Ruiz, R. ve Garate, A., 1996. Alterations in the mineral nutrition of pea seedlings exposed to cadmium, Journal of Plant Nutrition, 19, 1581-1589.
- Hoagland, D., R. ve Arnon, D., I., 1950. The Water-Culture Method for Growing Plants Without Soil. Circular (2nd edit), California Agricultural Experiment Station, 347.
- Hodzic, Z., Pasalic, H., Memisevic, A., Srabovic, M., Saletovic, M. ve Poljakovic, M., 2009. The Influence of Total Phenolic Content on Antioxidant Capacity in the Whole Grain Extracts. European Journal of Scientific Research, 28, 3, 471-477.
- Horbowicz, M., Dębski, H., Wiczkowski, W., Szawara-Nowak, D., Koczkodaj, D., Mitrus, J. ve Sytykiewicz, H., 2013. The Impact of Short-Term Exposure to Pb and Cd on Flavonoid Composition and Seedling Growth of Common Buckwheat Cultivars, Polish Journal of Environmental Studies, 22, 6, 1723-1730.
- Horvath, E., Pal, M., Szalai, G., Páldi, E. ve Janda, T., 2007. Exogenous 4-Hydroxybenzoic Acid and Salicylic Acid Modulate the Effect of Short-Term Drought and Freezing Stress on Wheat Plants, Biologia Plantarum, 51, 3, 480–487.
- Hossain, M., A. ve Asada, K., 1984. Purification of Dehydroascorbate Reductase from Spinach and its Characterization as a Thiol Enzyme, Plant Cell Physiology, 25, 85-92.
- Hossain, M., A., Nakano, Y. ve Asada, K., 1984. Monodehydroascorbate Reductase in Spinach Chloroplasts and its Participation in Regeneration of Ascorbate for Scavenging Hydrogen Peroxide, Plant Cell Physiology, 25, 385-95.

- Howarth, J., R., Domínguez-Solís, J., R., Gutiérrez-Alcalá, G., Wray, J., L., Romero, L., C. ve Gotor, C., 2003. The Serine Acetyltransferase Gene Family in *Arabidopsis thaliana* and the Regulation of its Expression by Cadmium, Plant Molecular Biology, 51, 589–598.
- Howden, R., Goldsbrough, P., B., Anderson, C., R. ve Cobbett, C., S., 1995. Cadmium Sensitive, cad1 Mutants of *Arabidopsis thaliana* are Phytochelatin Deficient, Plant Physiology, 107, 1059–1066.
- Huang, D., J., Lin, C., D., Chen, H., J. ve Lin, Y., H., 2004. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Sweet Potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam ‘Tainong 57’] Constituents, Botanical Bulletin of Academia Sinica, 45, 179–86.
- Hwang, D., F., Chang, S., H., Shiua, C., Y., ve Chai, T., J., 1979. High Performance Liquid Chromatographic Determination of Biogenic Amines in Fish Implicated in Food Poisoning, Journal of Chromatography B, 693, 23–30.
- Ibrahim, M., M., ve Bafeel, O., S., 2009. Alteration of Gene Expression, Superoxide Anion Radical and Lipid Peroxidation Induced by Lead Toxicity in Leaves of *Lepidium sativum*, Journal of Animal & Plant Sciences, 4, 1, 281–288.
- Inzé, D. ve Van Montagu, M., 1995. Oxidative Stress in Plants, Current Opinion in Biotechnology, 6, 153.
- Irfan, M., Ahmad, A. ve Hayat, S., 2014. Effect of Cadmium on the Growth and Antioxidant Enzymes in two Varieties of Brassica Juncea, Saudi Journal of Biological Sciences, 21, 2, 125-131.
- Iriti, M., Castorina, G., Picchi, V., Faoro, F. ve Gomasasca, S., 2009. Acute Exposure of the Aquatic Macrophyte *Callitriche Obtusangula* to the Herbicide Oxadiazon: the Protective Role of N-Acetylcysteine, Chemosphere, 74, 1231–1237.
