

755071

**TUZ (NaCl) ve AĞIR METAL (KADMIYUM) STRESİNE MARUZ
BIRAKILAN DOMATES BİTKİSİNDE BAZI FİZYOLOJİK
PARAMETRELERİN ve ANTIOKSİDANT SAVUNMA
SİSTEMİNİN İNCELENMESİ**

FAZİLET ÖZLEM ÇEKİÇ

**Mersin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji
Ana Bilim Dalı**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Serpil ÜNYAYAR**

**MERSİN
Haziran-2004**

Bu tezin gerek bilimsel içerik, gerekse elde edilen sonuçlar açısından tüm gerekleri sağladığı kanaatine ulaşan ve aşağıda imzaları bulunan biz jüri üyeleri, sunulan tezi oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul ediyoruz.

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Serpil ÜNYAYAR

Jüri Üyesi
Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU

Jüri Üyesi
Yrd. Doç. Dr. Yüksel KELEŞ

Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü yazım kurallarına uygun olarak yazıldığı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 04/08/2004 tarih ve 2004.18/230 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet TURHAN
Enstitü Müdürü



Not: Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ÖZ

Bu çalışmada, sodyum klorür (NaCl) tipi tuz ve ağır metal (CdCl₂) streslerinin bazı fizyolojik parametreler (kök uzunluğu, gövde uzunluğu, oransal su içeriği, klorofil içeriği) ve antioksidant savunma sistemi (antioksidant enzimler, karotenoid içeriği) üzerine etkileri *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (LA1310, tuza nispeten toleranslı) ve *Lycopersicon esculentum* cv. Rheinlands Ruhm (LA0535, tuza toleranslı olmayan)'da incelendi. Bitkiler; tuz (0, 100, 200 mM NaCl), kadmiyum klorür (0, 100, 200 µM CdCl₂) ve tuz+CdCl₂ kombinasyonlarına maruz bırakıldı. Çalışmanın sonunda elde edilen bulgulara göre; tuz, CdCl₂ ve tuz+CdCl₂ kombinasyonları çalışılan bitki antioksidant enzimlerinden süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini her iki domates varyetesinde çok fazla değiştirmemiştir. Bununla beraber, stres uygulamaları her iki varyetede de askorbat peroksidaz (AP) aktivitesi artırırken, bu artış Cerasiforme'de oldukça belirgin bir şekilde meydana gelmiştir. Diğer taraftan, her iki varyetenin glutatyon redüktaz (GR) aktivitesini azaltmıştır. Stres uygulamaları ile tuza nispeten toleranslı varyetenin katalaz (KAT) aktivitesi artarken, tuza duyarlı olan varyetede azalmıştır. Yaprak hücrelerinde meydana gelen lipid peroksidasyonu tuza nispeten toleranslı olan varyetede değişmezken, tuza toleranslı olmayan varyetede stres sırasında artmıştır. Cd²⁺ stresi ile her iki varyetede toplam klorofil içeriği azalırken, toplam karotenoid içeriği oldukça artmıştır. Bu çalışmada, kök hücrelerinde absorblanan Cd²⁺ içeriği de belirlenmiştir. Tuz+CdCl₂ kombinasyonu daha fazla Cd²⁺ absorblanmasına neden olmuştur. Tuza toleranslı olmayan varyetede, tuza nispeten toleranslı olan varyeteye göre daha fazla Cd²⁺ absorblanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Lycopersicon esculentum*, tuz stresi, kadmiyum, lipid peroksidasyonu, antioksidant savunma sistemi

ABSTRACT

In this study, the effects of sodium chloride (NaCl) type salt and heavy metal (CdCl_2) stresses on some physiological parameters (root length, shoot length, relative water content, chlorophyll content) and antioxidant defence system (antioxidant enzymes, carotenoid content) were investigated in *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (LA1310, relatively salt tolerant), *Lycopersicon esculentum* cv. Rheinlands Ruhm (LA0535, salt non-tolerant). The plants were exposed to salt (0, 100, 200 mM NaCl), cadmium chloride (0, 100, 200 μM CdCl_2) and salt+ CdCl_2 combinations. According to the results at the end of the study; salt, CdCl_2 and salt+ CdCl_2 combinations didn't change superoxide dismutase (SOD) activity of the plant antioxidant enzymes. However, stress applications increased ascorbate peroxidase (APX) activity of both varieties, whereas this enzyme activity increased remarkably in Cerasiforme. On the other hand, glutathion reductase (GR) activity decreased in both varieties. Catalase (CAT) activity increased with stress applications in relatively salt tolerant variety, while decreased in salt non-tolerant variety. Lipid peroxidation that occurred in leaf cells didn't change in relatively salt tolerant variety, whereas increased in salt non-tolerant variety during stress. Total chlorophyll content decreased with CdCl_2 stress in both species, while total carotenoid content increased significantly. In this study, Cd^{2+} content absorbed in root cells was also determined. Salt+ CdCl_2 combination caused more Cd^{2+} absorption. Cd^{2+} was more absorbed in the salt non-tolerant variety than relatively salt tolerant variety.

Key Words: *Lycopersicon esculentum*, salt stress, cadmium, lipid peroxidation, antioxidant defence system

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince yakın ilgi, anlayış, yardım ve desteğinden dolayı, değerli danışman hocam Doç. Dr. Serpil ÜNYAYAR'a (Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında görüş ve önerilerinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Yüksel KELEŞ'e (Mersin Üniversitesi, Eğitim Fakültesi), sonuçlarımın istatistiksel olarak değerlendirilmesinde emeği olan Yrd. Doç. Dr. Erşan KARABABA'ya (Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü) teşekkür ederim. Cd²⁺ analizlerindeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Güzide YÜCEBİLGİÇ'e (Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü) teşekkür ederim. Ayrıca, çalışmalarım süresince maddi ve manevi destekleri ile daima arkamda olan sevgili aileme teşekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. STRES KOŞULLARINA BİTKİLERİN TEPKİSİ.....	5
2.1.1. Kaçınma.....	5
2.1.2. Tolerans.....	5
2.2. TUZ STRESİ.....	6
2.2.1. Bitkilerde Tuz Stresinin Zararları.....	7
2.3. TOPRAK ve SUYUN AĞIR METALLERLE KİRLENMESİ.....	10
2.3.1. Kadmiyum (Cd ²⁺) 'un Fitotoksik Etkileri.....	11
2.4. BİTKİLERİN ANTİOKSİDANT SAVUNMA SİSTEMİ.....	16

3. MATERYAL ve METOT.....	20
3.1. BİTKİ YETİŞTİRME KOŞULLARI.....	20
3.2. ORANSAL SU İÇERİĞİ'NİN (OSİ) ÖLÇÜLMESİ.....	22
3.3. PİGMENTLERİN EKSTRAKSİYONU VE ANALİZİ.....	23
3.4. ENZİM AKTİVİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİ.....	23
3.4.1. Superoksit dismutaz (SOD, EC.1.15.11) Aktivite Tayini.....	23
3.4.2. Askorbat peroksidaz (AP, EC 1.11.1.11) Aktivite Tayini.....	24
3.4.3. Glutasyon redüktaz (GR E.C.1.6.4.2.) Aktivite Tayini.....	24
3.4.4. Katalaz (KAT E.C. 1.11.1.6.) Aktivite Tayini.....	25
3.5. LİPİD PEROKSİDASYONU.....	25
3.6. KÖKLERDE Cd ²⁺ İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ.....	25
3.7. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	26
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	27
4.1.BULGULAR.....	27
4.1.1. Kök Büyümesi.....	34
4.1.2. Gövde Büyümesi.....	36
4.1.3. Oransal Su İçeriği (OSİ)	36
4.1.4. Pigment İçerikleri.....	37
4.1.4.1. Klorofil içeriği.....	37
4.1.4.1.1. Klorofil a içeriği.....	37

4.1.4.1.2. Klorofil b içeriği.....	40
4.1.4.1.3. Klorofil a/b oranı.....	40
4.1.4.1.4. Toplam klorofil içeriği.....	41
4.1.4.1.5 Toplam karotenoid içeriği.....	42
4.1.5. Antioksidant Enzim Aktiviteleri.....	43
4.1.5.1. SOD aktivitesi.....	43
4.1.5.2. AP aktivitesi.....	44
4.1.5.3. GR aktivitesi.....	45
4.1.5.4. KAT aktivitesi.....	46
4.1.6. Lipid Peroksidasyonu.....	48
4.1.7. Köklerdeki Cd ²⁺ İçeriği.....	49
4.2.TARTIŞMA.....	51
4.2.1. Kök ve Gövde Büyümesi.....	51
4.2.1.1. Kök büyümesi.....	51
4.2.1.2. Gövde büyümesi.....	53
4.2.2. Oransal Su İçeriği (OSİ)	54
4.2.3. Pigment İçerikleri.....	55
4.2.3.1. Klorofil içeriği.....	55
4.2.3.2. Toplam karotenoid içeriği.....	57
4.2.4. Antioksidant Enzimler.....	58
4.2.4.1. SOD aktivitesi.....	58
4.2.4.2. AP aktivitesi.....	61
4.2.4.3. GR aktivitesi.....	63

4.2.4.5. KAT aktivitesi.....	64
4.2.5. Lipid Peroksidasyonu.....	65
4.2.6. Köklerdeki Cd ²⁺ İçeriği.....	67
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	69
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	80



ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE	SAYFA
Çizelge 3.1. Normal Hoagland Kültür Çözeltisinin Bileşimi.....	21
Çizelge 3.2. <i>L. esculentum</i> var.cerasiforme veya <i>L. esculentum</i> cv. Rheinlands Ruhm için hazırlanmış olan uygulama metodu.....	22
Çizelge 4.1. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da kök uzunluğunun varyans analizi sonuçları.....	27
Çizelge 4.2. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da gövde uzunluğunun varyans analizi sonuçları.....	27
Çizelge 4.3. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da OSİ'nin varyans analizi sonuçları.....	28
Çizelge 4.4. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da klorofil a içeriğinin varyans analizi sonuçları.....	28
Çizelge 4.5. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da klorofil b içeriğinin varyans analizi sonuçları.....	29
Çizelge 4.6. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da klorofil a/b oranının varyans analizi sonuçları.....	29
Çizelge 4.7. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da toplam klorofil içeriğinin varyans analizi sonuçları.....	30
Çizelge 4.8. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da toplam karotenoid içeriğinin varyans analizi sonuçları.....	30
Çizelge 4.9. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da SOD aktivitesinin varyans analizi sonuçları.....	31
Çizelge 4.10. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da AP aktivitesinin varyans analizi sonuçları.....	31
Çizelge 4.11. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da GR aktivitesinin varyans analizi sonuçları.....	32
Çizelge 4.12. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da KAT aktivitesinin varyans analizi sonuçları.....	32
Çizelge 4.13. <i>L.esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da MDA içeriğinin varyans analizi sonuçları.....	33

- Çizelge 4.14. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da kök hücrelerinde Cd²⁺ içeriğinin varyans analizi sonuçları.....33
- Çizelge 4.15. *L. esculentum* var. cerasiforme'nin Kök Uzunluğu, Gövde Uzunluğu ve OSİ.....34
- Çizelge 4.16. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un Kök Uzunluğu, Gövde Uzunluğu ve OSİ.....35
- Çizelge 4.17. *L. esculentum* var. cerasiforme'nin Klorofil a, Klorofil b, Klorofil a/b, Toplam Klorofil ve Toplam Karotenoid İçerikleri.....38
- Çizelge 4.18. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un Klorofil a, Klorofil b, Klorofil a/b, Toplam Klorofil ve Toplam Karotenoid İçerikleri.....39



ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	SAYFA
Şekil 2.1. Cd ²⁺ 'un bitki hücreleri tarafından alımı.....	13
Şekil 2.2. Bitki hücresinde SOD izoenzimlerinin yerleşimi.....	17
Şekil 2.3. Yüksek bitkilerde reaktif oksijen türlerinin giderilmesi.....	18
Şekil 4.1. <i>L. esculentum</i> var. cerasiforme ve <i>L. esculentum</i> cv. Rheinlands Ruhm'un SOD Aktivitesi.....	43
Şekil 4.2. <i>L. esculentum</i> var. cerasiforme ve <i>L. esculentum</i> cv. Rheinlands Ruhm'un AP Aktivitesi.....	45
Şekil 4.3. <i>L. esculentum</i> var. cerasiforme ve <i>L. esculentum</i> cv. Rheinlands Ruhm'un GR Aktivitesi.....	46
Şekil 4.4. <i>L. esculentum</i> var. cerasiforme ve <i>L. esculentum</i> cv. Rheinlands Ruhm'un KAT Aktivitesi.....	47
Şekil 4.5. <i>L. esculentum</i> var. cerasiforme ve <i>L. esculentum</i> cv. Rheinlands Ruhm'un MDA İçeriği.....	48
Şekil 4.6. <i>L. esculentum</i> var. cerasiforme ve cv. Rheilands Ruhm'un Kök Hücrelerinde Cd ²⁺ İçeriği.....	49

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

- Klo-a: Klorofil a
Klo-b: Klorofil b
OSİ: Oransal Su İçeriği
PVP: Polivinil Polipirrolidon
NBT: Nitroblue Tetrazolium
SOD: Süperoksit Dismutaz
AP: Askorbat Peroksidaz
GR: Glutasyon Redüktaz
KAT: Katalaz
MDA: Malondialdehit
DHAR: Dehidroaskorbat redüktaz
MDHAR: Monodehidroaskorbat redüktaz

1. GİRİŞ

Domates bitkisi değişik iklim koşullarında yetiştirilir ve ticari olarak büyük öneme sahiptir. Bununla beraber, genellikle Akdeniz ülkelerinin yarı kurak bölgelerinde yetiştirildiğinde yüksek verim elde edilmektedir. Dünyada domates üretiminin % 30'u Akdeniz ülkelerinde yapılır [1]. Bu bölgelerde toprak ve taban suyunun tuzluluğu, domatesin kalitesinde ve veriminde azalmaya yol açan önemli bir problemdir [2]. Yağışın az olması, buharlaşmanın yüksek olması, bölgenin kayalık olması, tuzlu su ile sulama tarımsal alanlarda tuzluluk sorununa neden olmaktadır.

Tuzluluk dünya yüzölçümünün %7'sini etkilemektedir, bu da 930 milyon hektara karşılık gelir ve bu alanlar gittikçe artış göstermektedir [3]. Topraktaki tuzluluk bitkilerde strese neden olduğundan dolayı tarımda çok dikkat edilmesi gereken önemli bir faktördür [4].

Su, korunması gereken kısıtlı bir kaynak olduğundan tuzlu sudan en iyi şekilde yarar sağlamak tuz toleransının bilinmesine bağlıdır [2]. Tuzlu koşullarda ekonomik açıdan iyi yetişebilen kültürlerin seçilmesi ve bu kültürlerin üretilmesi tuzlu sudan yarar sağlamak bakımından iyi bir yöntemdir. Bu nedenle tuz stresine maruz kalan bitkilerin metabolizmalarının iyi bilinmesi gerekmektedir [5].

Tuzluluğun artmasıyla bitkinin su alımı azaldığından dolayı bitkide fizyolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Örneğin, yaprak alanı, stoma yoğunluğu, stoma açıklığı, transpirasyon, meyve tutumu ve kuru ağırlığı azalmaktadır [2]. Tuz stresine meydana gelen su sıkıntısı kloroplastlara da olumsuz yönde etki etmektedir. Kuraklığa dayanıklı bitkilerin stoma açılıp kapanmasını düzenledikleri bilinmektedir. Böyle bitkilerin stomaları duyarlı türlere göre daha küçüktür. Fakat domates bitkisinin stomaları bazı bitkilere göre daha büyüktür; örneğin *Robinia pseudoacacia*'da stomaların daha küçük olduğu bildirilmiştir [6]. Bu nedenle domates bitkisinin kuraklık stresine karşı daha duyarlı olduğu söylenebilir.

Tarım alanlarında karşılaşılan diğer bir problem ağır metal kirliliğidir. Metal iyonları toprakta eser miktarlarda bulunmaktadır. Toprakta bulunan metaller doğaya yararlı ya da zararlı olabilir. Bitkiler Cu, Zn, Fe, Mn gibi bazı metallere az miktarlarda mikro besin olarak ihtiyaç duymaktadırlar. Kadmiyum, cıva, arsenik gibi ağır metaller ise doğada eser miktarda bulunur ve bu metaller bitkiler tarafından gerek duyulmayan elementlerdir [7].

Ağır metal konsantrasyonu doğada insan kaynaklı olarak artmaktadır. Çeşitli tarımsal uygulamalar, maden, endüstri aktivitelerinden ve otomobillerden çıkan gazlar sonucu ağır metallerin miktarında artış gözlenmektedir. Ağır metal kirliliği, mikro- ve makrofloraya zarar vermektedir. Su ve kara ekosistemine atılan ağır metaller bitkilerin canlılığını ve verimliliğini olumsuz yönde etkilemektedir [7]. Birçok bitki türünde fotosentezin aydınlık ve karanlık devreleri ağır metallerle inhibisyona uğramaktadır [8]. Ağır metaller toksik etkilerini enzim aktivitelerini inhibe ederek veya düzenli çalışmalarını bozarak gösterirler [7].

Ağır metaller parçalanmadığı için bitkinin yetiştiği ortamdaki uzaklaştırılmaları gerekir [9]. Fakat bu uygulama oldukça pahalı bir işlemdir. Bitkiler, yaşadıkları ortamdaki ağır metal toksisitesinden korunmak adına 2 strateji geliştirmişlerdir. Bunlar; *kaçınma* ve *tolerans*'tır. Birincisi, metal iyonlarının alınımının azaltılması ve iyonların sitoplazmaya geçişinin engellenmesidir. İkincisi ise, hücre içi yüksek metal konsantrasyonlarını fitokelatinler yardımı ile kelatlamak, vakuollerde depolamak [10] ve oksidatif stres karşısında hücre savunmasını artırmaktır [9].

Bitkiler tuz ve ağır metal stresi gibi çeşitli stres koşullarına maruz kaldıklarında oluşabilecek önemli biyokimyasal değişikliklerden biri de aktif oksijen türlerinin ortaya çıkmasıdır. Bitki hücrelerinin kloroplastları ve mitokondrileri, aktif oksijen türlerinin önemli hücre içi üreticileridir. Elektron transport zincirlerinden ayrılan elektronlar normal aerobik metabolizmada oksijen ile reaksiyona girerek süperoksit (O_2^{\bullet}), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\bullet}) gibi aktif oksijen türlerini oluştururlar. Bu sitotoksik oksijen türleri oldukça reaktifirler ve

koruyucu mekanizmalar olmadığı takdirde normal metabolizmada lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere, fotosentetik pigmentlere ve membranlara zarar vererek metabolizmayı bozarlar [4, 11, 12]. Tuz ve ağır metal stresi ile artan serbest radikaller, membranlardaki lipidlerin peroksidasyonuna, protein ve nükleik asitlerin hasarına neden olmaktadır [13]. Bu etkilerden dolayı hücre duvarı ve hücre membranının bütünlüğü bozulmaktadır [13, 14].

Bitkiler stres sonucu oluşan aktif oksijen türlerinin hasar verici etkilerinden korunmak için çok sayıda antioksidant enzime sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD, EC. 1.15.1.1), süperoksidin (O_2^-) en önemli gidericisidir ve enzimin aktivitesi sonucunda hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. SOD aktivitesinin bu toksik ürünü, askorbat peroksidaz (AP, EC.1.11.1.11) ve glutatyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) tarafından ortadan kaldırılır. Katalaz (KAT, EC. 1.11.1.6) enzimi ise oluşan hidrojen peroksidi suya (H_2O) ve moleküler O_2 'e dönüştürür [4].

Uzun zamandır reaktif oksijen türlerinin asıl olarak zararlı oldukları düşünülürken, artık bu düşünce hızlı bir şekilde değişmektedir. Reaktif oksijen türlerinin bitkilerin savunma sistemlerinde patojenlere karşı önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Aynı zamanda reaktif oksijen türleri lignifikasyon, hücre duvarındaki çapraz bağlanma gibi çeşitli gelişim basamağındaki aksaklıkları bildiren sinyallerdir. Bu nedenle reaktif oksijen türleri genlerin ekspresyonunu düzenleyen sinyal moleküller gibi davranmaktadırlar. Bu özelliklerden dolayı hücrelerin reaktif oksijen moleküllerinin seviyesini ayarlamaları, tümüyle ortadan kaldırmamaları gerekmektedir. Oksidant seviyesinin kontrolü antioksidant savunma sistemleri ile başarılmaktadır. Strese karşı toleranslı bitkiler üretebilmek için antioksidant savunma sisteminin çok iyi bilinmesi gerekmektedir. Günümüzde yapılan biyoteknolojik çalışmalarda strese karşı toleranslı bitkiler yetiştirilmektedir. Bu bitkiler kirlenmiş alanların temizlenmesinde de kullanılmaktadır [15].

Bu çalışmanın amacı, tuz ve ağır metal streslerinde yetiştirilen tuza nispeten toleranslı ve toleranslı olmayan iki domates varyetesinde antioksidant savunma sisteminin rolünü belirlemek ve tuz toleranslılığı ile Cd^{2+} stresi arasında bir ilişki

olup olmadığını araştırmaktır. Bu amaçla çalışmamızda, tuz toleransı farklı olan iki domates varyetesinde tuz, Cd²⁺ ve tuz+ Cd²⁺ kombinasyonlarının bazı fizyolojik parametreler ve antioksidant savunma sistemi üzerine etkileri incelenmiştir.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bitkiler yaşadıkları ortamda gelişme ve yaşamlarını sürdürme şanslarını kısıtlayıcı yüksek sıcaklık, su sıkıntısı, tuz, ağır metal gibi pek çok stres faktörlerine maruz kalırlar [16-19]. Stres faktörleri etkilerini genellikle eş zamanlı olarak gerçekleştirmektedir. Organizmalar, genetik özelliklerine bağlı olarak stres faktörlerine farklı tepkiler verebilirler. Bitkilerin belirli bir stres faktörüne olan tepkileri; yaşa, adaptasyon derecesine, mevsimsel ve hatta günlük aktiviteye bağlı olarak önemli ölçüde değişiklik gösterebilir. Bir bitkinin stresten etkilenip etkilenmediği bu bitkinin optimum koşullardaki davranışıyla yapılacak bir karşılaştırma ile anlaşılabilir. Stres faktörlerinin bitkiler üzerindeki etkileri oldukça spesifiktir [16].