- Jackson, P., J., Unkefer, P., J., Delhaize, E. ve Robinson, N., J., 1990. Mechanisms of Trace Metal Tolerance in Plants. *Environmental Injury to Plants*, Katterman, F., (Ed), 231-258, Academic Press, San Diego.
- Jalilehvand, F., Amini, Z., Parmar, K. ve Kang, E., Y., 2011. Cadmium(II) N-Acetylcysteine Complex Formation in Aqueous Solution, Dalton Transactions, 40, 12771–12778.
- James, S., J., Slikker III, W., Melnyk, S., New, E., Pogribna, M. ve Jernigan, S., 2005. Thimerosal Neurotoxicity is Associated with Glutathione Depletion: Protection with Glutathione Precursors, NeuroToxicology, 26, 1-8.
- Jensen, P., Y., Bonander, N., Horn, N., Tumer, Z. ve Farver, O., 1999. Expression, Purification and Copper-Binding Studies of the First Metal-Binding Domain of Menkes Protein, European Journal of Biochemistry, 264, 890-896.
- John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. ve Sharma, S., 2008. Effect of Cadmium and Lead on Growth, Biochemical Parameters and Uptake in *Lemna polyrrhiza* L., Plant, Soil and Environment, 54, 6, 262-270.

- Jung, C., H., Maeder, V., Funk, F., Frey, B., Sticher, H. ve Frosserd, E., 2003. Release of Phenols from *Lupinus albus* L. Roots Exposed to Cu and their Possible Role in Cu Detoxification, Plant and Soil, 252, 301.
- Kaur, P., R., Bhardwaj, R. ve Sirhindi, G., 2015. Castasterone Regulated Polyphenolic Metabolism and Photosynthetic System in *Brassica juncea* Plants Under Copper Stress, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 4, 4, 282-289.
- Keilig, A. ve Ludwig-Müller, J., 2009. Effect of Flavonoids on Heavy Metal Tolerance in *Arabidopsis thaliana* seedlings, Botanical Studies, 50, 311-318.
- Kelly, G., S., 1998. Clinical Applications of N-Acetylcysteine, Alternative Medicine Review 3, 14-27.
- Keunen, E., Peshev, D., Vangronsveld, J., Van Den Ende, W. ve Cuypers, A., 2013. Plant Sugars are Crucial Players in the Oxidative Challenge During Abiotic Stress: Extending the Traditional Concept, Plant, Cell and Environment, 36, 1242- 1255.
- Khan, A., G., Kuek, T., M., Chaudhury, T., M., Khoo, C., S. ve Hayes, W., J., 2000. Role of Plants, Mycorrhizae and Phytochelators in Heavy Metal Contaminated Land Remediation, Chemosphere, 41, 197.
- Kısa, D., Elmastas, M., Öztürk, L. ve Kayır, Ö., 2016. Responses of the Phenolic Compounds of *Zea mays* Under Heavy Metal Stress, Applied Biochemistry and Biotechnology, 59, 6, 813-820.
- Kishor, P., B., K. ve Sreenivasulu, N., 2014. Is Proline Accumulation *per se* Correlated with Stress Tolerance or is Proline Homeostasis a more Critical Issue? Plant, Cell and Environment, 37, 300–311.
- Kramer, G., F., Norman, H., A., Krizek, D., T. ve Mirecki, R., M., 1991. Influence of UV-B Radiation on Polyamines, Lipid Peroxidation and Membrane Lipids in Cucumber, Phytochemistry, 30, 2101–2108.
- Lacerda, L., D., 1997. Global Mercury Emissions from Gold and Silver Mining, Water Air & Soil Pollution, 97, 209–221.
- Lavid, N., Schwartz, A., Yarden, O. ve Tel-Or, E., 2001. The Involvement of Polyphenols and Peroxidase Activities in Heavy Metal Accumulation by Epidermal Glands of Waterlily (Nymphaeaceae), Planta 212, 323.
- Lavola, A., Julkunen-Tiitto R., De La Rosa T., M., Lehto, T. ve Aphalo P., J., 2000. Allocation of Carbon to Growth and Secondary Metabolites in Birch Seedlings Under UV-B Radiation and CO₂ Exposure. Physiologia Plantarum, 109, 260.