2.1. STRES KOŞULLARINA BİTKİLERİN TEPKİSİ

Bitkilerde stres faktörlerine karşı iki farklı tepki gözlenir. Bunlar; stres faktörlerinden *kaçınma* veya bu faktörlere karşı *tolerans*'tır.

2.1.1. Kaçınma: Stres faktörlerinin bitki dokularına girişinin önlenmesini veya azaltılmasını ifade eder. Bu mekanizma, aşağıda belirtilen yollarla gerçekleşir:

- Bitkinin çevre ile temas halinde olduğu yüzeylerinin morfolojik ve kimyasal kompozisyonlarındaki değişiklikler: Yaprak ayasının alanı ve kalınlığı, stomaların büyüklüğü ve yoğunluğu, kutikulanın kalınlığı ve kimyasal kompozisyonu, yaprak ve kök salgılarında toksik ve engelleyici bileşenlerin oluşumu gerçekleşir.
- Ontogenetik değişimler (stres faktörlerinden mevsimsel olarak kaçınma): Stres olayından önce dormant ontogenetik faza (tohum, yumru oluşumu) geçiş sağlanarak, bitki üretkenliği garantili hale gelir.

2.1.2. Tolerans: Stres faktörlerinin etkisini ortadan kaldırma, azaltma veya tamir etme mekanizmalarını ifade eder. Bu tepki tipi, doku seviyesindeki değişiklikleri (sakızların, yara periderminin oluşumu gibi), subselüler seviyedeki değişiklikleri (hücre duvarı ilavesi, membran, kloroplast ve hücre duvarı modifikasyonlarının

oluşumu gibi), moleküler (sekonder metabolitlerin, polisakkaritlerin, fenol polimerlerinin ve stres proteinlerinin sentezi) seviyedeki değişiklikleri içerir [16].

2.2. TUZ STRESİ

Tuzluluk, yeryüzündeki yaşamın evrimi süresince karşılaşılan ilk kimyasal stres faktörüdür. Okyanuslar ve tuz gölleri sucul tuzlu habitatlar olarak kabul edilirler. Nemli ve kurak iklim koşullarının her ikisinde de tuzlu topraklar bulunur. Okyanuslara ait aerosol formundaki tuzlar, denizden 100 km içerilere doğru rüzgar ve bulutlarla da taşınabilmektedirler. Toprakların tuz içerikleri kışın yolların buzlanmasını önlemek için kullanılan tuzlarla da artmaktadır [16].

Tarım alanlarındaki tuzluluk bitkisel üretimi sınırlayan oldukça önemli bir sorundur [20, 21]. Tuz, bitkilerin vejetasyon süresince, evaporasyon ve transpirasyon kalıntıları olarak bitki bünyesinde birikebilir. Yaprak ve diğer kısımların ölererek yere düşmelerinden sonra da tuzlar, yağışlarla toprağa geri döner. Toprak tuzluluğu, topraktan oluşan evaporasyonun yıl boyunca toprağa düşen yağış miktarından daha fazla olması nedeniyle kurak bölgeler büyük ölçüde artmaktadır. Taban suyunun yüksek olduğu veya drenajın olmadığı çukur alanlarda, sulama suyunda ve yetersiz drenaj koşullarında fark edilir derecede yüksek tuz içeriği bulunur. Sulamaların yoğun olarak yapıldığı alanlarda da fazla miktarda tuz birikimi olmaktadır [16].

Nemli bölgelerde tuzlu topraklar esas olarak sodyum klorür (NaCl) içerirler. Bu tip nötral tuzlu topraklar kurak bölgelerde de meydana gelir. Step ve çöl toprakları ise kendilerini daha alkali yapan Na, Mg ve Ca'un sülfat ve karbonatlarına sahiptirler. Steplerde meydana gelen sodyum topraklarının yüksek pH değerleri (8.5-11), NaHCO_3 , Na_2CO_3 ve NaOH gibi temel tuzların varlığından kaynaklanır. Yarı-kurak alanlarda, oldukça tuzlu topraklar genellikle, yüzeydeki tuz kırıntıları ile tanınırlar. Bunlar Na, Mg ve Ca'un sülfat ve bi-karbonatlarından meydana gelmiştir [16].

Çok sayıda bitki gibi domates bitkisi de tuzluluktan etkilenmektedir. Domates, tropiklerden kuzey kutbunun bazı bölgelerine kadar farklı iklim şartlarında ve geniş çapta ekimi yapılan bir bitkidir. Bununla beraber, en fazla ürünün alındığı bölgeler ılık ve yarı kurak bölgelerdir. Dünyada domates üretiminin %30'dan fazlası Akdeniz'in çevresinde yapılır [1]. Akdeniz Bölgesi'nde de tuzluluk önemli bir problemdir. Akdeniz Bölgesi'nde suların tuzlu olması, denizden gelen rüzgarların etkisi, yeraltı sularının tuzlu olmasından dolayı bu alanlarda yapılan tarım tuzluluktan etkilenmektedir [22].

Ilık ve kurak bölgelerdeki doğal toprak formu tuz üretmektedir. Bu alanlarda yetişen domates dahil olmak üzere birçok bitki sulama ile yetiştirilmektedir. Uygun olmayan sulama toprakların tuzlanmasına neden olur ve bu ikincil tuzluluk dünyadaki tarım alanlarının %20'sini etkilemektedir [1]. Bu bölgelerde toprak ve zemin suyunun tuzluluğu, domatesin kalitesinde ve veriminde düşmeye neden olan önemli bir problemdir [2]. Bu nedenle tuzluluk domates bitkisi için en uygun iklim koşullarına sahip bu alanlarda bile yüksek verim elde etmek için oldukça önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Domates bitkisi, tuzlu alanların iyileştirilmesi için model bir bitki olarak rol oynayabilmektedir [1].

2.2.1. Bitkilerde Tuz Stresinin Zararları

Tuz konsantrasyonunun yüksek olması bitki metabolizmasına ve iletim dokusuna zarar verip büyümenin inhibisyonuna yol açar. Tuzlu alanlarda yaşayan bitkiler toprak iyi sulanmış olsa bile su stresine maruz kalırlar. Bu nedenle tuz stresinde meydana gelen belirtiler benzer şekilde su stresinde de ortaya çıkar [12, 20]. Yüksek tuz konsantrasyonlarının bitkilerde yarattığı sıkıntılar, suyun ozmotik olarak tutulmasından ve spesifik iyonların protoplazma üzerine olan etkilerinden kaynaklanır. Su, tuz çözeltilerinde ozmotik olarak tutulur. Böylece tuz konsantrasyonu artarken, bitkilere daha az su girişi olarak bitkilerde su sıkıntısı meydana gelir [23]. Tuz stresi hücre turgorunun azalmasına ve düşük su potansiyeline neden olarak su akışını güçleştirir [1, 20, 24, 25].

Tuzluluk bitkinin büyümesi için gerekli olan bazı minerallerin topraktan alınımını engellemektedir. Toprağın NaCl içeriğinin yüksek olması membran depolarizasyonuna, iyon alım mekanizmasında hasarların oluşmasına neden olmaktadır. Tuz stresine maruz kalan bitkiler özellikle NO_3^- , K^+ , Ca^{+2} 'u yetersiz şekilde alırlar [16, 26]. Azot, bitkiler tarafından özellikle büyüme için fazla miktarlarda ihtiyaç duyulan bir mineraldir. Azot kaynağı, nitrat ve amonyum şeklindedir. Tuzluluk nitratın kökten sürgüne iletimini inhibe eder [26]. Bu nedenle tuzluluk, bitkiler için gerekli olan azot fiksasyonunu, fotosentezi olumsuz yönde etkiler [12]. Tuzluluk gövde ve yaprağın kuru ağırlığında azalmaya neden olur. Tohum gelişimi sırasında ne kadar erken tuz stresine maruz kalındıysa sürgün o kadar az büyüme gösterir. Yaprak büyümesindeki indirgenme, hücre turgoru, hücre duvarının özelliklerinin değişmesi ve fotosentez hızının strese bağlı olarak indirgenmesi ile ilişkilidir [1].

Protoplazmada Na^+ ve Cl^- miktarlarındaki artış, enzim proteinleri ve membranlara etki ettiği gibi, iyonik dengede de (K^+ ve Ca^{+2} ile Na^+ arasındaki denge) karışıklıklara yol açar. İyonik dengesizlikten dolayı oksidatif fosforilasyon ile çok az enerji üretilir, azot asimilasyonu bozulur, protein metabolizmasında karışıklıklar meydana gelir. Fotosentez, stomaların kapanması, tuzun elektron taşınması ve sekonder olaylar üzerine etkisiyle engellenir. Özellikle köklerdeki solunum tuzdan etkilenmektedir. Glikoliz ve trikarboksilik asit (Krebs) döngülerinin enzim sistemleri, tuza duyarlıdır [16]. Bundan başka tuz stresi, senesensi hızlandırmaktadır. Senesens, çözünür protein içeriğinin azalması; klorofil a/klorofil b oranındaki değişiklikler; membran geçirgenliğindeki bozukluklar; lipid peroksidasyonundaki artışlar; toksik iyonların birikimi ya da besin yetersizliği nedeni ile uyarılmaktadır [27, 28].

Ekstrem tuz stresi, bodurlaşmaya, kök ve sürgün büyümesinin engellenmesine yol açar. Kök dokuları sürgüne göre tuzluluktan daha kolay etkilenir ve hızlı fakat geçici olarak büyümeleri yavaşlar. Bu olay gövdedeki kadar uzun süreli değildir. Bitki dokularında biriktirilen iyonların toksik etkisi, hücre ölümüne kadar yol açabileceğinden dolayı hücre büyümesini sınırlandırır. Bu durumda

tomurcuk açması gecikir, sürgünlerin boyu kısalmır, yapraklar küçülür ve daha ileri safhalarda hücrelerin ölümü gerçekleşir [1, 28]. Tuzluluk sürgünde de su sıkıntısını meydana getirir. Tuz stresi, tomurcuklarda, yaprak kenarlarında ve sürgün uçlarında nekrozlar oluşturur, yaprakların sararmasına ve sürgünün tüm kısımlarında kurumaya neden olur [16].

Tuz stresi ve tuz stresinin ortaya çıkardığı su stresinin büyüme ve gelişmeyi sınırlayan olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için bitkiler çok hızlı bir şekilde cevap vermek durumundadırlar. Bu mekanizmalar birçok genin ekspresyonu ya da hormonlar aracılığı ile olabilir. Son yirmi yıldır, absisik asidin (ABA), tuz ve su stresinden sorumlu genlerinin ekspresyonu sonucu oluşan çok önemli hücresel bir sinyal olduğu bilinmektedir. Tuz ve su stresinde bitki dokularında çok hızlı ve güçlü bir şekilde ABA hormonu biriktirilmektedir [24]. Tuz stresi ile uyarılan ABA birikimi su azlığında stoma açıklığını düzenler ve bitki dokularını susuzluktan korur. Bununla beraber ABA, bitki büyümesini inhibe eder. Su stresine maruz kalan bitkilerin yaprak alanlarının indirgenmesinin, gövdede ABA birikimi ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır [29, 30]. Tuzluluktan kaynaklanan sitokininin düşük seviyeleri, absisik asit ve etilen miktarlarındaki artış olgunlaşmanın erken başlamasında etkili olmaktadır [16].

Tuzluluğun bitkiler üzerindeki etkileri şu şekilde özetlenebilir:

- Köklenme ortamının ozmotik potansiyelini artırarak su stresinin ortaya çıkmasına ve suyun bitkiler tarafından yetersiz alınmasına neden olur [3, 12, 16, 23, 24].
- Topraktaki iyon ve diğer bitki toksinlerinin birikimine yol açar [3, 20].
- Membran depolarizasyonuna, iyon alım mekanizmasında hasarların oluşmasına neden olur [1, 26].
- Na^+ , Cl^- , K^+ ve Ca^{+2} gibi iyonların transportuna zarar verir [16, 21].
- Besin alımı ve/veya taşınmasının baskılanması ile oluşan besin dengesizliğine yol açar [28].
- Fotosentezi ve solunumu olumsuz yönde etkiler [16].
- Senesensi hızlandırır [27, 28].

Tuzluluğun yarattığı tüm bu etkilerden korunmak için sudaki tuz oranının azaltılması gerekir [5]. Tuzluluktan kurtulmak için yapılan drenaj çalışmaları ve yüksek kalitedeki su elde edilmesi tuzluluk problemini çözebilir, fakat bu çalışma oldukça pahalı ve geçici bir süreç olduğundan tarım alanlarında kapsamlı şekilde uygulanması güçtür [23, 31, 32].

2.3. TOPRAKVE SUYUN AĞIR METALLERLE KİRLENMESİ

Tuzluluğun dışında bitkiler için oldukça önemli diğer bir sorun ağır metal kirliliğidir. Ağır metaller toprakta normal şartlarda az miktarda bulunmaktadır. Ağır metallerin biyolojik olarak kullanılabilen formlarının salınması insan aktivitesi ile gerçekleşmektedir [7]. Ağır metaller, çoğunlukla endüstri işlemlerinden, fosfatlı gübrelere, kirli atık sularla doğaya insan kaynaklı olarak yayılmaktadır. Yayılan ağır metaller besin zincirine katılırlar. Ağır metallerden bitkiler de çok kolay etkilenmektedir [33].

Kasıt veya dikkatsizlik sonucu okyanuslardan ve sulardan topraklara geçen materyaller arasında ağır metaller, özellikle uzun süreli problemler yaratırlar. Bu maddeler, organizmalarda birikmekle ve böylece gıda zincirlerine katılmak dışında ekosistemde tehlikeli konsantrasyonlarda uzun süreli kalabilirler. Maden cevheri bulunduran kayalar veya lavlarla karışık cürufu örten topraklar, birçok bitkiye toksik olan miktarlarda ağır metaller (özellikle Zn, Pb, Ni, Co, Cr, ve Cu) ve metaloidleri (Mn, Cd, Se, As) içerirler. Ağır metal kirliliği, ağır taşıt trafiği, çöplükler ve lağım pisliklerini içeren endüstriyel bölgelerde de meydana gelir. Metal işleyen endüstrilerden kaynaklanan toz emisyonları, ağır metallerin her bir tipini içerir. Fabrikaların atık suları Cd, Zn, Fe, Pb, Cu, Cr, Hg, lağım atıkları ise Cd, Zn, Fe, Cu, Cr, Ni, Hg içerirler [16]. Bitkiler için toksik etkileri olan ağır metaller içinde kadmiyum önemli bir ağırdır [7, 19].

2.3.1. Kadmiyum (Cd^{2+})'un Fitotoksik Etkileri

Bitki hücreleri tarafından metalik elementlerin alınımı, özellikle de köklerdeki alımın bitkilerin mikro element olarak çeşitli metallere ihtiyaç duymalarından ötürü, bu elementlerin taşınması ve birikmesi uygun mekanizmalarla kolaylaştırılır. Bununla birlikte, bitki toksik elementlerin girmesini aynı mekanizmalarla önleyemeyebilir [16]. Cd^{2+} bitkiler için gerekli bir element olmamasına rağmen bitkiler tarafından alınır [7].

Kadmiyum, oldukça reaktif ve düşük konsantrasyonlarda bile etkili olabilen önemli bir ağır metaldir. Çeşitli bitkilerle yapılan çalışmalar sonucu kadmiyumun oldukça fitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir [33- 37].

Kadmiyum bitkilerde yavaş büyümeye ve düşük biyokütleyle neden olmaktadır [38]. Cd^{2+} toksisitesinin semptomları kolaylıkla tanımlanabilmektedir. Bitkilerde görülen en önemli tanı gelişimin engellenmesi ve klorozdur. Kloroz, demir (Fe) eksikliğinden ve toksik metallerin interaksiyonundan meydana gelmektedir. Fazla miktarda Cd^{2+} varlığında oluşan kloroz, Cd^{2+} 'un demir ile direkt ya da indirekt olarak interaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Kadmiyum iyonu, çeşitli elementlerin (Ca, Mg, P, K ve Fe) ve suyun alınımı, iletimini ve kullanımını engellemektedir [7].

Kadmiyum iyonu, kök ve gövde uzunluğunu indirmektedir. Kök uzunluğunun inhibisyonu Cd^{2+} toksisitesinde en önemli parametredir [39]. Bununla birlikte fotosistem II reaksiyon merkezi ve elektron transportu kadmiyumun interaksiyonundan etkilenmektedir. Cd^{2+} ayrıca klorofil sentezini inhibe etmektedir [8].

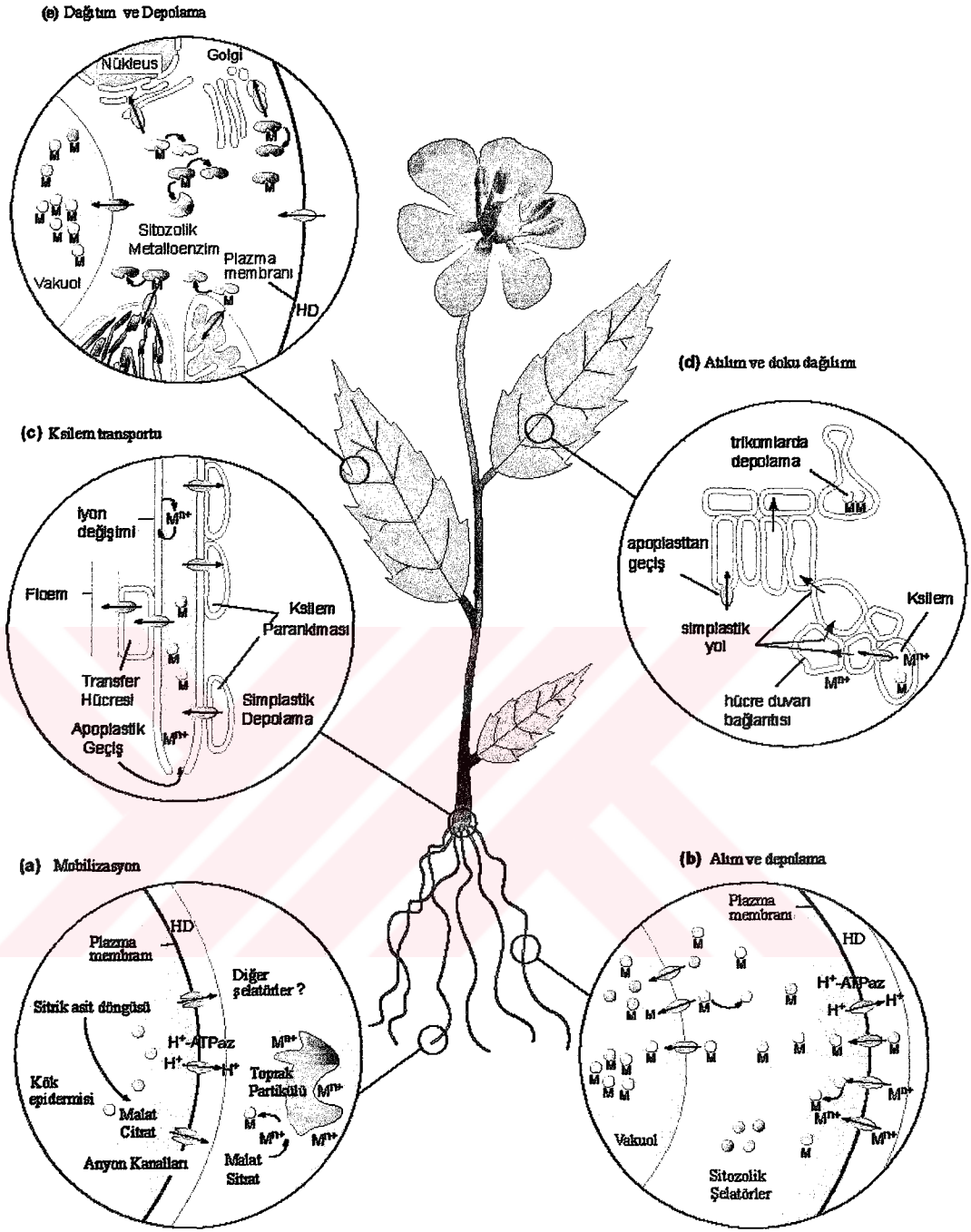
Kadmiyum iyonu, özellikle bitkilerin fotosentez, solunum ve azot metabolizmasını etkilemektedir [7]. Ağır metal iyonlarının toksisitesi, başlıca solunum ve fotosentezdeki elektron transportuna olan müdahalelerin, enerji ve

mineral besin alımının azaltılmasının ve büyümedeki gerilemelerin bir sonucu olarak yaşamsal önemdeki enzimlerin inaktivasyonundan kaynaklanmaktadır [16, 40].

Birçok bitki, minimal konsantrasyonların artma göstermesi ile ağır metallere duyarlı hale gelir. Bazı bitki türleri, kirli habitatlar üzerinde büyüebilir, çünkü bu bitkiler ağır metal fazlalıklarını zararsız kılacak kaçınma mekanizmalarını geliştirmişlerdir.

Ağır metallerin zararsız hale getirildiği mekanizmalar:

- a) Metal iyonları, rizosferde asidifikasyon ve kelatörlerin sekresyonu ile mobilize edilerek alım azalır (Şekil 2.1).
- b) Metal iyonları hücre duvarında hareketsiz hale getirilir ve bir kısmı depolanır. Metal iyonları ya da metal-kelat kompleksleri plazma membranında bulunan çeşitli iletim sistemleri ile alınır. Metaller sitoplazmada kükürt içeren polipeptitler (glutatyon ve glutamil sistein türevleri), SH içeren proteinler ve metal toksisitesinden korunmayı sağlamak üzere teşvik edilen stres proteinleri ile kelatlanır ve fazla bulunan metaller vakuole taşınarak depolanır.
- c) Metaller köklerden gövdeye ksilem yolu ile taşınır. Muhtemelen, büyük bir kısmı ksileme kök simplastı yolu ile gider. Apoplastik geçiş kök ucunda gerçekleşir. Ksilem içinde, metaller hidrat iyonları ya da metal-kelat kompleksleri olarak bulunurlar.
- d) Yaprığın apoplastına ulaşan metaller plazmodezma aracılığı ile hareket ederler. Depolama trikomlarda gerçekleşmektedir. Yaprak hücrelerine alım çeşitli taşıyıcılar aracılığı ile olur [10, 16, 36].



Şekil 2.1. Kadmiyumun bitki hücreleri tarafından alımı [36]. Semboller: HD, hücre duvarı; M, metal; küreler, kelatörler; oval şeklindeki yapılar, taşıyıcılar; fasulye şeklindeki yapılar, metalloperonlar.

Ağır metallere dayanıklılığın genetik ve fizyolojik temelini anlaşılması, aşırı kirlenmiş alanların yeniden vejetasyona sahip olmaları için ve ayrıca biyoindikatör bitkilerin seçimi için uygun türlerin belirlenmesinde ve uygun çeşitlerin ıslahında önceden bilinmesi gereken önemli bir husustur [16].

Bitkilerin kendi metabolizmaları dışında ağır metalleri tolere etmesinde yardımcı olan bir mekanizma daha vardır. Ağaçlarda ve alılarda yaygın olarak görölen ektomikorizalar konak bitkiye metal toksisitesinden korunmasında yardımcı olurlar. Ektomikorizalar salgıladıkları sıvı sayesinde metalleri kelatlarlar ve metal iyonlarını hiflerinde depolarlar. Böylelikle konak bitkinin apoplastına metal iyonlarının ulaşması kısmen indirgenmiş olur [10].

Rizosferde rol oynayan diğer bir savunma mekanizması ise kök salgılarıdır. Kök salgılarının bazı metalleri kelatlama özelliği vardır. Bu bariyerleri açan metal iyonları hücre duvarına ulaşmaktadır. Kök hücre duvarı metal iyonları ile direkt olarak temasta olmasına rağmen, hücre duvarındaki absorpsiyonun sınırlı kapasitede olması gereklidir. Bu nedenle plazma membranında gerçekleşen metal aktivitesinde çok fazla etkisi olmamaktadır. Bununla beraber metali tolere edebilen bitkilerin hücre duvarında metal depolanmaktadır. Metal toleransına sahip olan *Silene vulgaris ssp. humilis* bitkisinin epidermal hücre duvarı çok sayıda metali depolamaktadır. Bu metaller hücre duvarında proteine ya da silikata bağlanarak depolanırlar [10].

Ağır metal toksisitesindeki ilk hedef plazma membranıdır. Plazma membranının geçirgenliği ağır metallerden çok hızlı bir şekilde etkilenmektedir. Bu nedenle bitkiler ağır metal toksisitesine karşı izledikleri yolda ağır metallerin plazma membranına ulaşmasını önleyecek stratejiler geliştirmişlerdir [10].

Bitkiler abiyotik stres koşullarında yaşamak için çeşitli çevresel streslere karşı biyokimyasal reaksiyonlarla cevap verirler. Kendilerini ağır metalin zararlı etkilerinden korumak için sitozole giren metal iyonu ile hemen kompleks oluşturup inaktive ederler. Bu işlem fitokelatınler aracılığı ile olmaktadır [41, 42].

Yüksek bitkiler, algler ve bazı mantarlar kadmiyuma karşı sülfür zengini peptidler olan fitokelatinleri sentezlerler. Fitokelatinlerin genel formülleri (γ -glutamylcysteinyl)_n-X dir, n=2-11 olabilir ve X ise; glisin, sistein, β - alanin , glutamat ya da glutamin olabilir [37, 42, 43]. Fitokelatinler, glutatyonun çeşitli izoformlarından fitokelatin sentaz enzimi (γ - glutamylcysteinyl dipeptidil transpeptidaz, EC 2.3.2.15) tarafından sentezlenirler. Fitokelatin sentaz, bitki hücrelerinin sitoplazmasında bulunmaktadır [42].

Kadmiyum, fitokelatinlerin thiol gruplarına bağlanır ve kadmiyumdan 1000 kere daha az toksik olan Cd²⁺-PC kompleksi oluşur [37]. Fitokelatinler için en iyi aktivatör kadmiyumdur. Kadmiyum dışında Ag, Bi, Pb, Zn, Cu, Hg ve Au üzerinde de etkin rol oynamaktadırlar [43].

Bütün bitkiler kadmiyumu farklı derecelerde absorblarlar. Iannelli ve ark. [34] *Phragmites australis* bitkisinin yüksek miktarlarda Cd²⁺ depoladığını ve bu bitkinin Cd²⁺ stresi karşısında biyokimyasal detoksifikasyon mekanizması geliştirdiklerini belirtmişlerdir. Bunun beraber diğer türler, örneğin *Pisum sativum* bitkisinde daha düşük kadmiyum konsantrasyonlarında bile yaprak fizyolojisinde ve bitki metabolizmasında değişiklikler meydana gelmiştir [33].

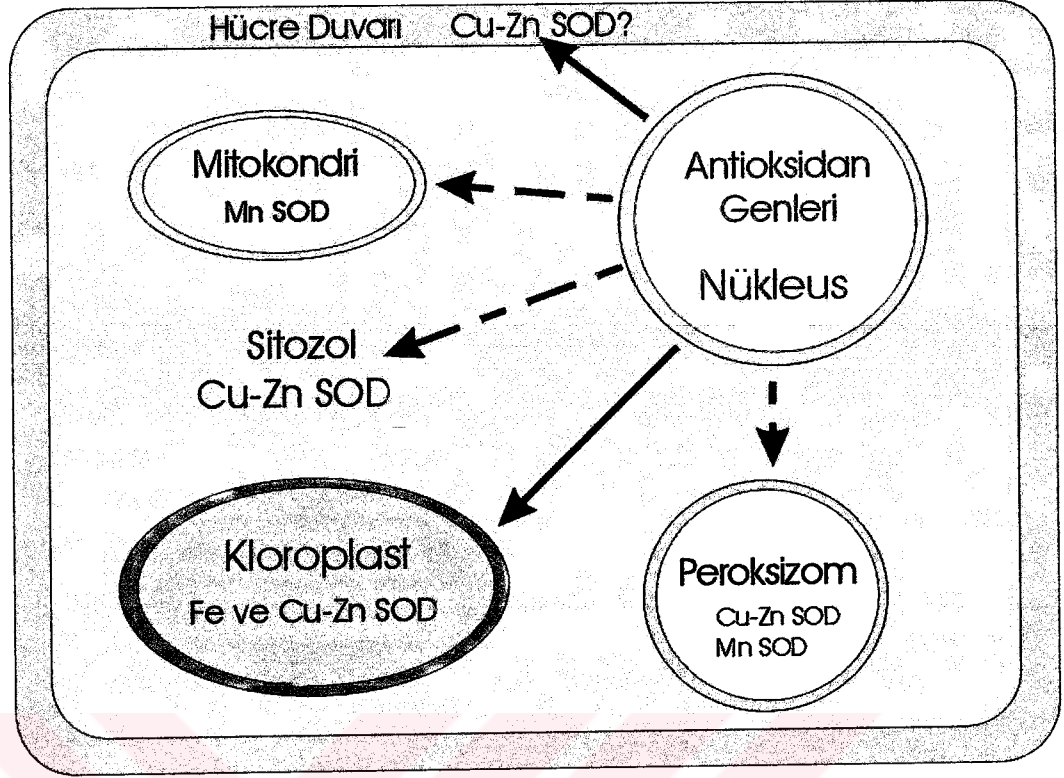
Bitkilerin çeşitli abiyotik stres koşullarına karşı oluşturdukları savunma stratejilerinin biri de antioksidant savunma sistemidir. Bitkilerdeki tuz ve kadmiyum toksisitesinde antioksidant savunma sistemin duyarlı bir hedef olabileceği düşünülmektedir [34, 44].

2.4. BİTKİLERİN ANTIÖKSİDANT SAVUNMA SİSTEMİ

Bitkiler çevresel strese maruz kaldıklarında oksidatif hasarlar meydana gelebilir [44]. Ağır metaller ve tuzluluk bitkilerde serbest radikaller ve aktif oksijen türleri meydana getirerek oksidatif strese neden olmaktadır [20, 39, 45, 46].

Hücrelerde aerobik metabolizmada ortaya çıkan aksaklıklar sonucu elektron transport zincirinden çıkan elektronlar, O_2 ile reaksiyona girerek singlet oksijen (1O_2), süperoksit radikali (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türleri oluştururlar [4].

Aktif oksijen türleri kloroplastların, mitokondrilerin ve peroksizomların oksidatif metabolizmaları sırasında üretilir [45]. Aktif oksijen türlerinin esas olarak üretildiği yer kloroplastlardır. Oluşan aktif oksijen türleri; lipidler, pigmentler ve nükleik asitler ile reaksiyona girerler ve lipid peroksidasyonuna, dolayısıyla hücrenin yaşama kabiliyetine olumsuz yönde etki ederler [4, 38, 45]. Bitkilerin antioksidatif sistemleri aktif oksijen türlerini ortadan kaldırmak için çok sayıda enzim içermektedir. Metal ve tuz stresi sonucu bitki hücrelerinde oluşan süperoksit radikalleri, süperoksit dismutaz (SOD) enziminin reaksiyonu ile hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürülür [38, 45]. Süperoksit radikallerinin üretildiği hücre kompartımanlarında SOD enzimlerinin olması beklenir. SOD enzimleri metal kofaktöre bağlıdır. SOD'ın 3 izoenzimi vardır: demir SOD (Fe SOD), mangan SOD (Mn SOD) ve bakır-çinko SOD (Cu-Zn SOD). Bu izoenzimler hücrede değişik yerlerde bulunurlar. Fe SOD kloroplastta, Mn SOD mitokondri ve peroksizomda ve Cu-Zn SOD kloroplast, sitozol ve muhtemelen hücre dışında (ekstrasellular) bulunur (Şekil 2.2). Fe SOD H_2O_2 ile inaktive olur, KCN'ye dirençlidir. Cu-Zn SOD KCN, H_2O_2 ile inaktive olur. Mn SOD her iki inhibitöre de dirençlidir [47].

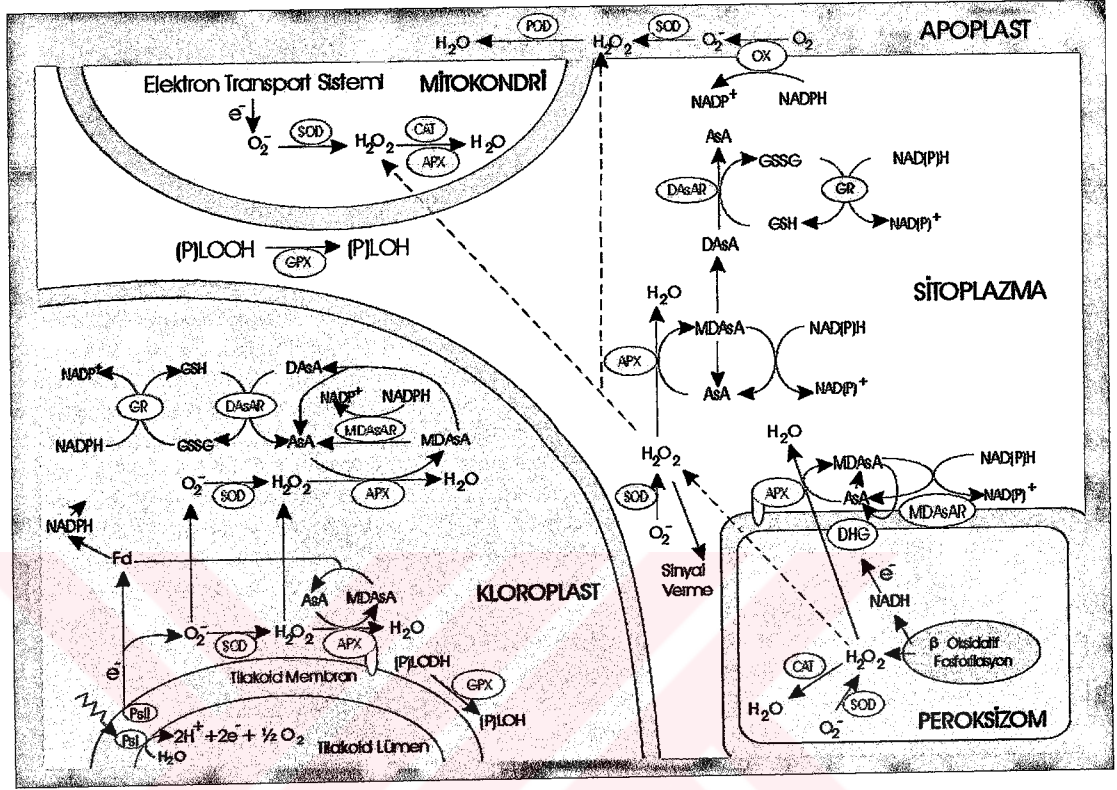


Şekil 2.2. Bitki hücresinde SOD enzimlerinin yerleşimi [47].

SOD izoenzimlerinin değişik metaller içermesinin evrimsel nedeni, farklı jeolojik alanların atmosferindeki O_2 içeriğinin biyosferde bulunan çözünür metal bileşiklerinin değişik oranlarda kullanılabilirliği ile ilişkili olmasından kaynaklanır [47].

SOD'ın katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan ve kuvvetli bir oksidant olan H_2O_2 ; DNA'da, proteinlerde hasarlara, stomaların kapanmasına, lipid peroksidasyonuna ve hatta hücre ölümüne neden olur [48]. H_2O_2 'nin hücrede birikimi, katalaz ya da askorbat-glutasyon döngüsü ile önlenir. Detoksifikasyonun enzimatik mekanizması, dehidroaskorbat redüktaz, glutasyon redüktaz ve diğer enzimleri içermektedir [38]. AP, askorbat-glutasyon döngüsünde hidrojen peroksidi suya indirgemekle görevlidir. Bu sırada askorbat monodehidroaskorbata (MDHA) okside olur. MDHA monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) tarafından askorbata dönüştürülür. Bununla beraber MDHA'nın iki molekülü enzimatik olmayan yol ile MDHA'ya ve dehidroaskorbata (DHA) oransız olarak dönüştürülür. DHA, dehidroaskorbat redüktaz (DHAR; EC 1.6.5.4) ve GR (GR; EC 1.6.4.2) tarafından askorbata indirgenir. Bu reaksiyondan sonra redükte glutasyon (GSH), DHAR'ın

etkisi ile okside glutatyona (GSSG) dönüştür ve GSSG, GR tarafından GSH'a geri indirgenir [44, 49] (Şekil2.3).



Şekil 2.3. Yüksek bitkilerde aktif oksijen türlerinin giderilmesi [49]. AsA; Askorbat, MDAsA; Monodehidroaskorbat, MDAsAR; Monodehidroaskorbat redüktaz, DAsA; Dehidroaskorbat, DAsAR; Dehidroaskorbat redüktaz, AP; Askorbat peroksidaz, SOD; Süperoksit dismutaz, GR; Glutasyon redüktaz, KAT; katalaz.

Antioksidatif savunma sisteminin diğer bileşenleri olan askorbat ve glutasyonun stres koşullarında arttığı bilinmektedir [38]. Glutasyon aynı zamanda fitokelatinlerin öncül molekülleridir [42]. Bitkilerin oksidatif strese karşı geliştirdikleri biyokimyasal detoksifikasyon stratejileri bitkilerin metal ve tuz toleransına sahip olmalarını sağlamaktadır [38, 44]. Bu aktivitelerin çoğu yapraklarda gerçekleşmektedir. Tuza ilk maruz kalan organ olan köklerde ise nadir olarak aktif oksijen türlerinin üretildiği hakkında kanıt bulunmaktadır [44].

Aktif oksijen türlerinin üretimi ve antioksidant sistemi ile detoksifikasyonları arasındaki denge çevresel stresler sonucu değişmektedir [44]. Yapılan çalışmalar

bize tuz ve ağır metal stresi dahil çeşitli çevresel streslere karşı oluşan dayanıklılığın antioksidant savunma sistemi ile ilişkili olduğunu göstermiştir [34, 44]. Cd^{2+} 'a maruz bırakılan bezelye bitkisinin detoksifikasyon mekanizmasında antioksidant savunma sisteminin etkili bir rol oynadığı tespit edilmiştir. Bezelye bitkisinde Cd^{2+} 'a cevap olarak yapraklardaki ve köklerdeki antioksidant aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. Bu olay Cd^{2+} 'un aktif oksijen türlerinin oluşumunu ve miktarlarını etkilediğini göstermektedir [33].

Yüksek bitkilerde bulunan antioksidant savunma mekanizmasının enzim sistemi dışında aktif oksijen türlerinden korunmak için başka bir mekanizma daha geliştirmişlerdir. Askorbik asit, glutatyon ve α -tokoferol aerobik hücrelerde antioksidant olarak görev görürler. Ayrıca, fotosentetik sistemlerde karotenoidler (β -karoten ve ksantofiller) önemli antioksidant etkiye sahiptirler [50, 51].

Karotenoidlerin fotosentezdeki rolü iyi bilinmektedir. Karotenoidler, fotosentetik sistemi iki yoldan korurlar:

1. β -karoten direkt olarak triplet klorofili (3Chl) ve singlet oksijeni (1O_2) ortadan kaldırırlar.
2. Ksantofil döngüsü, 1Chl 'i ortadan kaldırırlar [14].

Karotenoidler ışığı toplayıcı pigmentlerdir ve stres koşullarında fotosentetik aygıtları koruyucu işlevleri vardır [14].

3. MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (LA1310; tuza nispeten toleranslı) ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm (LA0535; tuza toleranslı olmayan) kullanıldı.

3.1. BİTKİ YETİŞTİRME KOŞULLARI

Tohumlar %3 sodyum hipoklorit içerisinde yarım saat bekletildi, daha sonra musluk suyu ile çalkalanarak yıkandı. Yıkanan tohumlar seyreltik H₂SO₄'de 1 saat tutuldu. Daha sonra tohumlar süzöldü ve yıkanarak 1 gün süre ile havalandırılan suda bekletildi. Şişirilmiş tohumlar perlit içeren küçük kaplara (viyol) konularak 26/20 °C gündüz / gece sıcaklığı, % 65-70 nem ve 480 µmol.m².s⁻¹ ışık şiddeti koşulları içeren iklim odasında yetiştirildi. Bitkiler ilk günden itibaren ½ oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltilisi ile sulandı. Hoagland kültür çözeltilisi Bozcuk [52]'a göre hazırlandı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Normal Hoagland Kültür Çözeltisinin Bileşimi.

Makro- elementler	g/L	Firma
Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	0.821	Merck
KNO ₃	0.506	Merck
KH ₂ PO ₄	0.136	Sigma
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0.120	Sigma
Mikro-elementler	mg/L	Firma
C ₆ H ₅ FeO ₇ . 5H ₂ O	50.00	Fluka
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1.80	Merck
H ₃ BO ₃	2.90	Merck
ZnCl ₂	0.12	Merck
CuCl ₂ . 2 H ₂ O	0.05	Merck

Not: ½ oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltisi hazırlamak için, Çizelge 3.1’de belirtilen miktardaki makro ve mikro-elementler 2 L distile suda eritildi. Çözeltinin pH’sı 0.05 M KOH ile 5.7- 5.8’e ayarlandı.

Fideler uygun büyüklüğe gelince perlit içeren daha geniş saksılara aktarıldı. Bitkiler 8 hafta süreyle yetiştirildi. 8 hafta sonunda stres uygulamalarına başlandı. Uygulama grupları Çizelge 3.2’de belirtilmiştir. Stres uygulamalarından 1 hafta sonra bitkiler hasat edildi. Bitkiler saksılardan dikkatlice çıkarılarak kökleri yıkandı ve havlu kağıt ile fazla suları alındıktan sonra kök ve gövde uzunlukları ölçüldü. Ölçüm yapıldıktan sonra yapraklardan ve köklerden örnekler alındı. Hasattan hemen sonra yaprakların oransal su içeriği (OSİ) ölçüldü. Yapraklar hasattan sonra analizlerde kullanılacak miktarlarda tartılıp, sıvı azotta donduruldu ve analiz işlemlerine kadar -80 °C’de derin dondurucuda saklandı. Yaprakların klorofil içeriği ve karotenoid içeriği, lipid peroksidasyonu, superoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (AP), glutasyon redüktaz (GR), katalaz (KAT) enzimlerinin aktiviteleri ölçüldü. Kök örneklerinin Cd²⁺ içeriklerinin analizi yapıldı.

Çizelge 3.2. *L. esculentum* var. *cerasiforme* veya *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm için hazırlanmış olan uygulama metodu.

TUZ (NaCl mM)	METAL (CdCl ₂ µM)	Uygulama grupları (3 tekrar)
0 (T ₀)	0 (M ₀)	Tuz Metal 0 0 (Kontrol)
	100 (M ₁)	0 100 (M ₁)
	200 (M ₂)	0 200 (M ₂)
100 (T ₁)	0 (M ₀)	Tuz Metal 100 0 (T ₁)
	100 (M ₁)	100 100 (T ₁ M ₁)
	200 (M ₂)	100 200 (T ₁ M ₂)
200 (T ₂)	0 (M ₀)	Tuz Metal 200 0 (T ₂)
	100 (M ₁)	200 100 (T ₂ M ₁)
	200 (M ₂)	200 200 (T ₂ M ₂)

3.2. ORANSAL SU İÇERİĞİ'NİN (OSİ) ÖLÇÜLMESİ

Bitkilerin oransal su içeriklerini ölçmek için hasat yapıldıktan hemen sonra her bir yapraktan 4 disk kesilip yaş ağırlıkları (YA) tartıldı. Yaprak diskleri, 2 saat boyunca, 25°C'de ultra saf suda bekletilip, turgorlu ağırlıkları (TA) tartıldı. Daha sonra örnekler, 110°C'de 24 saat boyunca kurutuldu. Yapılan kurutma işleminden sonra kuru ağırlıkları (KA) tartıldı.