- Legocka, J., Sobieszczuk-Nowicka, E., Wojtyła, L. ve Samardakiewicz, S., 2015. Lead-Stress Induced Changes in the Content of Free, Thylakoid- and Chromatin-Bound Polyamines, Photosynthetic Parameters and Ultrastructure in Greening Barley Leaves, Journal of Plant Physiology, 186-187, 15-24.

- Leterrier, M., Corpas, F., J., Barroso, J., B., Sandalio, L., M. ve Del Rio, L., A., 2005. Peroxisomal Monodehydroascorbate Reductase, Genomic Clone Characterization and Functional Analysis under Heavy Metal Stress Conditions, Plant Physiology, 138, 2111-2113.
- Lichtenthaler, H., K., 1996. Vegetation Stress: An Introduction to the Stress Concept in Plants. Journal of Plant Physiology, 148, 4-14.
- Li, J., Zhang, G., N. ve Li, Y., 2010. Review on the Remediation Technologies of POPs. Hebei Environmental Science, 65, 8.
- Lin, H., Peng, Y-L., Chen, J. ve Liang, L., 2015. Effect of Heavy Metal Stress on Antioxidase Enzymes, International Conference on Manufacturing Science and Engineering, 871-876.
- Liu, J., Lu, B. ve Xun, A., L., 2000. An improved Method for the Determination of Hydrogen Peroxide in Leaves, Progress in Biochemistry and Biophysics, 27, 548–51.
- McKevith, B., 2004. Nutritional Aspects of Cereals, British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin, 29, 111–142.
- Madhava Rao, K., V. ve Sresty, T., V., S., 2000. Antioxidative Parameters in the Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses, Plant Science, 157, 113-128.
- Malanga, G., Kozak, R., G. ve Puntarulo, S., 1999. N-Acetylcysteine-Dependent Protection Against UV-B Damage in Two Photosynthetic Organisms, Plant Science, 141, 129–137.
- Mandal, S., M., Chakraborty, D. ve Dey, S., 2010. Phenolic Acids Act as Signaling Molecules in Plant-Microbe Symbioses, Plant Signaling & Behavior, 5, 4, 359-368.
- Mannan, F., A., Mamat, D., D., Samad, A., A., Ong, Y., S., Ooh, K., F. ve Chai, T., T., 2015. Heavy Metal Accumulation and Antioxidant Properties of *Nephrolepis biserrata* Growing in Heavy Metal-Contaminated Soil, Global NEST Journal, 17, 3, 544-554.
- Manoj, K. ve Padhy, P., K., 2013. Oxidative Stress and Heavy Metals: An Appraisal with Reference to Environmental Biology, International Research Journal of Biological Sciences, 2, 10, 91-101.
- Márquez-García, B., Fernández-Recamales, M., A. ve Cordoba, F., 2012. Effects of Cadmium on Phenolic Composition and Antioxidant Activities of *Erica andevalensis*, Hindawi Publishing Corporation Journal of Botany, 2012, Article ID 936950.
- Marschner, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press, Cambridge.

- Martin, T., A. ve Ruby, M., V., 2004. Review of in situ Remediation Technologies for Lead, Zinc and Cadmium in Soil, Remediation, 14, 3, 35–53.
- Meharg, A., A., 1994. Integrated Tolerance Mechanism Constitutive and Adaptive Plant-Responses to Elevated Metal Concentrations in the Environment, Plant Cell and Environment, 17, 989-993.
- Mehta, S., K. ve Gaur, J., P., 1999. Heavy-Metal-Induced Proline Accumulation and Its role in Ameliorating Metal Toxicity in *Chlorella vulgaris*, New Phytologist Journal, 143, 253-259.
- Michalak, A., 2006. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress, Polish Journal of Environmental Studies, 15, 4, 523-530.
- Mika, A. ve Lühje, S., 2003. Properties of Guaiacol Peroxidase Activities Isolated from Corn Root Plasma Membranes, Plant Physiology, 132, 1489-98.
- Mithöfer, A., Schulze, B. ve Boland, W., 2004. Biotic and Heavy Metal Stress Response in Plants: Evidence for Common Signals, FEBS Letters, 566, 1-3, 1-5.