OSİ, Sairam ve Srivastava [12]' a göre hesaplandı.

$$OSİ = \frac{YA - KA}{TA - KA} \times 100$$

3.3. PİGMENTLERİN EKSTRAKSİYONU VE ANALİZİ

Klorofillerin ekstraksiyonu Porra vd. [53]' a ve Keleş [54]'e göre yapıldı. 0.5 g tartılan yapraklar, % 80'lik asetonda homojenizatörde (Heidolph DIAX 900) homojenize edildi. Klorofil a, klorofil b miktarları 647 ve 664 nm'de spektrofotometrede (Perkin Elmer Lambda EZ 200) ölçüldü ve daha sonra klorofil a/b oranı, toplam klorofil içeriği belirlendi.

Karotenoid analizi Keleş [54]'e ve Moore [55]'e göre yapıldı. 0.5 g tartılan yapraklar %80'lik asetonda ve 0.2 g Na₂SO₄'de homojenize edildi. Ekstraktlar evapore edildi ve geriye kalan kısım 2 mL kloroform içinde çözüldü ve ince tabaka kromatografisine uygulandı. Karotenoid içeriği 450 nm'de spektrofotometrede (Perkin Elmer, Lambda EZ 210) belirlendi.

3.4. ENZİM AKTİVİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİ

3.4.1. Superoksit dismutaz (SOD, EC.1.15.11) Aktivite Tayini

SOD aktivitesi, Beyer ve Fridovich [56]'e göre ölçüldü. 1 g yaprak dokusu 5 mL fosfat tamponu ile ekstrakte edildi. Tampon, 0.1 mM EDTA ve 100 mg PVP içermektedir. Saf ekstrakt 4 °C'de 5 dk. 16 000 g'de santrifüj (Hettich 32R) edildi ve supernatant ölçümler için kullanıldı. 2.4 mL fosfat tamponu, 1 mL sodyum karbonat, 200 µL L-Methionin, 200 µL NBT, 150 µL enzim ve 150 µL riboflavin eklenerek reaksiyon başlatıldı ve örnekler 10 dakika süresince 25 °C ışık altında tutuldu. Bir birim SOD aktivitesi 560 nm'de spektrofotometrede (Perkin Elmer) NBT'nin %50

inhibisyonuna neden olan enzim miktarı olarak belirlendi ($U\ g^{-1}\ YA$). Unit, $25\ ^\circ C$ 'de 1 dakikada $1\ \mu mol$ substratı ürüne dönüştüren enzim (SOD) miktarını göstermektedir. SOD'nin izoenzimleri inhibitörler kullanılarak $560\ nm$ 'de spektrofotometrede (Perkin Elmer) ölçüldü. İnhibitör olarak $2\ mM\ KCN$ (Cu-Zn SOD inhibitörü) içeren $100\ mM$ potasyum fosfat tamponu ($pH:7.8$) ve $5\ mM\ H_2O_2$ (Fe SOD ve Cu-Zn SOD inhibitörü) içeren $100\ mM$ potasyum fosfat tamponu ($pH:7.8$) kullanıldı [57].

3.4.2. Askorbat peroksidaz (AP, EC 1.11.1.11) Aktivite Tayini

AP aktivitesi Bonnet ve ark. [40]'na göre yapıldı. $150\ mg$ yaprak dokusu $200\ mM$ ($pH\ 7.8$) HEPES, $2\ mM$ EDTA, $5\ mM$ $MgCl_2$, $1\ mM$ DTT ve $4\ mM$ sodyum askorbat içeren $1.5\ mL$ ekstraksiyon ortamında homojenizatör (Heidolph DIAX 900) ile homojenize edildi. Saf ekstrakt $4\ ^\circ C$ 'de $5\ dk.$ $16\ 000\ g$ 'de santrifüj edildi ve supernatant ölçümler için kullanıldı. Reaksiyon karışımı $50\ mM\ NaH_2PO_4$ ($pH=7$), $500\ \mu M$ askorbat, $1\ mM\ H_2O_2$ ve ekstrakt içermektedir. $290\ nm$ 'de absorbanstaki düşüş; okside olan askorbat ölçüldü. AP aktivitesi ($U\ g^{-1}YA$) $290\ nm$ 'de askorbat için $2.8\ \mu M^{-1}cm^{-1}$ tükenme katsayısı kullanılarak hesaplandı.

3.4.3. Glutasyon redüktaz (GR E.C.1.6.4.2.) Aktivite Tayini

GR aktivitesi Carlberg ve Mannervik [58]'e göre yapıldı. $1\ g$ yaprak dokusunun $5\ mL$ potasyum fosfat tamponu ($pH=7$ ve $0.1\ mM$ EDTA) ve $100\ mg$ PVP eklenerek homojenize edildi. Saf ekstrakt $4\ ^\circ C$ 'de $5dk.$ $16\ 000g$ 'de santrifüj edildi ve supernatant ölçümler için kullanıldı. $3\ mL$ 'lik UV küvet içerisine $1.5\ mL$ fosfat tamponu, $150\ \mu L$ NADPH, $150\ \mu L$ GSSG, $1\ mL\ H_2O$ ve $200\ \mu L$ ekstraktın eklenmesi ile reaksiyon başlatıldı. $340nm$ 'de spektrofotometrede absorbans azalması ölçüldü. Birinci dakikada ölçüm yapılmayıp ikinci dakikadaki absorbans azalması kaydedildi ve sonuçlar bir dakikada oksitlenen $NADPH_2$ 'nin μmol değeri olarak hesaplandı.

3.4.4. Katalaz (KAT E.C. 1.11.1.6.) Aktivite Tayini

Katalaz aktivitesi, Aebi [59]'e göre yapıldı. 1 g yaprak dokusu 5 mL potasyum fosfat tamponu (pH=7 ve 0.1 mM EDTA) ve 100 mg PVP eklenerek homojenizatör (Heidolph DIAX 900) ile homojenize edildi. Reaksiyon 2.8 mL potasyum fosfat tamponu (pH=7 EDTA içermez), 80 µL H₂O₂ (0.5 M) ve 120 µL enzim ekstraktının karıştırılması ile başlatıldı. Katalaz aktivitesi 240 nm'de 30 sn içindeki absorbanın azalması ile tespit edildi ve sonuçlar H₂O₂ dk⁻¹ olarak hesaplandı.

3.5. LİPİD PEROKSİDASYONU

Lipid peroksidasyonu Karabal ve ark. [60]'a göre, malondialdehit (MDA) içeriğinin ölçülmesi ile belirlendi. 0.2 g yaprak dokusu 1 mL %5 trikloroasetik asit (TCA) solüsyonunda homojenizatör ile homojenize edildi. Homojenat 12 000 rpm'de 15 dakika oda sıcaklığında santrifüjlendi.

Süpernatant, %0.5 tiobarbiturik asit (TBA) ve %20 TCA solüsyonlarından eşit hacimler alınarak tüplere aktarıldı. Tüpler 96 °C'de 25 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler buz banyosuna aktarılıp 10 000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Süpernatantın absorbanı 532 nm'de ve 600 nm'de spektrofotometrede (Perkin Elmer) ölçüldü. %20 TCA solüsyonu içinde %0.5 TBA, kör olarak kullanıldı. MDA içeriği, 155 mM⁻¹cm⁻¹ tükenme katsayısı kullanılarak hesaplandı.

3.6. KÖKLERDE Cd²⁺ İÇERİĞİNİN BELİRLENMESİ

Kökler hasattan sonra etüvde 80°C'de 48 saat kurutuldu. Kurutulan kökler 0.5 g tartılıp Erlenmayere konuldu. Her bir örneğin üzerine 12 mL nitrik-perklorik asit karışımı (Nitrik asit; d=1.42, Perklorik asit; %2'lik, Nitrik-perklorik asit karışımı; 4/1 oranında nitrik asit/perklorik asit) konuldu. Karışım hafif çalkalandı ve örnek asit ile tamamen ıslatıldı. Erlenmayer üzerine küçük huni konuldu. 30 dakika

çeker ocakta bekletildi. Daha sonra su banyosu üzerinde düşük sıcaklıkta en az 3 saat bırakıldı. Su banyosundan sonra Erlenmayerler ısıtıcı üzerine konuldu. Sıcaklık giderek 150-200°C'ye yükseltildi. Perklorik asidin yoğun beyaz dumanları Erlenmayerin içini tamamıyla doldurduktan sonra en az yarım saat yakma işlemi sürdürüldü. Yakmanın sonunda Erlenmayer içerisinde en az 1 mL kadar çözelti kalmasına dikkat edildi. Yeterince soğutulduktan sonra Erlenmayere bir miktar ultra saf su eklenip çalkalandı ve 100 mL'ye ultra saf su ile tamamlandı. Çözelti içindeki silisyumun çökmesi için en az 5-6 saat bekletildi. Silisyumun çözülden ayrılması için santrifüj edildi. Süzüntü Cd²⁺ analizi için kullanıldı. Cd²⁺ içeriğinin tayini atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (Hitachi 180-80) yapıldı [61].

3.7. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Tüm sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi MSTATC istatistik programı kullanılarak varyans analizi (ANOVA) yapılarak iki varyete karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak önemli bulunan ortalamalar en küçük önemli fark (LSD) yöntemi kullanılarak gruplandırıldı.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1.BULGULAR

Bu çalışmanın varyans analizi sonuçları, Çizelge 4.1- 4.14'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da kök uzunluğunun varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	722.338	722.338	20.8981	0.0001***
Tuz	2	442.704	221.352	6.4040	0.0042**
Varyete x Tuz	2	124.704	62.352	1.8039	0.1792
Cd ²⁺	2	1899.370	949.685	27.4755	0.0000***
Varyete x Cd ²⁺	2	72.259	36.130	1.0453	0.3620
Tuz x Cd ²⁺	4	597.852	149.463	4.3241	0.0059**
Var.xTuz xCd ²⁺	4	241.407	60.352	1.7460	0.1613
Hata	36	1244.333	34.565		
Toplam	53	5344.968			

Çizelge 4.2. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da gövde uzunluğunun varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	73.500	73.500	3.4326	0.0721
Tuz	2	932.231	466.116	21.7689	0.0000***
Varyete x Tuz	2	172.750	86.375	4.0339	0.0263*
Cd ²⁺	2	1386.454	693.227	32.3756	0.0000***
Varyete x Cd ²⁺	2	167.194	83.597	3.9042	0.0292*
Tuz x Cd ²⁺	4	518.130	129.532	6.0495	0.0008***
Var.xTuz xCd ²⁺	4	608.056	152.014	7.0995	0.0003***
Hata	36	770.833	21.412		
Toplam	53	5344.968			

* İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (p < 0.05)

** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (p < 0.01)

*** İstatistiksel olarak %0.1 düzeyinde önemli (p < 0.001)

Çizelge 4.3. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da OSI'nin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	406.891	406.891	24.9668	0.0000***
Tuz	2	83.869	41.935	2.5731	0.0903
Varyete x Tuz	2	35.306	17.653	1.0832	0.3493
Cd ²⁺	2	71.644	35.822	2.1980	0.1257
Varyete x Cd ²⁺	2	66.605	33.303	2.0434	0.1443
Tuz x Cd ²⁺	4	255.543	63.886	3.9200	0.0096**
Var.xTuz xCd ²⁺	4	199.834	49.959	3.0655	0.0285*
Hata	36	586.702	16.297		
Toplam	53	5344.968			

Çizelge 4.4. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da klorofil a içeriğinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	1.215	1.215	149.1476	0.0000***
Tuz	2	0.533	0.267	32.7436	0.0000***
Varyete x Tuz	2	0.781	0.391	47.9448	0.0000***
Cd ²⁺	2	3.294	1.647	202.1662	0.0000***
Varyete x Cd ²⁺	2	3.545	1.773	217.5924	0.0000***
Tuz x Cd ²⁺	4	1.444	0.361	44.3058	0.0000***
Var.xTuz xCd ²⁺	4	1.002	0.251	30.7556	0.0000***
Hata	36	0.293	0.008		
Toplam	53	12.108			

* İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (p < 0.05)

** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (p < 0.01)

*** İstatistiksel olarak %0.1 düzeyinde önemli (p < 0.001)

Çizelge 4.5. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da klorofil b içeriğinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	0.581	0.581	154.6351	0.0000***
Tuz	2	0.039	0.020	5.2115	0.0103**
Varyete x Tuz	2	0.007	0.004	0.9827	
Cd ²⁺	2	0.230	0.115	30.5784	0.0000***
Varyete x Cd ²⁺	2	0.112	0.056	14.8526	0.0000***
Tuz x Cd ²⁺	4	0.102	0.026	6.8084	0.0003***
Var.xTuz xCd ²⁺	4	0.246	0.062	16.3859	0.0000***
Hata	36	0.135	0.004		
Toplam	53	1.452			

Çizelge 4.6. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da klorofil a/b oranının varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	0.052	0.052	0.5101	
Tuz	2	3.212	1.606	15.7663	0.0000***
Varyete x Tuz	2	4.074	2.037	19.9975	0.0000***
Cd ²⁺	2	5.593	2.797	27.4587	0.0000***
Varyete x Cd ²⁺	2	4.643	2.321	22.7927	0.0000***
Tuz x Cd ²⁺	4	4.281	1.070	10.5091	0.0000***
Var.xTuz xCd ²⁺	4	0.691	0.173	1.6971	0.1721
Hata	36	3.667	0.102		
Toplam	53	26.213			

* İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (p < 0.05)

** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (p < 0.01)

*** İstatistiksel olarak %0.1 düzeyinde önemli (p < 0.001)

Çizelge 4.7. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da toplam klorofil içeriğinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	3.491	3.491	263.8759	0.0000***
Tuz	2	0.538	0.269	20.3449	0.0000***
Varyete x Tuz	2	0.927	0.463	35.0213	0.0000***
Cd ²⁺	2	5.029	2.514	190.0587	0.0000***
Varyete x Cd ²⁺	2	4.916	2.458	185.7877	0.0000***
Tuz x Cd ²⁺	4	1.841	0.460	34.7933	0.0000***
Var.xTuzx Cd ²⁺	4	2.155	0.539	40.7280	0.0000***
Hata	36	0.476	0.013		
Toplam	53	19.373			

Çizelge 4.8. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da toplam karotenoid içeriğinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	55091.389	55091.389	1869.0140	0.0000***
Tuz	2	54942.236	27471.118	931.9769	0.0000***
Varyete x Tuz	2	45623.362	22811.681	773.9023	0.0000***
Cd ²⁺	2	62013.591	31006.795	1051.9273	0.0000***
Varyete x Cd ²⁺	2	16140.580	8070.290	273.7902	0.0000***
Tuz x Cd ²⁺	4	38156.599	9539.150	323.6223	0.0000***
Var.xTuz xCd ²⁺	4	86120.710	21530.178	730.4264	0.0000***
Hata	36	1061.142	29.476		
Toplam	53	359149.608			

* İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (p < 0.05)

** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (p < 0.01)

*** İstatistiksel olarak %0.1 düzeyinde önemli (p < 0.001)

Çizelge 4.9. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da SOD aktivitesinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	1747.627	1747.627	56.1161	0.0000***
Tuz	2	352.713	176.357	5.6628	0.0073**
Varyete x Tuz	2	245.049	122.525	3.9342	0.0285*
Cd ²⁺	2	305.198	152.599	4.8999	0.0131*
Varyete x Cd ²⁺	2	205.929	102.965	3.3062	0.0481*
Tuz x Cd ²⁺	4	126.621	31.655	1.0164	0.4119
Var.xTuzx Cd ²⁺	4	583.648	145.912	4.6852	0.0038**
Hata	36	1121.150	31.143		
Toplam	53	4687.936			

Çizelge 4.10. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da AP aktivitesinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	137538.825	137538.825	89.2485	0.0000***
Tuz	2	46261.371	23130.686	15.0094	0.0000***
Varyete x Tuz	2	9940.756	4970.378	3.2253	0.0515
Cd ²⁺	2	62291.420	31145.710	20.2103	0.0000***
Varyete x Cd ²⁺	2	17043.963	8521.981	5.5299	0.0080**
Tuz x Cd ²⁺	4	98224.814	24556.203	15.9344	0.0000***
Var.xTuzx Cd ²⁺	4	90137.912	22534.478	14.6225	0.0000***
Hata	36	55478.786	1541.077		
Toplam	53	516917.847			

* İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (p < 0.05)

** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (p < 0.01)

*** İstatistiksel olarak %0.1 düzeyinde önemli (p < 0.001)

Çizelge 4.11. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da GR aktivitesinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	7.579	7.579	27.1456	0.0000***
Tuz	2	1.840	0.920	3.2946	0.0485*
Varyete x Tuz	2	1.560	0.780	2.7930	0.0745
Cd ²⁺	2	4.788	2.394	8.5757	0.0009***
Varyete x Cd ²⁺	2	1.633	0.816	2.9237	0.0666
Tuz x Cd ²⁺	4	7.357	1.839	6.5877	0.0004***
Var.xTuzx Cd ²⁺	4	3.240	0.810	2.9009	0.0353*
Hata	36	10.051	0.279		
Toplam	53	38.046			

Çizelge 4.12. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da KAT aktivitesinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	15.435	15.435	8.1355	0.0071**
Tuz	2	17.333	8.667	4.5680	0.0171*
Varyete x Tuz	2	284.311	142.155	74.9289	0.0000***
Cd ²⁺	2	7.915	3.958	2.0860	0.1389
Varyete x Cd ²⁺	2	79.202	39.601	20.8732	0.0000***
Tuz x Cd ²⁺	4	166.967	41.742	22.0017	0.0000***
Var.xTuzx Cd ²⁺	4	125.853	31.463	16.5840	0.0000***
Hata	36	68.299	1.897		
Toplam	53	765.315			

* İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (p < 0.05)

** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (p < 0.01)

*** İstatistiksel olarak %0.1 düzeyinde önemli (p < 0.001)

Çizelge 4.13. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da MDA içeriğinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	9.317	9.317	128.6680	0.0000***
Tuz	2	1.628	0.814	11.2410	0.0002***
Varyete x Tuz	2	0.453	0.226	3.1265	0.0560
Cd ²⁺	2	0.683	0.341	4.7145	0.0152*
Varyete x Cd ²⁺	2	2.526	1.263	17.4436	0.0000***
Tuz x Cd ²⁺	4	2.159	0.540	7.4532	0.0002***
Var.xTuzx Cd ²⁺	4	5.512	1.378	19.0303	0.0000***
Hata	36	2.607	0.072		
Toplam	53	24.884			

Çizelge 4.14. *L.esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheinlands Ruhm'da kök hücrelerinde Cd²⁺ içeriğinin varyans analizi sonuçları.

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Varyete	1	0.336	0.336	5735.6529	0.0000***
Cd ²⁺	1	0.001	0.001	9.5609	0.0050**
Varyete x Cd ²⁺	1	0.023	0.023	399.5849	0.0000***
Tuz	2	0.098	0.049	839.2287	0.0000***
Varyete x Tuz	2	0.025	0.013	214.9323	0.0000***
Tuz x Cd ²⁺	2	0.031	0.015	260.9637	0.0000***
Var.xTuzx Cd ²⁺	2	0.107	0.054	913.5199	0.0000***
Hata	24	0.001	0.000		
Toplam	35	0.623			

* İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (p < 0.05)

** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (p < 0.01)

*** İstatistiksel olarak %0.1 düzeyinde önemli (p < 0.001)

4.1.1. Kök Büyümesi

L. esculentum var. *cerasiforme* ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasında kök uzunluğu bakımından farklılıklar Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). Her iki varyetede de tuz uygulaması kök uzunluğunu azaltmıştır ($p<0,05$, Çizelge 4.15, Çizelge 4.16). Özellikle T_2 uygulaması kök uzunluğunda, kontrol gruplarına göre belirgin şekilde inhibisyona neden olmuştur. Cerasiforme ve Rheinlands Ruhm’da Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi $CdCl_2$ uygulamasının kök uzunluğuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). Çalışmamızda Cd^{2+} uygulamasının kök uzunluğunu tuz uygulamalarından daha fazla inhibe ettiği görülmüştür.

Çizelge 4.15. *L. esculentum* var. *cerasiforme*’nin Kök Uzunluğu, Gövde Uzunluğu ve OSİ.

TUZ (NaCl mM)	METAL ($CdCl_2$ μ M)	Kök Uzunluğu (cm)	Gövde Uzunluğu (cm)	OSİ (%)
0 T_0	0 M_0	46,5 \pm 9,6 a	120,3 \pm 0,5 a	99,8 \pm 1,2
	100 M_1	24 \pm 7,2 d	101,8 \pm 0,3 bc	97,5 \pm 3
	200 M_2	22,3 \pm 1,6 d	99 \pm 2,4 cd	100,3 \pm 2,5
100 T_1	0 M_0	43,2 \pm 5,2 ab	115,5 \pm 0,4 a	97 \pm 1,9
	100 M_1	35 \pm 3,7 bc	106,7 \pm 4,5 b	101,6 \pm 2
	200 M_2	41,3 \pm 0,5 ab	103 \pm 4,1 bc	98,1 \pm 4
200 T_2	0 M_0	34,2 \pm 5,4 bc	106,5 \pm 1,2 b	100,2 \pm 0,4
	100 M_1	27,2 \pm 3,4 cd	93,7 \pm 5,7 d	101,4 \pm 2,3
	200 M_2	36,8 \pm 1,4 abc	101,7 \pm 4,1 bc	100,6 \pm 2,1

*Aynı sütunda, aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($P<0.05$).