- Mittler, R., 2002. Oxidative Stress Antioxidants and Stress Tolerance, Trends in Plant Science, 7, 9, 405–410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. ve Van Breusegem, F., 2004. Reactive Oxygen Gene Network of Plants, Trends in Plant Science, 9, 10, 490-498.
- Munzuroglu, O. ve Geckil, H., 2002. Effects of Metals on Seed Germination, Root Elongation, and Coleoptile and Hypocotyl Growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 43, 203-213.
- Muranaka, L., S., Giorgiano, T., E., Takita, M., A., Forim, M., R., Silva, L., F., C., Coletta-Filho, H., D., Machado, M., A. ve de Souza, A., A., 2013. N-Acetylcysteine in Agriculture, a Novel Use for an Old Molecule: Focus on Controlling the Plant-Pathogen *Xylella fastidiosa*, PLoS ONE, 8, 8, e72937.
- Nagajyoti, P., C., Lee, K., D. ve Srekanth, T., V., M., 2010. Heavy Metals, Occurrence and Toxicity for Plants: a Review, Environmental Chemistry Letters, 8, 199-216.
- Nakano, Y. ve Asada, K., 1981. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts, Plant Cell Physiology, 22, 867–80.
- Nicholson, F., A., Smith, S., R., Alloway, B., J., Carlton-Smith, C. ve Chambers, B., J., 2003. An Inventory of Heavy Metals Inputs to Agricultural Soils in England and Wales. Science of the Total Environment, 311, 1-3, 205-19.
- Petřivalský, M., Brauner, F., Luhová, L., Gagneul, D. ve Šebela, M., 2007. Aminoaldehyde Dehydrogenase Activity During Wound Healing of Mechanically Injured Pea Seedlings, Journal of Plant Physiology, 164, 1410–1418.

- Pinto, A., P., Mota, A., M., de Varennes, A. ve Pinto, F., C., 2004. Influence of Organic Matter on the Uptake of Cadmium, Zinc, Copper and Iron by Sorghum Plants, Science of the Total Environment, 326, 239-247.
- Pohlmeier, A., 1999. Metal Speciation, Chelation and Complexing Ligands in Plants. Heavy Metal Stress in Plants: From Molecules to Ecosystems, Prasad, M., N., V. ve Hagemeyer, J., (Eds) 29-50, Springer, Verlag, Berlin.
- Polle, A., 2001. Dissecting the Superoxide Dismutase-Ascorbate-Glutathione-Pathway in Chloroplasts by Methabaling Modeling, Computer Simulations as a Step Towards Flux Analysis, Plant Physiology, 126, 445-462.
- Poschenrieder, Ch. ve Barceló, J., 2004. Water Relations in Heavy Metal Stressed Plants, In Heavy Metal Stress in Plants: From Biomolecules to Ecosystems, Prasad, M., N., V., (Ed), Springer, Verlag Berlin Heidelberg.
- Pourcel, L., Routaboul, J., M., Cheynier, V., Lepiniec, L. ve Debeaujon, I., 2007. Flavonoid Oxidation in Plants: From Biochemical Properties to Physiological Functions, Trends in Plant Science, 12, 1, 29-36.
- Prasad, M., N., V., 2004. Heavy Metal Stress in Plants from Biomolecules to Ecosystems, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Ramakrishna, A. ve Ravishankar, G., A., 2011. Influence of Abiotic Stress Signals on Secondary Metabolites in Plants, Plant Signalin & Behavior, 6, 11, 1720-1731.
- Rauser, W., E., 1990. Phytochelatins, Annual Review Biochemistry, 59, 61-86.
- Rice-Evans, C., A., Miller, N., J. ve Paganga, G., 1997. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds, Trends in Plant Science, 2, 152.
- Robbins, R., J., 2003. Phenolic Acids in Foods, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 2, 2866-2887.
- Rucińska-Sobkowiak, R., 2010. Oxidative Stress in Plants Exposed to Heavy Metals, Postepy Biochemii, 56, 2, 191-200.