Her iki varyetede tuz+Cd²⁺ kombinasyonları kök uzunluğunu inhibe etmiştir (p<0,01, Çizelge 4.1). Varyeteler arasında tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında kök uzunluğu bakımından farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Bununla birlikte *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da tuz+ Cd²⁺ kombinasyonlarında T₂ uygulaması, M₁'in etkisini artırarak Cerasiforme'ye göre kök uzunluğunun daha fazla azalmasına neden olmuştur (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un Kök Uzunluğu, Gövde Uzunluğu ve OSİ.

TUZ (NaCl mM)	METAL (CdCl ₂ µM)	Kök Uzunluğu (cm)	Gövde Uzunluğu (cm)	OSİ (%)
0 T ₀	0 M ₀	39,7±9	115±2 A	109,2±5 A
	100 M ₁	24,5±8	110,3±11 AB	103,3±2 ABC
	200 M ₂	19,8±6	103,8±3 BC	94,8±5 C
100 T ₁	0 M ₀	36,3±3	112,5±2 AB	100,4±7 BC
	100 M ₁	21,8±0,3	86,8±2 D	108,4±2 AB
	200 M ₂	31,5±2	109,3±5 AB	108,8±3 AB
200 T ₂	0 M ₀	34,3±4	96,7±4 CD	109±6 AB
	100 M ₁	18±3	95±3 CD	109,6±4 A
	200 M ₂	19±6	97,7±3 CD	102,4±4 ABC

*Aynı sütunda, aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur (P<0.05).

4.1.2. Gövde Büyümesi

L. esculentum var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasında gövde uzunluğu bakımından farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Bununla birlikte tuz uygulamalarının her iki varyetede gövde uzunluğunu inhibe ettiği ve bu inhibisyonun istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$, Çizelge 4.2). Varyeteler arasında tuz uygulamaları arasında farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$, Çizelge 4.2). Cd^{2+} uygulamaları hem Cerasiforme'de hem de Rheinlands Ruhm'da gövde uzunluğunu azaltmıştır. (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16). Cd^{2+} uygulamalarının gövde uzunluğunu inhibe etmesi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). Konsantrasyondaki artışa bağlı olarak gövde uzaması da inhibe olmuştur. Varyeteler arasında Cd^{2+} uygulamalarının kök uzunluğuna etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$, Çizelge 4.2).

Tuz+ Cd^{2+} uygulamalarının gövde uzunluğu üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında her iki varyetede de gövde uzunluğu inhibe olmuştur. *L. esculentum* var. cerasiforme'de en fazla inhibisyon T_2M_1 uygulamasında, *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da T_1M_1 uygulamasında tespit edilmiştir. Tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarının gövde uzunluğuna etkisi bakımından varyeteler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$, Çizelge 4.2).

4.1.3. Oransal Su İçeriği (OSİ)

L. esculentum var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasında OSİ bakımından farklar istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0,001$, Çizelge 4.3). Bununla birlikte, tuz ve Cd^{2+} uygulamalarının OSİ üzerine etkisi her iki varyetede de istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. *L. esculentum* var. cerasiforme'de T_1 uygulamasında OSİ, kontrol grubuna göre az da olsa azalmıştır. Tuz konsantrasyonundaki artış OSİ'ni belirgin şekilde değiştirmemiştir. Cd^{2+} uygulamasında da benzer bulgular elde edilmiştir. *L.*

esculentum cv. Rheinlands Ruhm'da T₁ uygulaması, oransal su içeriğini kontrol grubuna göre azaltmıştır. Cd²⁺ uygulamasının oransal su içeriği üzerine istatistiksel olarak önemli etkisi olmamasına karşın, Rheinlands Ruhm'da M₂ uygulaması kontrollere göre oransal su içeriğini belirgin şekilde azaltmıştır.

Tuz+ Cd²⁺ kombinasyonlarının OSİ üzerine etkisi her iki varyetede de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,01). Ayrıca varyeteler arasında tuz+ Cd²⁺ kombinasyonlarının OSİ üzerine etkisi bakımından farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,05, Çizelge 4.3). *L. esculentum* var. cerasiforme'de tuz+ Cd²⁺ uygulamalarında oransal su içerikleri kontrol grubuna yakın değerlerde bulunmuştur. En düşük OSİ, T₁M₂ uygulamasında görülmüştür, ancak bu değer kontrol grubuna yakındır. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da tuz+ Cd²⁺ uygulamalarında her iki faktörün yüksek konsantrasyonları OSİ'ni azaltmıştır, diğer uygulamalarda önemli bir değişiklik olmamıştır (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16).

4.1.4. Pigment İçerikleri

4.1.4.1. Klorofil İçeriği

4.1.4.1.1. Klorofil a İçeriği

L. esculentum var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasında klorofil a içeriği bakımından farklar tuz, Cd²⁺ ve tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001, Çizelge 4.4). Cerasiforme'de tuz konsantrasyonlarındaki artış klorofil a içeriğinin kontrol grubuna göre artmasına neden olmuştur. Buna karşılık, Rheinlands Ruhm'da klorofil içeriği tuz uygulamalarında kontrol grubuna göre belirgin bir azalma göstermiştir. Cd²⁺ uygulamaları her iki varyetede klorofil a içeriğinin belirgin bir şekilde azalmasına neden olmuştur (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18).

Tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında Cerasiforme'de klorofil a içeriği azalmış ve bu azalma özellikle T₁M₂ uygulamasında oldukça belirgin bir şekilde görülmüştür.

Bununla birlikte, Rheinlands Ruhm'da M_1 ile birlikte artan tuz konsantrasyonları klorofil a içeriğini kontrol grubuna göre bir miktar arttırmıştır.

Çizelge 4.17. *L. esculentum* var. *cerasiforme*'nin Klorofil a, Klorofil b, Klorofil a/b, Toplam Klorofil ve Toplam Karotenoid İçerikleri.

TUZ (NaCl mM)	METAL (CdCl ₂ μM)	Klorofil a (mg.g ⁻¹)	Klorofil b (mg.g ⁻¹)	Klorofil a/b	Toplam Klorofil (mg.g ⁻¹)	Toplam Karotenoid (μg.g ⁻¹)
0 T ₀	0 M ₀	1,45±0,001 b	0,583±0,06 a	2,5±0,3 ab	2,03±0,07 a	27,1±0,8 fg
	100 M ₁	0,41±0,05 e	0,553±0,02 abc	0,73±0,1 d	0,96±0,06 c	32,26±4 ef
	200 M ₂	0,57±0,05 d	0,420±0,04 d	1,35±0,04 cd	0,99±0,08 c	218,07±8 a
100 T ₁	0 M ₀	1,56±0,12 ab	0,61±0,08 a	2,58±0,2 ab	2,16±0,2 a	22,26±0,8 g
	100 M ₁	0,36±0,003 e	0,460±0,04 cd	0,78±0,05 d	0,82±0,07 c	223,55±4 a
	200 M ₂	0,18±0,02 f	0,270±0,01 e	0,68±0,1 d	0,45±0,01 d	121,9±2 c
200 T ₂	0 M ₀	1,64±0,002 a	0,576±0,006 ab	2,87±0,3 a	2,21±0,06 a	37,13±±2 e
	100 M ₁	1,03±0,116 c	0,413±0,09 d	2,65±0,9 ab	1,44±0,13 b	166,13±1 b
	200 M ₂	0,96±0,08 c	0,473±0,06 bcd	2,04±0,3 bc	1,43±0,,1 b	45,5±6 d

Çizelge 4.18. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un Klorofil a, Klorofil b, Klorofil a/b, Toplam Klorofil ve Toplam Karotenoid İçerikleri.

TUZ (NaCl mM)	METAL (CdCl ₂ µM)	Klorofil a (mg.g ⁻¹)	Klorofil b (mg.g ⁻¹)	Klorofil a/b	Toplam Klorofil (mg.g ⁻¹)	Toplam Karotenoid (µg.g ⁻¹)
0 T ₀	0 M ₀	1,47±0,12 b	0,89±0,06 a	1,65±0,05 cd	2,37±0,2 b	174,5±10 c
	100 M ₁	1±0,04 d	0,67±0,07 b	1,51±0,2 d	1,68±0,04 cd	278,1±3 a
	200 M ₂	1,18±0,06 c	0,63±0,02 bc	1,89±0,08 bc	1,81±0,08 c	259,4±7 b
100 T ₁	0 M ₀	1,05±0,03 cd	0,53±0,06 d	2,01±0,3 ab	1,57±0,04 d	166,1±71 cd
	100 M ₁	1,6±0,13 b	0,89±0,06 a	1,79±0,2 bcd	2,49±0,2 ab	169,4±4 c
	200 M ₂	1,02±0,11 d	0,616±0,06 bcd	1,56±0,2 cd	1,63±0,2 cd	139,7±4 e
200 T ₂	0 M ₀	1,03±0,07 cd	0,626±0,03 bc	1,66±0,2 cd	1,65±0,06 cd	73,2±4 f
	100 M ₁	1,85±0,07 a	0,80±0,01 a	2,29±0,08 a	2,65±0,08 a	50,1±8 g
	200 M ₂	0,65±0,03 e	0,57±0,06 cd	1,16±0,2 e	1,22±0,06 e	158,4±1 d

*Aynı sütunda, aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur (P<0.05).

4.1.4.1.2. Klorofil b İçeriği

L. esculentum var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da tuz ($p<0,01$), Cd^{2+} ($p<0,001$) ve tuz+ Cd^{2+} ($p<0,001$) uygulamalarının klorofil b içeriği üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). *L. esculentum* var. cerasiforme'de tuz uygulamalarında klorofil b içerikleri, kontrol grubuna yakın olarak bulunmuştur. Buna karşılık, *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da tuz uygulamaları klorofil b içeriğini kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde azaltmıştır (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18). Varyeteler arasında Cd^{2+} ve tuz+ Cd^{2+} uygulamalarının klorofil b içeriği üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$, Çizelge 4.5).

Cd^{2+} ve tuz+ Cd^{2+} uygulamalarında her iki varyetede de klorofil b içeriğinde genel olarak azalma tespit edilmiştir. Bu azalmanın *L. esculentum* var. cerasiforme'de Cd^{2+} konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Özellikle T₁M₂ uygulaması klorofil b içeriğinin belirgin bir şekilde azalmasına neden olmuştur. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da da tuz+ Cd^{2+} uygulamalarında tuz konsantrasyonunun artmasıyla klorofil b içeriği değişmezken, $CdCl_2$ konsantrasyonundaki artış klorofil b içeriğinin azalmasına neden olmuştur (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18).

4.1.4.1.3. Klorofil a/b Oranı

L. esculentum var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasında klorofil a/b oranı bakımından farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte, Cerasiforme ve Rheinlands Ruhm'da tuz, Cd^{2+} ve tuz+ Cd^{2+} uygulamalarının klorofil a/b oranı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$, Çizelge 4.6). *L. esculentum* var. cerasiforme'de tuz uygulamalarındaki klorofil a/b oranı kontrol grubuna yakın değerlerde bulunmuştur ve tuz konsantrasyonunun artması bu oranın artmasına neden olmuştur. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da T₁ uygulamasındaki klorofil a/b oranı, kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuştur. Tuz konsantrasyonunun artması ile

klorofil a/b oranı değişme göstermemiştir. Cd^{2+} uygulamalarında *L. esculentum* var. cerasiforme'de klorofil a/b oranı kontrol grubuna göre oldukça azalmıştır. Buna karşılık *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da klorofil a/b oranı kontrol grubuna yakın olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18).

Tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında *L. esculentum* var. cerasiforme'de klorofil a/b oranı genel olarak azalma göstermiştir. Bu azalma T_1 ile $CdCl_2$ konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak daha belirgin bir azalma meydana gelmiştir, T_2 uygulamasında böyle bir azalma görülmemiştir. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da ise diğer uygulama gruplarında klorofil a/b oranı belirgin bir değişiklik göstermezken, sadece T_2M_2 uygulamasında belirgin bir inhibisyon görülmüştür (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18). Her iki varyetede tuz ve Cd^{2+} uygulamalarının klorofil a/b oranı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$, Çizelge 4.6). Buna karşılık, varyeteler arasında tuz+ Cd^{2+} uygulamalarının klorofil a/b oranına etkisi istatistiksel olarak önemsizdir. Cerasiforme ve Rheinlands Ruhm'un klorofil a/b oranları karşılaştırıldığında, Cerasiforme'nin kontrol grubu ve tuz uygulamalarında klorofil a/b oranının Rheinlands Ruhm'dan belirgin şekilde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Cd^{2+} uygulamasında Cerasiforme'nin klorofil a/b oranı kontrollerle karşılaştırıldığında Rheinlands Ruhm'a göre daha belirgin şekilde azalmıştır.

4.1.4.1.4. Toplam Klorofil İçeriği

L. esculentum var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da tuz, Cd^{2+} ve tuz+ Cd^{2+} uygulamalarının toplam klorofil içeriği üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$, Çizelge 4.7). Varyeteler arasında toplam klorofil içeriği bakımından farklar tuz, Cd^{2+} ve tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$). *L. esculentum* var. cerasiforme'de tuz uygulamalarında toplam klorofil içeriği kontrollere göre artış göstermiştir. Buna karşılık, *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un toplam klorofil içeriği tuz uygulamalarından dolayı azalmıştır. Her iki varyetede de Cd^{2+} uygulamaları toplam klorofil içeriğini kontrollere göre belirgin şekilde azaltmıştır (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18).

Tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında ise *L. esculentum* var. cerasiforme'de tüm uygulama gruplarında toplam klorofil içeriğinde azalma görülmüştür. En fazla azalma T₁M₂ uygulamasında gerçekleşmiştir. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da ise tuz+Cd²⁺ kombinasyonunda T₁M₁ ve T₂M₁ uygulanan bitkilerde toplam klorofil içeriği kontrol grubuna göre az da olsa artış göstermiştir.

4.1.4.1.5. Toplam Karotenoid İçeriği

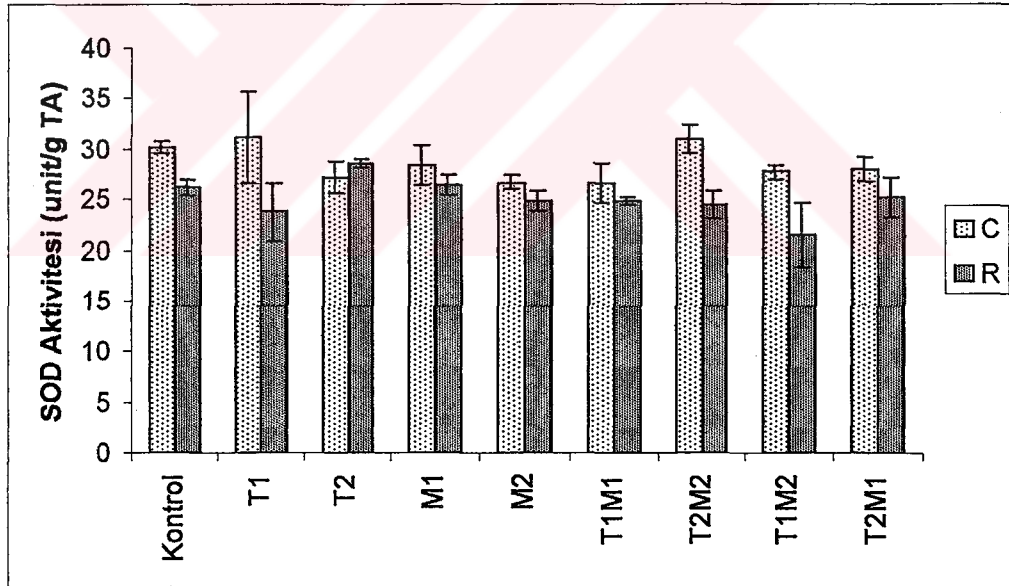
Tuz, Cd²⁺ ve tuz+Cd²⁺ uygulamalarında *L. esculentum* var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da toplam karotenoid içeriği bakımından farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001, Çizelge 4.8). Ayrıca tüm uygulama gruplarının karotenoid içeriği üzerine etkisi bakımından varyeteler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001). *L. esculentum* var. cerasiforme'de yüksek konsantrasyondaki tuz, Cd²⁺ ve tuz+Cd²⁺ uygulamaları toplam karotenoid içeriğini kontrol grubuna göre belirgin şekilde artırmıştır. Özellikle M₂ uygulaması toplam karotenoid içeriğini kontrollerin yaklaşık 8 katı kadar artırmıştır. T₁M₁ uygulaması toplam karotenoid içeriğini belirgin bir şekilde artırmıştır ve bu artış M₂ uygulamasındaki artışa yakındır. Kombinasyonlarda tuz konsantrasyonlarındaki artış ile birlikte Cd²⁺ uygulamaları toplam karotenoid içeriğini artırmıştır (Çizelge 4.17).

L. esculentum cv. Rheinlands Ruhm'da ise T₁ uygulaması toplam karotenoid içeriğini azaltmıştır, fakat kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak önemli fark bulunmamaktadır. T₂ uygulaması ise toplam karotenoid içeriğini kontrol grubuna göre yaklaşık % 40 oranında azaltmıştır. Bununla beraber M₁ ve M₂ uygulamaları toplam karotenoid içeriğini kontrol grubuna göre yaklaşık % 60 oranında artırmıştır. T₂M₁ uygulaması hariç, diğer tuz+Cd²⁺ uygulamaları toplam karotenoid içeriğini kontrol grubuna göre az miktarda azaltmıştır. T₂M₁ uygulaması ise toplam karotenoid içeriğini kontrol grubuna göre yaklaşık 3.5 kat kadar azaltmıştır (Çizelge 4.18).

4.1.5. Antioksidant Enzim Aktiviteleri

4.1.5.1. SOD Aktivitesi

L. esculentum var. *cerasiforme* ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasında SOD aktivitesi bakımından farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,001$, Çizelge 4.9). Tuz ($p < 0,01$) ve Cd^{2+} ($p < 0,05$) uygulamalarının SOD aktivitesi üzerine etkisi her iki varyetede de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. *L. esculentum* var. *cerasiforme*'de SOD aktivitesinde T_1 uygulamasında kontrol grubuna göre az da olsa bir artış görülürken, T_2 uygulamasında az miktarda azalmıştır. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da ise T_1 uygulamasında SOD aktivitesi kontrol grubuna göre azalırken, T_2 uygulamasında az miktarda artış göstermiştir. Her iki varyetede Cd^{2+} uygulamaları çok belirgin olmamasına rağmen SOD aktivitesini kontrol grubuna göre azaltmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. *L. esculentum* var. *cerasiforme* ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un SOD Aktivitesi (C: Cerasiforme, R: Rheinlands Ruhm).

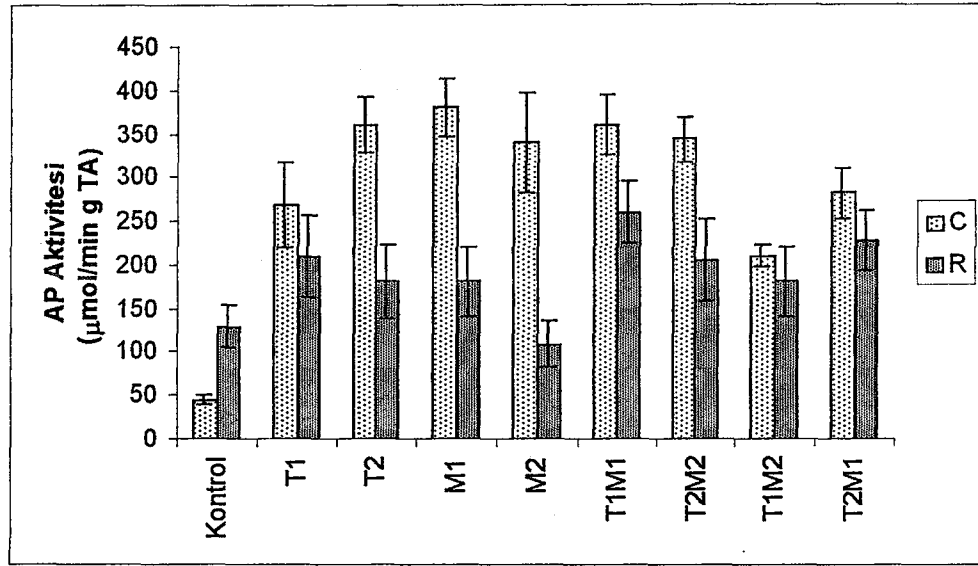
Tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarının SOD aktivitesi üzerine etkisi her iki varyetede istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. *L. esculentum* var. *cerasiforme*'de T_1M_1 uygulamasında M_1 ve M_2 'de olduğu gibi SOD aktivitesinde inhibisyon görülmüştür.

L. esculentum cv. Rheinlands Ruhm'da tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında SOD aktivitesinde kontrol grubuna göre azalma tespit edilmiştir. Bununla beraber, T₁M₂ uygulamasında SOD aktivitesinde kontrollere göre belirgin bir azalma gözlenmiştir (Şekil 4.1). Tuz (p<0,05), Cd²⁺ (p<0,05) ve tuz+Cd²⁺ (p<0,01) uygulamalarının SOD aktivitesi üzerine etkisi bakımından varyeteler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Cerasiforme ve Rheinlands Ruhm arasındaki en belirgin fark, T₂ uygulamasında SOD aktivitesi Cerasiforme'de kontrollere göre azalırken, Rheinlands Ruhm'da kontrollere göre artma göstermiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2). Her iki bitkide de KCN (Cu-Zn SOD inhibitörü) ve H₂O₂ (Fe SOD ve Cu-Zn SOD inhibitörü) inhibitörleri eklenerek yapılan SOD izoenzimlerinin aktivite tayininde SOD aktivitesinin yaklaşık % 50'sinin Cu-Zn SOD'dan kaynaklandığı tespit edilmiştir.