- Sairam, R., K., Deshmukh, P., S. ve Shukla, D., S., 1997. Increased Antioxidant Enzyme Activity in Response to Drought and Temperature Stress Related with Stress Tolerance in Wheat Genotypes, Abstract: National Seminar (ISSP), IARI, New Delhi, 69.
- Sakihama, Y., Cohen, M., F., Grace, S., C. ve Yamasaki, H., 2002. Plant Phenolic Antioxidant and Prooxidant Activities: Phenolics-Induced Oxidative Damage Mediated by Metals in Plants, Toxicology, 177, 67-80.
- Sakihama, Y., Mano, J., Sano, S., Asada, K. ve Yamasaki, H., 2000. Reduction of Phenoxyl Radicals Mediated by Monodehydroascorbate Reductase, Biochemical Biophysical Research Communications, 279, 949.

- Samanta, A., Das, G. ve Das, S., K., 2011. Roles of Flavonoids in Plants, International Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 6, 1, 12-35.
- Samuni, Y., Goldstein, S., Dean, O., M. ve Berk, M., 2013. The Chemistry and Biological Activities of N-Acetylcysteine, Biochimica et Biophysica Acta, 1830, 4117–4129.
- Saradhi, P., P. ve Alia, A., 1991. Proline Accumulation Under Heavy Metal Stress, Journal of Plant Physiology, 138, 554-558.
- Sarwar, M., H., Sarwar, M., F., Sarwar, M., Qadri, N., A. ve Moghal, S., 2013. The Importance of Cereals (Poaceae: Gramineae) Nutrition in Human Health: A review. Journal of Cereals and Oilseeds, 4,3, 32-35.
- Sawada, H., Shim, I., S. ve Usui, K., 2006. Induction of Benzoic Acid 2- Hydroxylase and Salicylic Acid Biosynthesis-Modulation by Salt Stress in Rice Seedlings, Plant Science, 171, 2, 263–270.
- Saxena, M., Saxena, J. ve Pradhan, A., 2012. Flavonoids and Phenolic Acids as Antioxidants in Plants and Human Health, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 16, 2, 130-134.
- Scandalios, J., G., Guan, L. ve Polidoros, A., N., 1997. Catalases in Plants: Gene Structure, Properties, Regulation, and Expression, in Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses, 343-406, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schat, H, Sharma, S., S. ve Vooijs, R., 1997. Heavy Metal-Induced Accumulation of Free Proline in Metal-Tolerant and a Nontolerant Ecotype of *Silene vulgaris*, Physiologia Plantarum, 101, 477–482.
- Schmidhuber, J. ve Tubiello, F., N., 2007. Global Food Security Under Climate Change, PNAS, 104, 50, 19703–19708.
- Scragg, A., 2006. Environmental Biotechnology, Oxford University Press, Oxford, UK, 2nd edition.
- Shahidi, F. ve Nackz, M., 1995. Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects, Applications, Lancaster PA: Technomic Publishing Company Inc.
- Shahidi, F. ve Nacz, M., 2004. Phenolics in Food and Nutraceuticals,: Sources, Applications and Health Effects, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Sharma, P., Jha, A., B. ve Dubey, R., S., 2010. Handbook of Plant and Crop Stress, third ed., CRC Press, Editor(s): Mohammad Pessaraki, University of Arizona, Tucson, USA, 1245.
- Sharma, A., Kaur, S. ve Nagpal, A., K., 2016. Heavy Metals and Food Security, International Society of Environmental Botany, 22, 1.
- Sharma, P. ve Dubey, R., S., 2005. Modulation of Nitrate Reductase Activity in Rice Seedlings Under Aluminium Toxicity and Water Stress: Role of Osmolytes as Enzyme Protectant, Journal of Plant Physiology, 162, 854-864.

- Sharma, P. ve Dubey, R., S., 2007. Involvement of Oxidative Stress and Role of Antioxidative Defense System in Growing Rice Seedling Exposed to Toxic Levels of Aluminium, Plant Cell Reports, 26, 2027-2038.