4.1.5.2. AP Aktivitesi

AP aktivitesi bakımından *L. esculentum* var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001, Çizelge 4.10). Her iki varyetede tuz, Cd²⁺ ve tuz+Cd²⁺ uygulamalarının AP aktivitesi üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001). *L. esculentum* var. cerasiforme'de tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak AP aktivitesi de artmıştır. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da uygulanan iki tuz konsantrasyonu da AP aktivitesini hemen hemen aynı düzeyde artırmıştır. Cd²⁺ uygulaması *L. esculentum* var. cerasiforme'de AP aktivitesini *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'a göre çok belirgin şekilde artmasına neden olmuştur. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da M₁ uygulaması AP aktivitesini kontrollere göre artırırken, M₂ uygulaması AP aktivitesini azaltmıştır (Şekil 4.2).

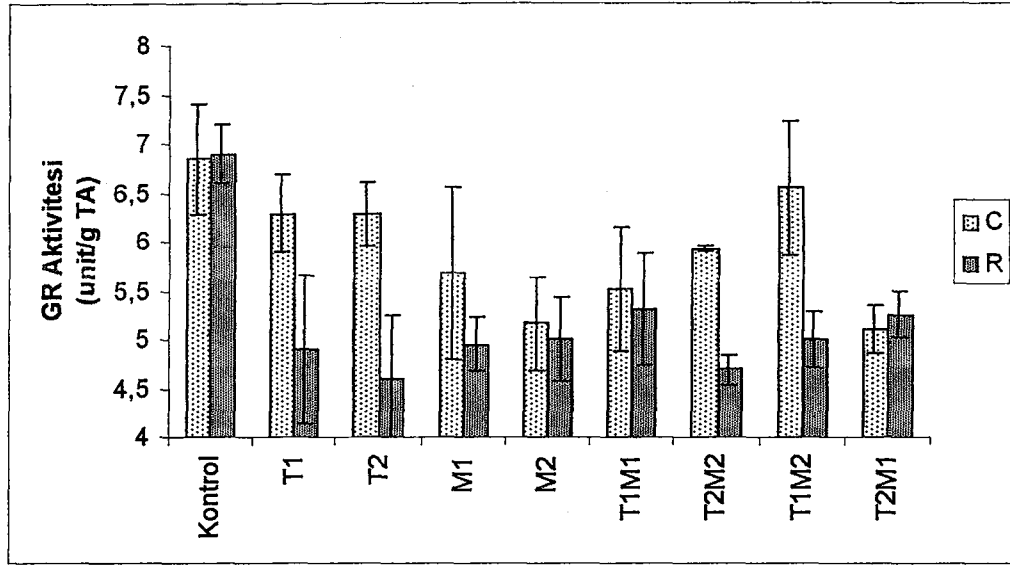


Şekil 4.2. *L. esculentum* var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un AP Aktivitesi (C: Cerasiforme, R: Rheinlands Ruhm).

Tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında da her iki varyetede AP aktivitesinde artış görülmüştür, bu artışın *L. esculentum* var. cerasiforme'de *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'a göre daha belirgin olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2). Tuz uygulamalarının AP aktivitesi üzerine etkisi bakımından varyeteler arasındaki farklar önemsiz bulunurken, Cd²⁺ (p<0,01) ve tuz+Cd²⁺ (p<0,001) uygulamalarında varyeteler arasındaki farklar önemli bulunmuştur (Çizelge 4.10).

4.1.5.3. GR Aktivitesi

GR aktivitesi bakımından *L. esculentum* var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001, Çizelge 4.11). Her iki varyetede tuz (p<0,05), Cd²⁺ (p<0,001) ve tuz+Cd²⁺ (p<0,001) uygulamalarının GR aktivitesi üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. GR aktivitesi her iki varyetede bütün uygulama gruplarında azalma tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bu azalma *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da oldukça belirgindir. Tuza toleranslı olmayan varyetede özellikle T₂ uygulamasında kontrol grubuna göre oldukça belirgin bir azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. *L. esculentum* var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un GR Aktivitesi (C: Cerasiforme, R: Rheinlands Ruhm).

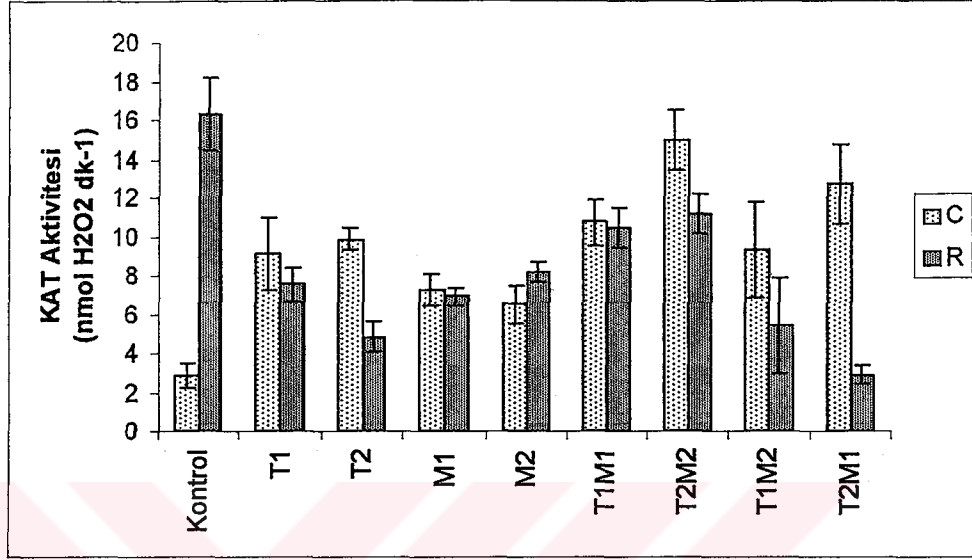
L. esculentum var. cerasiforme'de GR aktivitesindeki en belirgin azalma Cd^{2+} uygulamasında görülmüştür. En düşük GR aktivitesi M_2 uygulamasında belirlenmiştir. Tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında ise GR aktivitesi özellikle T_2M_1 kombinasyonunda belirgin bir şekilde azalmıştır. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da ise tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarındaki en düşük aktivite T_2M_2 kombinasyonunda bulunmuştur (Şekil 4.3).

Tuz ve Cd^{2+} uygulamalarının GR aktivitesi üzerine etkisi bakımından varyeteler arası farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarının GR aktivitesi üzerine etkisi bakımından varyeteler arası farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$, Çizelge 4.11).

4.1.5.4. KAT Aktivitesi

KAT aktivitesi bakımından varyeteler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$, Çizelge 4.12). Her iki varyetede de tuz ($p < 0,05$), tuz+ Cd^{2+} ($p < 0,001$) uygulamalarının KAT aktivitesi üzerine etkisi önemli bulunurken, Cd^{2+} uygulamasının etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. *L. esculentum* var. cerasiforme'de bütün uygulama gruplarında KAT aktivitesinde kontrollere göre

belirgin şekilde artma görülmüştür, bu artış tuz ve tuz+ Cd²⁺ uygulamalarında çok daha belirgin şekilde olduğu tespit edilmiştir. *L. esculentum* var. cerasiforme'de maksimum KAT aktivitesi T₂M₂ kombinasyonunda bulunmuştur (Şekil 4.4).



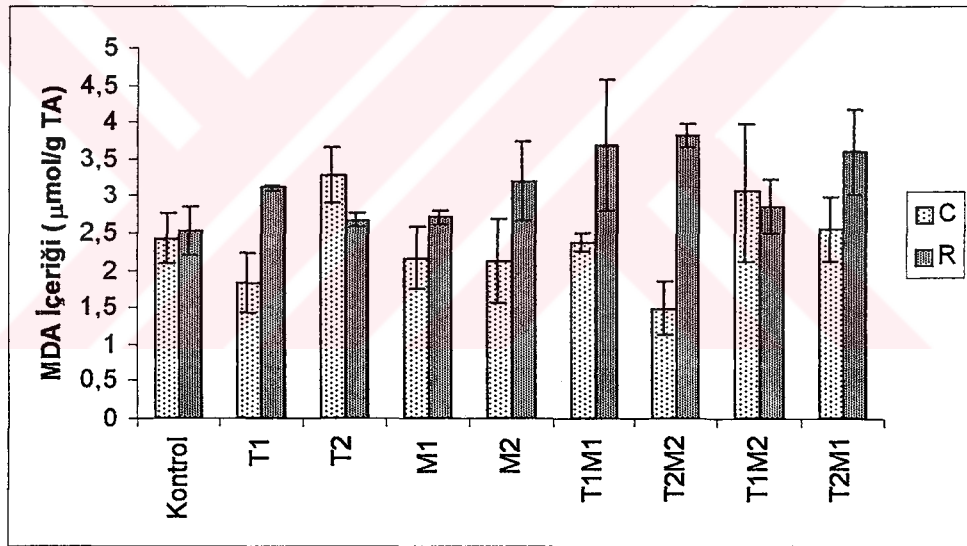
Şekil 4.4. *L. esculentum* var. cerasiforme ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un KAT Aktivitesi (C: Cerasiforme, R: Rheinlands Ruhm).

L. esculentum cv. Rheinlands Ruhm'da bütün uygulama gruplarında KAT aktivitesi kontrollere göre belirgin şekilde azalmıştır. Özellikle T₂ uygulaması, KAT aktivitesini belirgin şekilde inhibe etmiştir. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da tuz+ Cd²⁺ kombinasyonlarında KAT aktivitesindeki en belirgin azalma özellikle T₂M₁ uygulamasında gözlenmiştir (Şekil 4.4).

Tuz, Cd²⁺ ve tuz+Cd²⁺ uygulamalarının KAT aktivitesi üzerine etkisi bakımından varyeteler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001, Çizelge 4.12). Cerasiforme ve Rheinlands Ruhm arasında KAT aktivitesi bakımından farklar karşılaştırıldığında, Cerasiforme'de KAT aktivitesinin kendi kontrol grubuna göre tuz, Cd²⁺ ve tuz+Cd²⁺ uygulamaları ile belirgin şekilde arttığı, Rheinlands Ruhm'da ise azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.4).

4.1.6. Lipid Peroksidasyonu

L. esculentum var. *cerasiforme* ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm arasında MDA içeriği bakımından farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$, Çizelge 4.14). Tuz ($p<0,001$), Cd^{2+} ($p<0,05$) ve tuz+ Cd^{2+} ($p<0,001$) uygulamalarının MDA içeriği üzerine etkileri her iki varyetede de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. *L. esculentum* var. *cerasiforme*'de T_1 uygulaması MDA içeriğinin belirgin bir şekilde azalmasına neden olurken, *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da arttığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, T_2 uygulaması MDA içeriğinin *L. esculentum* var. *cerasiforme*'de artmasına yol açarken, *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da kontrol grubuna göre herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. *L. esculentum* var. *cerasiforme* ve *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un MDA İçeriği (C: Cerasiforme, R: Rheinlands Ruhm).

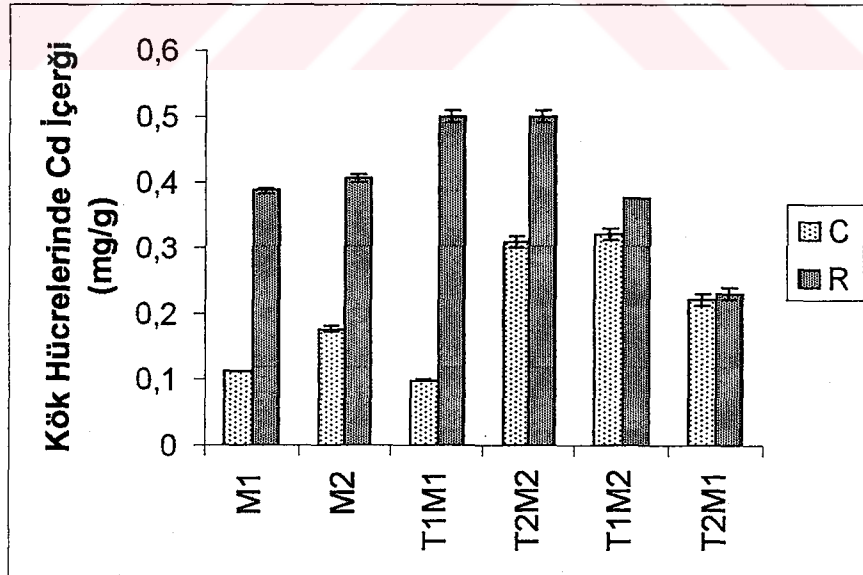
Cd^{2+} uygulamaları *L. esculentum* var. *cerasiforme*'de MDA içeriğinin azalmasına neden olmuştur. Bununla beraber, *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da hem Cd^{2+} konsantrasyonu arttığında hem de tuz+ Cd^{2+} kombinasyonunun bütün uygulama gruplarında MDA içeriğinin belirgin şekilde arttığı görülmüştür. *L. esculentum* var. *cerasiforme*'de tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında T_2M_2

uygulamalarında MDA içeriğinin belirgin bir şekilde inhibe olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.5).

Varyeteler arasında tuz uygulamalarının MDA içeriği üzerine etkisi bakımından farklar önemsiz bulunurken, Cd^{2+} ve tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında varyeteler arasındaki farklar önemli ($p<0,001$) bulunmuştur (Çizelge 4.13).

4.1.7. Köklerdeki Cd^{2+} İçeriği

Kök hücrelerindeki Cd^{2+} içeriği bakımından varyeteler arası farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,001$, Çizelge 4.14). Her iki varyetenin kontrol grubunun köklerinde $0.0001 \text{ mg.g}^{-1} \text{ Cd}^{2+}$ ölçülmüştür. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da Cd^{2+} içeriğinin *L. esculentum* var. cerasiforme'nin yaklaşık 3 katı olduğu tespit edilmiştir. *L. esculentum* var. cerasiforme'de Cd^{2+} konsantrasyonunun artması köklerle alınan Cd^{2+} 'un artmasına neden olurken, *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da konsantrasyona bağlı olarak değişiklik göstermemiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *L. esculentum* var. cerasiforme ve cv. Rheilands Ruhm'un Kök Hücrelerinde Cd^{2+} İçeriği (C: Cerasiforme, R: Rheinlands Ruhm).

Tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında *L. esculentum* var. cerasiforme'de T₁M₁ uygulaması hariç diğer uygulama gruplarında kök hücrelerindeki Cd²⁺ içeriği artış göstermiştir. *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'da ise tuz konsantrasyonlarındaki artışla birlikte Cd²⁺ konsantrasyonunun da artması Cd²⁺ alımını artırırken, T₂M₁ uygulamasında belirgin bir şekilde azaltmıştır. Cd²⁺ ve tuz+Cd²⁺ uygulamalarının kök hücrelerindeki Cd²⁺ içeriği üzerine etkisi bakımından varyeteler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0,001, Çizelge 4.14).



4.2.TARTIŞMA

4.2.1. Kök ve Gövde Büyümesi

4.2.1.1. Kök Büyümesi

Literatür bilgilerine göre tuz stresi, köklerin büyümesinde; morfolojisinde ve fizyolojisinde değişiklikler meydana getirmektedir [1]. Houle ve ark. [28] tuz stresinin kök uzunluğunu baskıladığını bildirmiştir. Çalışmamızda Cerasiforme ve Rheinlands Ruhm'da tuz uygulaması ve tuz konsantrasyonunun artmasıyla kök uzunluğunda azalma olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16). Aynı şekilde De Herralde ve ark. [22], *Argyranthemum coronopifolium* bitkisinde kök ağırlığının 140 mM NaCl uygulamasıyla % 25 oranında indirgendini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Jia ve ark. [24], *Zea mays* bitkisinde tuz stresi ile kök ağırlığının kontrollere göre belirgin şekilde azaldığını vurgulamışlardır.

Tuzlu alanlarda yaşayan bitkiler toprak iyi sulanmış olsa bile su stresine maruz kalırlar. Bu nedenle tuz stresinde meydana gelen belirtiler benzer şekilde su stresinde de ortaya çıkar [12]. Fakat tuz stresinde meydana gelen kök uzunluğunun baskılanması kuraklık stresinde meydana gelmemektedir. Younis ve ark. [62] *Sorghum bicolor* L. bitkisinin 3 farklı genotipini kuraklık stresine maruz bıraktıklarında 3 genotipin kök uzunluğunun kuraklık stresinde kök uzunluğunun arttığını belirtmişlerdir.

Literatür bilgilerine göre, ağır metal stresi kök uzunluğunda değişiklikler meydana getirmektedir. Kök uzunluğunun inhibisyonu Cd^{2+} toksisitesinde en hassas parametre olduğu bildirilmektedir [39]. Vitoria ve ark. [57] ve Schat ve ark. [63] $CdCl_2$ uygulaması ile kök uzunluğunun azaldığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda da $CdCl_2$ stresinin kök uzunluğunu inhibe ettiği ve bu inhibisyonun konsantrasyona bağlı olarak arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16). Benzer sonuçlar *Pisum sativum*'un kök ağırlığının dolayısıyla kök büyümesinin Cd^{2+} konsantrasyonunun artması ile azaldığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [33].

Başka bir çalışmada *Raphanus sativus* L. bitkisine 5 µM CuSO₄ uygulaması kök uzunluğunu kontrol bitkilere göre % 59, 10 µM CuSO₄ ise % 70 oranında azalttığı belirtilmiştir [9]. Çalışmamızda da Cerasiforme ve Rheinlands Ruhm'da Cd²⁺ konsantrasyonunun artışına bağlı olarak kök uzunluğunun yaklaşık % 50 oranında azaldığı belirlenmiştir.

Keleş [54], *Triticum aestivum* ve *T. durum* bitkilerini normal (24/16 °C), düşük (5/-5 °C) ve yüksek sıcaklık (40/30 °C) koşullarında; su basması, kuraklık ve tuzluluk (% 0.7 NaCl) streslerinin etkisinde bırakmıştır. Tuz uygulaması ile birlikte yüksek ve düşük sıcaklığın kök uzunluğunun azalmasına neden olduğu belirtilmiştir. Stres kombinasyonu çalışmalarına ek olarak *Triticum aestivum* bitkisinin 2 farklı varyetesi ile sıcaklık ve ağır metal (Cd²⁺ ve Pb²⁺) stresi çalışılmıştır [64]. Düşük ve yüksek sıcaklıkta köklerin uzunluklarının kontrollere göre azaldığı belirlenmiştir. Kurşun (Pb²⁺) uygulamasının kök uzunluğu üzerine önemli etkisinin olmadığı saptanmıştır. Buna karşılık yüksek konsantrasyonlardaki Cd²⁺'un kök büyümesini kontrollere göre belirgin şekilde inhibe ettiği belirtilmiştir. Kök uzunluğundaki en fazla azalma 250 mg l⁻¹ Cd²⁺ uygulaması ve yüksek sıcaklıkta gerçekleştiği belirtilmiştir. Öncel ve ark. [64]'in çalışmasındaki sonuçlar bu tez çalışmasındaki sonuçlara paralellik göstermektedir.

Guo ve ark. [65] *Hordeum vulgare* L. bitkisinin Alüminyuma (Al³⁺) nispeten toleranslı ve duyarlı genotiplerine Al³⁺, Cd²⁺, Al³⁺+ Cd²⁺ streslerini birlikte uygulamışlardır. Al³⁺+ Cd²⁺ stres kombinasyonunda kök uzunluğu, kök ağırlığı diğer stres uygulamalarına göre daha belirgin şekilde inhibe olmuştur. Bu azalmanın Al³⁺'a duyarlı olan genotipte daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. İkili stres koşulu olarak bu tez çalışmasında tuz+ Cd²⁺ uygulamalarının *L. esculentum* bitkisinin kök uzunluğunu baskıladığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda ikili stres koşullarında her iki domates bitkisinde de kök uzunluğunun kontrol grubuna göre azaldığı ve özellikle Rheinlands Ruhm'da tuz konsantrasyonunun artması Cd²⁺'un inhibisyon etkisini belirgin şekilde artırdığı görülmüştür (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16).

4.2.1.2. Gövde Büyümesi

Literatür bilgilerine göre tuz stresi, gövdenin büyümesinde; morfolojisinde ve fizyolojisinde değişiklikler meydana getirmektedir [1]. Bulgularımıza göre tuz stresinin gövde uzunluğunu baskıladığı belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla gövde uzunluğunun daha fazla azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16).

Romero-Aranda ve ark. [2] *L. esculentum*'un bazı genotipleriyle yaptıkları çalışmada, gövde uzunluğunun tuz stresi ile azaldığını belirtmişlerdir. Tuz konsantrasyonu 35 mM'dan 70 mM'a artınca bitki boyundaki azalmanın daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızda tuza toleranslı olmayan Rheinlands Ruhm ve tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'de tuz konsantrasyonu arttıkça gövde uzaması inhibe olmuştur. Bu sonuçlar diğer araştırmacıların çalışmalarını destekler niteliktedir. Örneğin; Mäkelä ve ark. [29] *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm'un gövde ağırlığının tuz uygulamasıyla azaldığını bulmuşlardır. De Herralde ve ark. [22] *Argyranthemum coronopifolium* bitkisini 15 gün 140 mM NaCl stresine maruz bıraktıklarında gövde ağırlığının kontrol grubuna göre azaldığını tespit etmişlerdir. Santa-Cruz ve ark. [32] *L. esculentum*'un iki farklı genotipine 0, 50, 100 mM NaCl uygulamışlardır. Gövde ağırlığının tuz stresi ile indirgenliğini belirtmişlerdir.

Tuz stresinden farklı olarak Younis ve ark. [62], *Sorghum bicolor* L. bitkisinin 3 genotipini kuraklık stresine maruz bırakmışlardır. Kuraklık stresinde kuraklığa toleranslılık dereceleri birbirinden farklı olan 3 genotipin gövde uzunlukları incelendiğinde kuraklık stresinin gövde uzunluğunu azalttığını belirtmişlerdir.

Capsicum annuum L. bitkisinin farklı genotiplerine CdCl₂ uygulandığında Cd²⁺'un büyümeyi baskıladığı belirtilmiştir [35]. Bazı araştırmacılar tarafından Cd²⁺ gibi Cu stresi de uygulanmıştır. *Raphanus sativus* L. bitkisine CuSO₄ uygulanıp, bitkilerin gövde uzunlukları ölçüldüğünde gövde uzunluğunun kontrol bitkilere göre

azaldığı, fakat bu azalmanın kök uzunluğundaki inhibisyondan daha az olduğu belirlenmiştir [9]. Çalışmamız bu sonuçlara paralellik göstermektedir.