- Shaw, B., P., Sahu, S., K. ve Mishra, R., K., 2004. Heavy Metal Induced Oxidative Damage in Terrestrial Plants, *Inn Heavy Metal Stress in Plants* (Ed. Prasad, M., N., V.), Springer, Verlag Berlin Heidelberg.
- Shen, Z., G. ve Chen, H., M., 2000. Bioremediation of Heavy Metal Polluted Soils, Rural Eco-Environment, 16, 2, 39-44.
- Shrivastava, S., Shrivastav, A. ve Sharma, J., 2015. Detoxification Mechanism of Mercury Toxicity in Plants: A Review, Recent Advances in Biology and Medicine, 1, 60-68.
- Slinkard, K. ve Singleton, V., L., 1977. Total Phenol Analyses: Automation and Comparison with Manual Methods, American Journal of Enology and Viticulture, 28, 49-55.
- Smirnoff, N. ve Cumbes, Q., J., 1989. Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Compatible Solutes, Phytochemistry, 28, 1057-1060.
- Souri, E., Amin, G., Farsam, H. ve Barazandeh Tehrani, M., 2008. Screening of Antioxidant Activity and Phenolic Content of 24 Medicinal Plant Extracts, DARU, 16, 83-87.
- Soydam-Aydın, S., Büyük, İ., Cansaran-Duman, D. ve Aras, S., 2015. Roles of Catalase (CAT) and Ascorbate Peroxidase (APX) Genes in Stress Response of Eggplant (*Solanum melongena* L.) Against Cu^{+2} and Zn^{+2} Heavy Metal Stresses, Environmental Monitoring and Assessment, 187, 726.
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. ve Weschke W., 2000. Differential Response of Antioxidant Compound to Salinity Stress in Salt-Tolerant and Salt Sensitive Seedling of Foxtail Millet (*Setaria italica*), Physiologia Plantarum, 109, 435-442.
- Sroka, Z. ve Cisowski, W., 2003. Hydrogen Peroxide Scavenging, Antioxidant and Anti-Radical Activity of Some Phenolic Acids, Food and Chemical Toxicology, 41, 753-758.
- Sun, H., Zhang, X., He, X., Ahmed, I., M., Cao, F., Zhang, G. ve Wu, F., 2014. N-Acetylcysteine Alleviates Cd Toxicity and Reduces Cd Uptake in the Two Barley Genotypes Differing in Cd Tolerance, Plant Growth Regulation, 74, 93-105.
- Sytar, O., Cai, Z., Brestic, M., Kumar, A., Prasad, M., N., V., Taran, N. ve Smetanska, I., 2012. Foliar Applied Nickel on Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) Induced Phenolic Compounds as Potential Antioxidants, Clean-Soil, Air, Water, 41, 11, 1129-1137.
- Takahama, U., 1988a. Oxidation of Flavonols by Hydrogen Peroxide in Epidermal and Guard Cells of *Vicia faba*, Plant and Cell Physiology, 29, 433.

- Takahama, U., 1988b. Hydrogen Peroxide-Dependant Oxidation of Favonoids and Hydroxycinnamic Acids Derivatives in Epidermal Guard Cells of *Tradescantia virginiana*, Plant and Cell Physiology, 29, 475.
- Tolra, R., P., Poschenrieder, C., Luppi, B. ve Barcelor, J., 2005. Aluminium Induced Changes in the Profiles of Both Organic Acids and Phenolic Substances under Al Tolerance in *Rumex acetosela* L., Environmental and Experimental Botany, 54, 231–238.
- Van Assche, F. ve Clijsters, H., 1990. Effects of Metals on Enzyme Activity in Plants. Plant Cell and Enviroment, 13, 195-206.
- Wang, J., L. ve Wen, X., H., 2001. Environmental Biotechnology. Beijing: Tsinghua University press.
- Wang, J., Zheng, L., Wu, J. ve Tan, R., 2006. Involvement of Nitric Oxide in Oxidative Burst, Phenylalanine Ammonia-Lyase Activation and Taxol Production Induced by Low-Energy Ultrasound in *Taxus yunnanensis* Cell Suspension Cultures, Nitric Oxide-Biology and Chemistry, 15, 351-8.