Literatür bilgilerine göre ikili stres olarak genellikle tuz veya kuraklık stresi ile birlikte sıcaklık ve ışık stresleri çalışılmıştır [54, 64]. Keleş [54] tuzlu topraklarda yüksek ve düşük sıcaklığın gövde uzunluğunun azalmasına neden olduğunu belirtmiştir. *Triticum aestivum* L. bitkisinin 2 farklı varyetesi ile sıcaklık ve ağır metal (Cd^{2+} ve Pb^{2+}) stresi çalışıldığında Pb uygulamasının gövde uzunluğu üzerine önemli etkisinin olmadığını vurgulamışlardır. Fakat yüksek konsantrasyonlardaki Cd^{2+} 'un sıcaklık artışına bağlı olarak gövde büyümesini kontrollere göre belirgin şekilde inhibe ettiği belirtilmiştir [64].

Guo ve ark. [65] *Hordeum vulgare* L. bitkisinin alüminyuma (Al^{3+}) nispeten toleranslı ve duyarlı genotiplerine Al^{3+} , Cd^{2+} , $Al^{3+} + Cd^{2+}$ streslerini birlikte uyguladıklarında $Al^{3+} + Cd^{2+}$ stres kombinasyonunda Al^{3+} 'a duyarlı olan genotipin gövde uzunluğunun, gövde ağırlığının inhibisyonu diğer genotipe ve diğer stres faktörlerine göre daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda da ikili streste tuz konsantrasyonunun artması gövde uzamasını inhibe etmiştir, Rheinlands Ruhm'da genel olarak Cd^{2+} 'un gövde uzamasını tuz ile birlikte daha fazla inhibe ettiği görülmektedir (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16).

4.2.2. Oransal Su İçeriği (OSİ)

Topraktaki tuzluluk bitkilerin su dengesinde değişikliklere neden olmaktadır. Hernandez ve Almansa [20], *Pisum sativum* L. bitkisine 70 mM NaCl uyguladıklarında yaprak su içeriğinin uygulamanın 48. saatinden sonra oldukça azaldığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Mäkelä ve ark. [29] *L. esculentum* cv. Rheinlands Ruhm tuz stresinde oransal su içeriğinin tuz uygulamasıyla azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda ise Rheinlands Ruhm'da T_1 uygulaması OSİ'ni azaltmasına karşılık, tuz konsantrasyonunun artmasının OSİ'ni değiştirmedığı gözlenmiştir.

Yürekli ve ark. [66] *L. esculentum* (Mill) ve tuza nispeten toleranslı olan *L. pennellii* (Correll) ile yaptığı çalışmada tuz stresinde *L. esculentum*'un OSI azalırken, tuza toleranslı olan *L. pennellii*'de belirgin şekilde değişmediği belirtilmiştir. Çalışmamızda benzer şekilde tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'de tuz stresi OSI'ni, Rheinlands Ruhm'a göre daha az etkilemiştir.

Tuz stresinden farklı olarak normal koşullarda % 88.5 su içeriğine sahip bezelye bitkilerinde kuraklık stresi ile su içeriğinin % 81.3'e indiği ve bu durumun fotosentez ve transpirasyonun azalması gibi önemli metabolik değişikliklere neden olabileceği bildirilmiştir [67].

Çalışmamızda tuz stresinde olduğu gibi Cd^{2+} stresinde de Cerasiforme'nin oransal su içeriği korunurken, Rheinlands Ruhm'da özellikle metal konsantrasyonunun artması OSI'nin azalmasına neden olmuştur.

İkili stres koşulu olarak yüksek sıcaklıkta tuz stresinin *Triticum aestivum* ve *T. durum* bitkilerinde OSI'nin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir [54]. Çalışmaların aksine tuz+ Cd^{2+} uygulamalarında Cerasiforme'de ve Rheinlands Ruhm'da OSI büyük ölçüde değişme göstermemiştir (Çizelge 4.15, Çizelge 4.16).

4.2.3. Pigment İçerikleri

4.2.3.1. Klorofil İçeriği

Tuz uygulamaları tuza nispeten toleranslı olan *L. esculentum* var. cerasiforme'nin klorofil a ve toplam klorofil içeriklerinde tuz uygulamasıyla artış meydana gelirken, tuza toleranslı olmayan Rheinlands Ruhm'da tuz stresi ile belirgin şekilde azalma görülmüştür. Rheinlands Ruhm'da klorofil içeriğinin azalması fotosentez sırasında kloroplastlarda oluşan aktif oksijen türlerinin yeterince detoksifiye edilemediğini ve dolayısıyla bu aktif oksijen türlerinin klorofillerin parçalanmasına ya da sentezlerinin inhibisyonuna neden olduğunu belirten çalışmalarla [33, 68] desteklenmektedir. Çalışmamıza paralel olarak Mittova ve ark.

[45], tuza toleranslı olan *L. pennellii*'nin kontrol grubunun toplam klorofil içeriği tuza toleranslı olmayan *L. esculentum*'a göre daha fazla olduğunu ve tuza toleranslı olmayan türde tuz stresine bağlı olarak azalma gösterdiğini bulmuşlardır.

Aynı şekilde De Herralde ve ark. [22] *Argyranthemum coronopifolium* ile yaptığı çalışmada tuz stresinin toplam klorofil içeriğini azalttığını gösteren çalışma ile uygunluk göstermektedir. Romero-Aranda ve ark. [2] ise *L. esculentum*'un genotipleriyle yaptığı çalışmada tuz uygulanması ile bitki büyümesinin baskılandığını bununla birlikte m²'ye düşen toplam klorofil içeriğinin arttığını belirtmişlerdir. Younis ve ark. [62] ise *Sorghum bicolor* bitkisinin 3 genotipinde klorofil a ve klorofil b içeriklerinin kuraklık stresi ile azaldığını bildirmişlerdir.

Wu ve ark. [69], *Hordeum vulgare* L. bitkisinde yaptıkları çalışmada Cd²⁺'a en fazla duyarlı olan genotipte en düşük klorofil içeriği ölçülmüştür. Bu araştırmacıların sonuçlarına dayanarak tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'nin toplam klorofil içeriği açısından Cd²⁺'a Rheinlands Ruhm'dan daha duyarlı olabileceği akla gelmektedir. Ayrıca Rheinlands Ruhm'un köklerinde Cerasiforme'den daha fazla Cd²⁺ biriktirildiğinin belirlenmesi, Cd²⁺'a toleranslı bitkilerin daha fazla Cd²⁺ biriktirdiğini gösteren Schat ve ark. [63]'in çalışmasını destekler niteliktedir.

Literatür bilgilerine göre, Cd²⁺'un bitkilerde klorofil içeriğini azalttığı veya değiştirmedikini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Çalışmamızdaki bulgularımıza uygun olarak Sandalio ve ark. [33] *Pisum sativum*'da CdCl₂ uygulamasının toplam klorofil içeriğini azalttığını tespit etmişlerdir. Wu ve ark. [69] ise 0.1 µM CdCl₂'un toplam klorofil içeriğini değiştirmedikini ancak konsantrasyonun 1 µM'a çıkarılmasının klorofil içeriğini azalttığını bildirmişlerdir. Buna karşılık çalışmamızda her iki domates bitkisinde de Cd²⁺ konsantrasyonunun artması klorofil içeriğinin aynı şekilde azalmasına neden olmuştur. Cd²⁺ stresi gibi Tewari ve ark. [70] *Phaseolus aureus* bitkisinde 100 µM ve üzerindeki kobalt uygulamasının toplam klorofil içeriğini azalttığını ve bunun bitki büyümesindeki azalma ile ilişkili olduğunu belirtilmişlerdir. Aynı çalışmada klorofil a/b miktarında

yüksek konsantrasyonda (400 μM CoSO_4) azalma olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda ise Cerasiforme'de M_1 uygulamasında klorofil a/b miktarında kontrol grubuna göre belirgin bir azalma tespit edilmiştir (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18).

Stres kombinasyonu çalışmalarında Cd^{2+} ile birlikte düşük sıcaklık stresi uygulamasının *Triticum aestivum* bitkisinin toplam klorofil içeriğini % 50 ve % 70 oranında azalttığı ve Cd^{2+} ile birlikte yüksek sıcaklık uygulamasının toplam klorofil içeriğini % 35 ve % 30 oranında azalttığı belirtilmiştir [64]. Literatür bilgimize göre tuz+ Cd^{2+} kombinasyonu çalışmalarına rastlanmamıştır. Ancak çalışmamızda Cerasiforme'de Cd^{2+} stresine bağlı olarak toplam klorofil içeriğinin azaldığı, tuz konsantrasyonundaki artış Cd^{2+} stresinin etkisini azalttığı görülmüştür. Tuz iyonları, Cd^{2+} alımını artırmış ve alınan Cd^{2+} iyonlarının fotosentetik organlara taşınımını inhibe etmiş olabilir.

4.2.3.2. Toplam Karotenoid İçeriği

Karotenoidler ışığı toplayıcı pigmentlerdir ve stres koşullarında fotosentetik aygıtları koruyucu işlevleri vardır [71]. Ayrıca, fotosentetik sistemlerde karotenoidler (β -karoten ve ksantofiller) önemli antioksidant etkiye sahiptirler [50, 51]. Çalışmamızda Cerasiforme'de T_1 uygulaması toplam karotenoid içeriğini azaltırken, T_2 uygulaması artırmıştır. Buna karşılık Rheinlands Ruhm'da tuz konsantrasyonunun artması toplam karotenoid içeriğini belirgin bir şekilde azaltmıştır (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18). Bu bulgular bize Cerasiforme'nin yüksek tuz konsantrasyonunda oluşan radikallerin etkisini azaltmak için antioksidant olan karotenoid içeriğini artırabildiğini göstermektedir. Bu bulgu karotenoidlerin, klorofil moleküllerini koruyucu rol oynadıklarını destekler niteliktedir.

Karotenoidler kloroplastlardaki anten komplekslerinde oluşan triplet klorofilin ortadan kaldırılmasında etkili olduğu ve karotenoidlerdeki azalmanın tilakoidlerde meydana gelen singlet oksijen miktarındaki artışla ilişkili olabileceğini bildiren çalışmalar [72], Rheinlands Ruhm'da görülen tuza bağlı karotenoid içeriğindeki azalmayı açıklayabilir. Tilakoidlerde fotosentez sırasında singlet oksijen

miktarının artması, β -karotenin parçalanmasına yol açabilir. Aynı zamanda stres sırasında (kuraklık, tuz) klorofillerdeki kadar karotenoid içeriği de azalma gösterebilir [72]. Bu bilgiyi destekleyen ışık stresi uygulanan bir çalışmada, yüksek ışık stresine maruz kalan *Triticum aestivum* bitkisinin karotenoid içeriği kontrollerden % 40 oranında azaldığı belirtilmiştir [14].

Tuz stresinden farklı olarak Bartoli ark. [73], *Triticum aestivum* bitkisine 1 gün boyunca kuraklık stresi uygulamışlardır. Kuraklık stresi ile β -karoten miktarı kontrol grubunun 2.4 katı kadar yükselmiştir. Buna zıt olarak Younis ve ark. [62], *Sorghum bicolor* bitkisinin 3 genotipini kuraklık stresine maruz bırakmışlardır. Kuraklık stresinde 3 genotipin karotenoid içeriğinin çok fazla etkilenmediği belirtilmiştir.

Ayrıca literatür bilgilerine göre karotenoidlerin fotosentetik membranın devamlılığı ve korunması için önemli olduğu bildirilmektedir [72]. Tuz konsantrasyonunun artması ile Rheinlands Ruhm'da karotenoid içeriğinin belirgin bir azalma göstermesi ve MDA konsantrasyonunun artması membranlarda lipid peroksidasyonunun olduğunu göstererek literatür bilgisini desteklemektedir.

Bulgularımıza göre hem Cerasiforme'de hem de Rheinlands Ruhm'da Cd^{2+} stresinin toplam karotenoid içeriğini artırdığı tespit edilmiştir. Özellikle yüksek konsantrasyon $CdCl_2$ uygulaması toplam karotenoid içeriğini kontrol gruplarına göre artırmıştır. Tuz+ Cd^{2+} uygulamaları toplam karotenoid içeriğini Cerasiforme'de kontrol grubuna göre artırırken, Rheinlands Ruhm'da azaltmıştır (Çizelge 4.17, Çizelge 4.18). Tuz+ Cd^{2+} uygulamalarında Rheinlands Ruhm'daki bu azalma yukarıdaki bilgiler ışığında tuz stresinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.2.4. Antioksidant Enzimler

4.2.4 1. SOD Aktivitesi

Tuz stresinin SOD aktivitesini indüklediğini savunan Hernandez ve Almansa [20] *Pisum sativum* L. bitkisinde tuz stresiyle SOD aktivitesinin belli bir zamandan

sonra arttığını bulmuşlardır. Mittova ve ark. [45], *Lycopersicon esculentum* (Lem) ve tuza toleranslı olan *L. pennelli* (Lpa)'ya tuz stresi uyguladığında süperoksit radikallerinin ortadan kaldırılmasından sorumlu olan SOD enzim aktivitesinin tuza toleranslı olan türde diğer türe göre daha fazla olduğunu vurgulamışlardır. Shalata ve ark. [44] aynı bitkilerle yaptığı çalışmada Lem'de tuz stresiyle SOD aktivitesinde biraz azalma olduğunu, Lpa'da ise belirgin bir artışın olduğunu bildirmişlerdir. Mittova ve ark. [45] ve Shalata ve ark. [44] tuz toleranslılığına cevap olarak antioksidant enzim aktivitelerinin arttığını belirtmişlerdir.

Benzer şekilde Bor ve ark. [18] *Beta vulgaris* L. ve tuza nispeten toleranslı *B. maritima*'ya tuz stresi uyguladıklarında her iki türde de artışın olduğunu ve *B. maritima*'da bu artışın daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Bu bilgilere paralel olarak Dionisio-Sese ve Tobita [4] *Oryza sativa* L. bitkisinin tuza toleranslı ve tuza duyarlı olan varyetelerinde tuz uygulamasıyla SOD aktivitesinin arttığını, fakat tuz konsantrasyonunun artmasıyla tuza duyarlı olan varyetenin SOD aktivitesinde azalma, tuza toleranslı olan varyetede ise biraz artma olduğunu vurgulamışlardır.

Çalışmamızda ise Cerasiforme'deki SOD aktivitesi Rheinlands Ruhm' a göre daha yüksek olmasına rağmen, her iki bitki arasında tuz, Cd²⁺ ve tuz+ Cd²⁺ gibi stres koşullarında SOD aktivitesinde kontrol grubuna göre çok belirgin farklılıklar elde edilmemiştir. Cerasiforme ve Rheinlands Ruhm'da görülen belirgin artış ve azalmaların olmaması Dionisio-Sese ve Tobita [4]'nın da belirttiği gibi hücrelerde biriktirilen Na⁺ iyonlarının SOD aktivitesini tuzun direkt olarak in vivo katalizini inhibe ettiği ya da bu enzimin tuz stresi ile sentezinin değişmesinden kaynaklanabilir. Ayrıca hücrelerde meydana gelecek olan aktif oksijen türlerinin sebep olduğu hasarların diğer enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif sistemlerle bertaraf edilebileceğini akla getirmektedir. Bulgularımızdan tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'de özellikle diğer antioksidant enzimler olan AP ve KAT aktivitelerindeki artış bu fikri destekler niteliktedir.

Bununla beraber Bartoli ve ark. [73] *Triticum aestivum* bitkisinde kuraklık ve kuraklıktan sonra uygulanan su stresinin SOD aktivitesini çok fazla etkilemediğini ve

enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantların radikallerin meydana getirdiği hasarı yeterince önleyemediğini vurgulamışlardır.

Cd^{2+} 'un SOD aktivitesi üzerine etkisini gösteren çalışmalar, SOD aktivitesinin Cd^{2+} ile indüklendiğini belirtmişlerdir [38, 57, 74]. Çalışmamızda ise her iki bitkide de M_1 uygulaması SOD aktivitesini kontrol gruplarına göre çok fazla değiştirmezken, M_2 uygulaması SOD aktivitesinin az da olsa azalmasına neden olmuştur. Bu sonuçlar bize yüksek konsantrasyondaki Cd^{2+} 'un SOD aktivitesini baskılayabileceğini göstermektedir.

Cd^{2+} 'a dayanıklı ve dayanıklı olmayan türlerde yapılan bir çalışmada ise, *Hordeum vulgare*'nin Cd^{2+} 'a nispeten toleranslı genotipinin SOD aktivitesinin zamana bağlı olarak, nispeten duyarlı genotipine göre Cd^{2+} varlığında daha fazla olduğu bildirilmiştir [69]. Buna zıt olarak Leon ve ark. [35], Cd^{2+} 'a toleranslı olan *Capsicum annuum* L. bitkisinde Cd^{2+} varlığında SOD aktivitesinin azaldığı, fakat duyarlı olan genotipte arttığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında SOD aktivitesinde çok fazla değişiklik görülmemiştir. Fakat Rheinlands Ruhm'daki azalma biraz daha belirgindir. Özellikle Rheinlands Ruhm'da T_1M_2 uygulamasında kontrol grubuna göre belirgin bir inhibisyon görülmüştür (Şekil 4.1). Bu durum tuz+ Cd^{2+} kombinasyonunda SOD aktivitesindeki azalmanın daha çok tuzdan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak tuza nispeten toleranslı olan varyetenin ikili stres koşullarında tuza toleranslı olmayan varyeteye göre daha kolay adaptasyon sürecine girdiği düşünülebilir.

SOD aktivitesinde her iki bitkide meydana gelen değişimlerin Cu-Zn SOD izoenzimlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çünkü SOD izoenzimlerinin incelenmesinde Cu-Zn SOD aktivitesinde total SOD aktivitesine benzer şekilde değişimler görülmüştür. Sandalio ve ark. [33] Cd^{2+} uygulamasından en fazla Cu-Zn SOD'un sitozolik formunun, daha sonra kloroplastik formunun ve bunu takip ederek de Fe-SOD'nin etkilendiğini belirtmiştir. Cd^{2+} 'a en dayanıklı

izoenzimi mitokondrilerde ve peroksizomlarda depolanan Mn-SOD olarak belirlemiştir. Başka bir çalışmada Cd²⁺ stresinde Cu-Zn SOD ve Mn-SOD aktivitelerinin total SOD aktivitesinde etkili olduğu belirtilmiştir [57].

4.2.4.2. AP Aktivitesi

Bulgularımıza göre, Cerasiforme'de tuz ve CdCl₂ uygulamaları AP aktivitesinin kontrollere göre belirgin bir şekilde artmasına neden olmuştur. Rheinlands Ruhm'da ise tuz uygulamalarında Cerasiforme'deki kadar belirgin bir artış olmamıştır. AP kloroplastta, sitoplazma, mitokondri ve peroksizom membranlarında H₂O₂'nin ortadan kaldırılmasında rol oynadığı bilinmektedir [20, 49, 75]. AP'ın aynı zamanda organel membranlarında bulunduğunu ve buradaki H₂O₂'i membranlarda parçalayarak sitoplazmik H₂O₂ düzeyinin artmasını önleyerek gerek membranların gerekse hücrelerin bozulmasını önlediğini bildirilmektedir [49]. Bulgularımıza göre AP'ın tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'de tuza toleranslı olmayan Rheinlands Ruhm'a göre daha belirgin bir artış göstermesi literatür bilgilerimizi desteklemektedir.

Çalışmamıza paralel olarak Mittova ve ark. [45] *Lycopersicon esculentum* (Lem) ve tuza toleranslı olan *L. pennelli* (Lpa)'ye tuz stresi uyguladıklarında, Lpa'nın AP aktivitesinin Lem'e göre daha çok arttığını bulmuşlardır. Aynı şekilde Shalata ve ark. [44] tuza toleranslı olan *L. pennelli* (Lpa)'da tuz uygulaması sonucu AP aktivitesinde artış olduğunu, *L. esculentum* (Lem)'da ise zamanla azalma olduğunu bildirmişlerdir. Benzer olarak, Bor ve ark. [18] da tuz stresinde tuza toleranslı olan *Beta maritima*'daki AP aktivitesinin *B. vulgaris*'e göre daha fazla olduğunu ve H₂O₂'nin indirgenmesinin tuza toleranslı olan türde daha kolay olacağını vurgulamışlardır. Çalışmalarında tuza toleranslı olan türde AP aktivitesindeki artışa benzer şekilde KAT aktivitesinde de artış olduğunu ve H₂O₂'nin detoksifikasyonundan sorumlu olan AP ve KAT'ın *B. maritima*'da eşit düzeyde önemli olduğunu vurgulamışlardır. Bor ve ark. [18]'nin çalışmasına benzer olarak, çalışmamızdaki tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'de KAT aktivitesindeki artış ile AP aktivitesindeki artış birbirine benzemektedir. Dolayısıyla

kuvvetli bir oksidant olan H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda AP ve KAT'ın birlikte görev yaptıkları düşüncesini desteklemektedir. Bununla beraber tuza toleranslı olmayan Rheinlands Ruhm'da AP stres koşullarında artarken, KAT azalma gösterdiği için, H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda AP'ın KAT'a göre daha etkili olduğu düşünülmektedir.

Diğer stres uygulamalarının da bitkilerde AP aktivitesinin artmasına yol açtığı bildirilmektedir. Örneğin *Triticum aestivum* bitkisinde kuraklık stresinden sonra uygulanan sulamada AP aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığı bildirilmiştir [73]. Sato ve ark. [76] yaptığı çalışmada, *Oryza sativa* L. bitkisinin tohumlarının $42^{\circ}C$ 'de 24. saatte AP aktivitesinin kontrol grubuna göre oldukça arttığını bulmuşlardır. Su basması stresinin de AP aktivitesini artırdığına dair başka bir çalışma da bulunmaktadır [77].