- Weinstein, L., H., Kaur-Sawhney, R., Venkat Rajam, M., Wettlaufer, S., H. ve Galston, A., W., 1986. Cadmium-Induced Accumulation of Putrescine in Oat and Bean Leaves, Plant Physiology, 82, 641–645.
- Wintz, H., Fox, T. ve Vulpe, C., 2002. Responses of Plants to Iron, Zinc and Copper Deficiencies, Biochemical Society Transactions, 30, 766–768.
- Wu, J., Guo, J., Hu, Y. ve Gong, H., 2015. Distinct Physiological Responses of Tomato and Cucumber Plants in Silicon-Mediated Alleviation of Cadmium Stress, Frontiers in Plant Science, 6, 453.
- Wu, J., T., Hsieh, M., T. ve Kow, L., C., 1998. Role of Proline Accumulation in Response to Toxic Copper in *Chlorella* sp. (Chlorophyceae) cells. Journal of Phycology, 34, 113–117.
- Wuana, R., A. ve Okieimen, F., E., 2011. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation, International Scholarly Research Network, doi:10.5402/2011/402647.
- Xu, J., Zhu, Y., Ge, Q., Li, Y., Sun, J., Zhang, Y. ve Liu, X., 2012. Comparative Physiological Responses of *Solanum nigrum* and *Solanum torvum* to Cadmium Stress, New Phytologist, 196, 125-138.
- Yadav, S., K., 2010. Heavy Metals Toxicity in Plants: An Overview on the Role of Glutathione and Phytochelatins in Heavy Metal Stress Tolerance of Plants, South African Journal of Botany, 76, 167-179.
- Yao, Z., Li, J., Xiec, H. ve Yu, C., 2012. Review on Remediation Technologies of Soil Contaminated by Heavy Metals, Procedia Environmental Sciences, 16, 722 – 729.

- Yuksel, F., Koyuncu, M. ve Abdulhavit, S., 2011. Makarnalık Buğday (*Triticum durum*) Kalitesi, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 4,2, 25-31.
- Yurela, I., 2005. Copper in Plants, Toxic Metals in Plant, 17, 1, 145-156.
- Zhang, W., H. ve Tyerman, S., D., 1999. Inhibition of Water Channels by HgCl₂ in Intact Wheat Root Cells, Plant Physiology, 120, 849-857.
- Zhao, Q. ve Kaluarachchi, J., J., 2002. Risk Assessment at Hazardous Waste-Contaminated Sites with Variability of Population Characteristics, Environment International, 28, 1-2, 41–53.
- Zheng, S., J., Ma, J., F. ve Matsumoto, H., 1998. Continuous Secretion of Organic Acids is Related to Aluminium Resistance During Relatively Long-Term Exposure to Aluminium Stress, Physiologia Plantarum, 103, 209-214.
- Zhu, Y., L., Pilon-Smits, E., A., H., Jouanin, L. ve Terry, N., 1999a. Overexpression of Glutathione Synthetase in Indian Mustard Enhances Cadmium Accumulation and Tolerance, Plant Physiology, 119, 73–79.
- Zhu, Y., L., Pilon-Smits, E., A., H., Tarun, A., S., Weber, S., U., Jouanin, L. ve Terry, N., 1999b. Cadmium Tolerance and Accumulation in Indian Mustard is Enhanced by Overexpressing -Glutamylcysteine Synthetase, Plant Physiology, 121, 1169–1177.

ÖZGEÇMİŞ

03.05.1984 tarihinde Trabzon'un Çaykara ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Trabzon Şehit Yüzbaşı Cengiz Topel İlköğretim Okulu'nda, orta ve lise öğrenimini Trabzon İmam Hatip Lisesi'nde tamamladı. 2009 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi (KTÜ), Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden mezun oldu. Aynı yıl Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı ve 2210/A TÜBİTAK yurt içi yüksek lisans bursunu kazandı. 2010 yılında KTÜ, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2013 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl doktora eğitimine başladı ve 2211/E TÜBİTAK doğrudan yurt içi doktora bursunu kazandı. İyi derecede İngilizce bilmektedir. Evli ve bir erkek çocuk annesidir.