Iannelli ve ark. [34] bitkilere giren Cd^{2+} 'un ($50 \mu M CdSO_4$) SOD aktivitesindeki gibi AP aktivitesinde de artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Buna paralel olarak Dixit ve ark. [38], *Pisum sativum* L. bitkisinde $Cd(NO_3)_2$ uygulaması ile AP aktivitesinin arttığını ve bu artışın $4 \mu M Cd(NO_3)_2$ uygulamasında $40 \mu M Cd(NO_3)_2$ uygulamasına göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir şekilde çalışmamızda Cerasiforme'de M_1 uygulaması AP aktivitesini yüksek konsantrasyondaki uygulamaya göre belirgin bir şekilde artırmıştır. Buna karşılık Rheinlands Ruhm'da bu kadar belirgin bir artış olmamış hatta Cd^{2+} konsantrasyonundaki artış AP aktivitesinin kontrol grubuna göre az da olsa azalmasına neden olmuştur (Şekil 4.2). Bununla beraber Cd^{2+} stresinin AP aktivitesini değiştirmedini ifade eden araştırmacılar da bulunmaktadır [74].

Çalışmamızda uyguladığımız tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında ise AP aktivitesi her iki bitkide de artış göstermiştir. Bu artış tek stres uygulamalarında olduğu gibi tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'de daha çok belirgin olduğu bulunmuştur. Bu veriler bize ikili stres koşullarında hücrelerde oluşacak olan H_2O_2 'in detoksifikasyonunda Cerasiforme'nin Rheinlands Ruhm'a göre daha başarılı olabileceği fikrini vermektedir.

4.2.4.3. GR Aktivitesi

Lycopersicon esculentum (Lem) ve tuza toleranslı olan *L. pennellii* (Lpa)'ye tuz stresi uygulandığında GR aktivitesinin tuza toleranslı olan türde kontrol grubuna göre biraz azaldığı, diğer türde ise değişmediği belirtilmiştir [44]. Aynı bitkilerle yapılan başka bir çalışmada tuz stresinde *L. esculentum*'da GR aktivitesinin zamana bağlı olarak değişmediği ve *L. pennellii*'de azaldığı belirtilmiştir [45]. Çalışmamızda her iki domates bitkisinde de tuz, Cd^{2+} ve tuz+ Cd^{2+} uygulamalarında GR aktivitesinde azalma olduğu ve bu azalmanın Rheinlands Ruhm'da daha belirgin olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3). Bu bulgulardan yola çıkarak H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda askorbat döngüsündeki enzimlerden GR'ın her iki türde de çok fazla etkili olmadığı düşünülmektedir. Her iki bitki karşılaştırıldığı zaman tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'deki GR aktivitesinin tuz, Cd^{2+} , tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında Rheinlands Ruhm'a göre daha yüksek olması ise Cerasiforme'nin stres sonucu oluşacak oksidantları daha kolay ortadan kaldıracak şekilde düşünülebilir.

Bununla beraber Bor ve ark. [18] GR aktivitesinin tuz stresi ile birlikte arttığını ve tuza toleranslı olan *Beta maritima*'nın GR aktivitesinin *B. vulgaris*'den daha yüksek olduğunu ve AP ve GR'ın askorbat glutasyon döngüsünde birlikte kuvvetli katalizör olarak görev aldıklarını bildirmiştir. Benzer olarak Hernandez ve Almansa [20] *Pisum sativum* bitkisinde GR aktivitesinin tuz stresi sırasında oldukça arttığını belirtmiştir.

Kuraklık ve sonrasında uygulanan su uygulaması [73], diğer stres faktörlerinden aşırı su stresinde GR aktivitesinin azaldığını [77] belirten çalışmalar da bulunmaktadır. Kuraklığa dayanıklı *Phaseolus vulgaris* bitkisinin kuraklığa dayanıklı tohumlarının GR aktivitesinin, kuraklığa dayanıklı olmayan tohumlarına göre yüksek olduğu belirtilmiştir [78].

Iannelli ve ark. [34] CdSO₄ uygulanan *Phragmites australis* bitkisinin yapraklarında GR aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Vitória ve ark. [57] GR aktivitesinin Cd²⁺'a maruz kalma zamanı ve CdCl₂ konsantrasyonuna bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Bu araştırmacılara paralel olarak GR aktivitesinin düşük Cd²⁺ konsantrasyonundaki uygulamada arttığı, konsantrasyonun artmasıyla GR aktivitesinin daha az artış gösterdiğini bildiren çalışma da bulunmaktadır [38]. Cd²⁺'a farklı toleransları olan bitkilerle yapılan çalışmada, Cd²⁺ stresine dirençli olan bitkilerde GR aktivitesinin kontrol grubuna göre arttığı belirtilmiştir [35].

Tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında ise her iki domates bitkisinde tuz ya da Cd²⁺'un ayrı etkilerine yakın değerlerde etki gösterip GR aktivitesinde inhibisyona neden olmuştur. Bulgularımızdan yola çıkarak ikili stres koşulunda da tuza nispeten toleranslı olan varyetenin diğer varyeteye göre daha kolay stresi tolere edebileceği düşünülmektedir.

4.2.4.5. KAT Aktivitesi

L. esculentum (Lem) ve tuza toleranslı olan *L. pennellii* (Lpa)'ye tuz stresi uygulandığında tuza toleranslı olmayan türde KAT aktivitesinin zamanla azaldığı, tuza toleranslı olan Lpa'da ise KAT aktivitesinin arttığı ve Lpa'nın KAT aktivitesinin artması ile antioksidant savunma sistemini daha kolay düzenleyebileceği belirtilmiştir [44]. Çalışmamızda bu sonuçlara benzer olarak tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'de hem tuz hem de Cd²⁺ uygulamaları KAT aktivitesinde artışa yol açmıştır, ancak Cerasiforme'nin kontrollerindeki KAT aktivitesi, Rheinlands Ruhm'dan daha düşük olarak bulunmuştur (Şekil 4.4). Bu bulgu bize tuz, Cd²⁺ ya da tuz+Cd²⁺ gibi stres koşullarında tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'nin antioksidatif savunma sisteminde KAT'ın etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca Cerasiforme'de H₂O₂'nin neden olduğu lipid peroksidasyonunun Rheinlands Ruhm'a göre daha düşük olması bu fikri kanıtlar niteliktedir.

Tuz stresiyle yapılan başka bir çalışmada da tuz uygulamalarıyla KAT aktivitesinin *Beta vulgaris*'de ve tuza toleranslı olan *B. maritima*'da arttığı, toleranslı olan türde bu artışın oldukça belirgin olduğu bulunmuştur. Bu bulgulara dayanılarak KAT'ın tuza toleranslı olan türde diğer türe göre detoksifikasyon basamaklarında daha etkili olduğu belirtilmiştir [18].

Sıcaklık [76], kuraklık ve kuraklık sonrası uygulanan su [73] streslerinde KAT aktivitelerine bakılmış ve kuraklık, su stresinde KAT aktivitesi fazla etkilenmezken, sıcaklık uygulamasında azaldığı tespit edilmiştir. Bunun tersi olarak su basmasında KAT aktivitesinin azaldığını gösteren çalışmalar da vardır [77].

Raphanus sativus L. bitkisinin kök ve yapraklarıyla yapılan bir çalışmada KAT aktivitesinin CdCl₂ uygulamasına bağlı olarak arttığı bildirilmiştir. Ayrıca Cd²⁺ konsantrasyonuna bağlı olarak KAT aktivitesinde artış olduğu bildirilmiştir [57]. Benzer sonuçlar Iannelli ve ark. [34] ve Wu ve ark. [69] tarafından da bildirilmiştir. Bununla beraber KAT aktivitesinin *Pisum sativum* bitkisinde Cd²⁺ konsantrasyonunun artmasıyla azaldığını gösteren bulgular da bulunmaktadır [33]. Benzer şekilde *Capsicum annuum*'un Cd²⁺ toleransları farklı olan varyetelerinde Cd²⁺ stresi ile tüm varyetelerde, KAT aktivitesinin kontrollere göre azaldığını tespit edilmiştir [35].

Keleş [54], *Triticum aestivum* ve *T. durum* bitkilerinde yüksek sıcaklıkla birlikte tuz stresinin KAT aktivitesini azalttığını ve sıcaklığın tuzun etkisini azaltmış olabileceğini vurgulamıştır. Çalışmamızda Cerasiforme'deki Cd²⁺ uygulaması, tuzun etkisini artırarak KAT aktivitesinin artmasına yol açmış olabileceği düşünülmektedir (Şekil 4.4).

4.2.5. Lipid Peroksidasyonu

Malondialdehit (MDA), stres koşullarında ya da doğal işlemler sonucunda hücrelerin doymamış yağ asitlerinin enzimatik parçalanması ve oksidasyonu sonucu oluşmaktadır [14]. MDA, membran lipidlerinin peroksidasyonunun son ürünü olarak

bilinmektedir. Bitkiler oksidatif strese maruz kaldıklarında MDA biriktirilir. Bu nedenle MDA içeriği, lipid peroksidasyonunun belirleyicisi olarak kabul edilmektedir [65]. Çalışmamızda tuz, Cd²⁺ ve tuz+Cd²⁺ uygulamalarındaki lipid peroksidasyonu tuza nispeten toleranslı olan Cerasiforme'de, tuza toleranslı olmayan Rheinlands Ruhm'a göre daha az olduğu belirlenmiştir. Özellikle tuz+Cd²⁺ kombinasyonlarında Rheinlands Ruhm'daki lipid peroksidasyonu Cerasiforme'dekine göre daha belirgindir (Şekil 4.5). Bu bulgular bize Cerasiforme'nin daha kuvvetli olan antioksidant savunma sisteminin lipid peroksidasyonunu daha kolay tolere edebileceğini göstermektedir.

Hernandez ve Almansa [20] *Pisum sativum* bitkisine 70 mM NaCl uyguladıklarında 8 saat sonra lipid peroksidasyonunun oldukça arttığını, fakat daha sonra azaldığını ve bu durumu stres koşuluna adaptasyon olarak belirtmişlerdir. Dionisio-Sese ve Tobita [4] *Oryza sativa* L. bitkisinin tuza karşı farklı toleranslara sahip varyetelerine tuz stresi uyguladıklarında tuza nispeten toleranslı varyetede ve tuza duyarlı olan varyetede lipid peroksidasyonunun arttığını, tuza toleransı yüksek olan varyetede değişmediğini belirtmişlerdir.

Bor ve ark. [18], *Beta vulgaris* L. genotipi ve tuza nispeten toleranslı olan *B. maritima*'ya tuz stresi uyguladıklarında lipid peroksidasyonunun tuza nispeten toleranslı olan türde diğer türe göre daha az olduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızdaki bulgular Bor ve ark. [18] ile uygunluk göstermektedir. Shalata ve ark. [44], *Lycopersicon esculentum* (Lem)'de tuz stresiyle lipid peroksidasyonunun arttığını, tuza toleranslı olan *L. pennellii* (Lpa)'de ise değişmediğini bildirmiştir.

Tuz stresinden farklı olarak Ramachandra ve ark. [79] *Morus alba* L. bitkisine kuraklık stresi uyguladıklarında MDA konsantrasyonunun arttığını ve bu olayın sonucunda membranlarda hasarın meydana geldiğini belirtmişlerdir.

Wu ve ark. [69], *Hordeum vulgare* L. bitkisinde Cd²⁺'un, Karabal ve ark. [60] *Holgarium vulgare* bitkisinde bor stresinin, Dixit ve ark. [38] *Pisum sativum* bitkisinde Cd (NO₃)₂ stresinin, Behera ve ark. [14] *Triticum aestivum* bitkisinde

yüksek ışık stresinin lipid peroksidasyonunu artırdığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda ise tuza toleranslı olmayan Rheinlands Ruhm'da Tuz+Cd²⁺ kombinasyonunun artmasıyla, lipid peroksidasyonu artarken, Cerasiforme'de her iki Cd²⁺ konsantrasyonunda da azalmıştır. Bu durum Rheinlands Ruhm'un kök hücreleri tarafından Cerasiforme'ye göre daha fazla alınan Cd²⁺ ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Guo ve ark. [65] *Hordeum vulgare* L. bitkisinin Alüminyuma (Al³⁺) nispeten toleranslı ve duyarlı genotiplerine Al³⁺, Cd²⁺, Al³⁺+ Cd²⁺ streslerini birlikte uyguladıklarında Al³⁺+ Cd²⁺ stres kombinasyonunda MDA içeriğinin diğer stres uygulamalarına göre daha belirgin şekilde arttığını belirtmişlerdir. Bu artışın Al'a duyarlı olan genotipte daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda ikili stres koşullarında diğer stres koşullarında olduğu gibi Rheinlands Ruhm'da lipid peroksidasyonu Cerasiforme'ye göre daha belirgin şekilde artmıştır. Bu durum tuza nispeten toleranslılığın, tuz+ Cd²⁺ stresinde de olumlu etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca Cerasiforme'de tuz toleranslılığın bir sonucu olarak Cd²⁺ alımının Rheinlands Ruhm'a göre aktif oksijen türlerinin daha az üretilebileceğinin sonucu olarak lipid peroksidasyonunun azalması meydana gelebilir.

4.2.6. Köklerdeki Cd²⁺ İçeriği

Cd²⁺ ile ilgili çalışmalarda köklerde yapraklara göre daha fazla Cd²⁺ biriktirildiği bulunmuştur [19, 34, 57, 63]. Cd²⁺'a farklı toleransları olan bitkilerde tolerant bitkinin köklerinde tolerant olmayana göre daha fazla Cd²⁺ biriktirildiği bulunmuştur [63]. Çalışmamızda tuza toleransları farklı olan bitkilere Cd²⁺ ve tuz+ Cd²⁺ uygulanmış, tuza toleranslı olmayan Rheinlands Ruhm'un köklerinde daha fazla Cd²⁺ biriktirdiği ancak tuz konsantrasyonunun artması Cd²⁺ alımını inhibe ettiği görülmüştür (Şekil 4.6).

Lycopersicon esculentum Mill. bitkisi ile yapılan bir çalışmada, domates bitkilerinde köklerin 5 µM Cd²⁺ uygulamasında % 90, 50 µM Cd²⁺ uygulamasında ise % 71 oranında Cd²⁺ depoladıkları belirtilmiştir [19]. Bu sonuçlar çalışmamızın

verileri ile ters düşmektedir. Çünkü Cerasiforme’de daha belirgin olmak üzere her iki bitkide de Cd^{2+} konsantrasyonunun artması ile Cd^{2+} alımını artmıştır. Cd^{2+} alımının artması ile Rheinlands Ruhm’daki lipid peroksidasyonunun yüksek olması birbiriyle ilişkili olabilir. Çünkü bu durumda Rheinlands Ruhm’un hücrelerinde Cd^{2+} ’un meydana getireceği oksidatif hasarın fazla olacağı düşünülmektedir.

İkili stres koşulunda ise tekli strete olduğu gibi Rheinlands Ruhm’un köklerindeki Cd^{2+} içeriği Cerasiforme’ye göre daha fazla olarak bulunmuştur. Bu bulgu bize tuz toleranslığının Cd^{2+} alımını engelleyebileceğini ve tuz+ Cd^{2+} kombinasyonunda topraktaki tuzun özellikle Cerasiforme’de Cd^{2+} alımını arttıracakını göstermektedir. Bununla beraber Rheinlands Ruhm’un kök hücrelerinde Cd^{2+} ’un daha fazla biriktirilmesi, daha sonra fitokelatin analizleri yapılarak fitoremediasyon için test edilebileceği düşünülmektedir.

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen sonuçları şöyle sıralayabiliriz;

- Bitkilerin maruz kaldıkları tuz stresinde kök uzunluğu, gövde uzunluğu gibi büyüme parametrelerinin tuza nispeten toleranslı varyete de dahil olmak üzere indirgenliği tespit edilmiştir. Bitkiler için oldukça toksik olan Cd^{2+} 'un bitkinin gelişimine olumsuz etki gösterdiği belirlenmiştir. İkili stres kombinasyonu olarak tuz ve Cd^{2+} 'un bir arada olması da bitki büyümesini olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir.
- Bitki gelişimi için oldukça kritik öneme sahip olan klorofil içeriğinin tuz stresinde tuza nispeten toleranslı olan varyetede biraz artma görülürken, tuza toleranslı olmayan varyetede azalma tespit edilmiştir. Cd^{2+} stresinde ise klorofil içeriğinin her iki bitkide de belirgin şekilde inhibe olduğu tespit edilmiştir. Cd^{2+} ve tuz kombinasyonlarına maruz kalan bitkilerde genel olarak benzer şekilde inhibisyonun gerçekleştiği görülmüştür.
- Bitkilerde antioksidant etkisi olan karotenoid içeriği genel olarak tuz, tuz+ Cd^{2+} streslerinde tuza nispeten toleranslı olan varyetede artarken, tuza toleranslı olmayan varyetede azalma tespit edilmiştir. Bununla beraber, her iki bitkide de Cd^{2+} stresi ile belirgin şekilde artış tespit edilmiştir.
- Tuz, Cd^{2+} ve tuz+ Cd^{2+} kombinasyonlarında tuza nispeten toleranslı olan varyetenin tuza toleranslı olmayan varyeteye göre antioksidant enzim aktiviteleri açısından daha avantajlı olduğu söylenebilir.
- Stres koşullarında meydana gelen ve hücre membranlarını hasara uğratan MDA içeriğinin tuz, Cd^{2+} , tuz+ Cd^{2+} streslerinde tuza toleranslı olmayan varyetede daha fazla olduğu belirlenmiştir. Hücre membranlarının geçirgenliğinin bozulması ise hücrelere kontrolsüz girebilecek iyonların içeriğinin artmasına neden olmaktadır. Tuza toleranslı olmayan varyetenin

kök hücrelerinde tespit edilen Cd^{2+} içeriğinin nispeten toleranslı varyeteninkine göre daha fazla olması bunun göstergesidir.

- Bitkilerin kök hücreleri tarafından absorblanan Cd^{2+} içeriğinin tuza toleranslı olmayan varyetede, tuza nispeten toleranslı olan varyeteye göre hem Cd^{2+} hem de tuz+ Cd^{2+} streslerinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir.



Çalışma ışığında ortaya çıkan öneriler şunlardır:

- Doğada sadece bir çeşit stres faktörü bulunmayacağından, çeşitli stres kombinasyonlarında bitkilerde meydana gelebilecek fizyolojik parametrelerin bilinmesi daha iyi ürün elde etmek için gerekmektedir.
- Stres koşullarında bitkilerin başlıca savunma mekanizması olan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant savunma sistemin çok iyi incelenmesi bitki ıslahı çalışmalarında daha etkili çözümlere ulaşılmasında yardımcı olacağı düşünülmektedir.
- Ağır metal kirliliğinin doğaya vermiş olduğu zararda bitkilerin oldukça etkilendiği bilindiğinden bu alanlarda yetiştirilen bitkilerden yetersiz verim alınacağı düşünülmektedir.
- Tuzlu alanlarda yetiştirilecek bitkilerin tuza toleranslılığının aynı zamanda Cd^{2+} stresine maruz kaldığında da nispeten bir toleranslılık sağlayabileceği söylenebilir.
- Özellikle Akdeniz’de yetişen ve önemli bir bitki olan domates bitkisinde tuz ve ağır metal kombinasyonunda meydana gelebilecek zararların ve tuz toleranslılığın metal alımını ve bu alımdan kaynaklanan zararlı etkileri ne derece önleyebileceğinin bilinmesi, bu bitkiden daha iyi verim alınmasında yardımcı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Cuartero, J. ve Fernandez-Munoz, R. "Tomato and salinity", *Scientia Horticulturae*, **78**:83-125, (1999).
- [2] Romero-Aranda, R., Soria, T., Cuartero, J. "Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions", *Plant Science* **160**:265-272, (2001).
- [3] Munns R. "Comparative physiology of salt and water stress", *Plant, Cell and Environment*, **25**:239-250, (2002).
- [4] Dionisio-Sese, M.L., Tobita, S. "Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress", *Plant Science*, **135**:1-9, (1998).
- [5] Dasgan, H.Y., Akbaş, H., Abak, K., Çakmak, İ. "Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses", *Plant Science* **163**:695-703, (2002).
- [6] Liptay, A., Sikkema, P., Fonteno, W. "Transplant growth control through water deficit stress-a review", *HortTechnology*, **8**(4), (1998).
- [7] Das, P., Samantaray, S., Rout, G.R. "Studies on cadmium toxicity in plants: a review", *Environmental Pollution*, **98**(1):29-36, (1997).
- [8] Haag-Kerwer A., Schäfer, H.J., Heiss, S., Walter, C. ve Rausch, T. "Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis", *Journal of Experimental Botany*, **50**(341):1827-1835, (1999).
- [9] Sgherri, C., Cosi, E., Navari-Izzo, F. "Phenols and antioxidative status of *Rapianus sativus* grown in copper excess", *Physiologia Plantarum*, **118**:21-28, (2003).
- [10] Hall, J.L., "Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance", *Journal of Experimental Botany*, **53** (366):1-11, (2002).
- [11] Hartley-Whitaker J., Ainsworth G. ve Meharg A.A. "Copper- and arsenate-induced oxidative stress in *Holcus lanatus* L.clones with differential sensitivity", *Plant , Cell and Environment* **24**:713-722, (2001).

- [12] Sairam, R.K., Srivastava, G.C. "Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress", *Plant Science* **162**:897-904, (2002).
- [13] Sreenivasulu N., Ramanjulu S., Ramachandra-Kini K., Prakash H. S., Shekar-Shetty H., Savithri H.S., Sudhakar C. "Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance", *Plant Science* **141**:1-9, (1999).
- [14] Behera, R. K., Mishra, P. C., Choudhury, N. K. "High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves" *J. Plant Physiol.*, **159**:967-973, (2002).
- [15] Schützendübel, A. ve Polle, A. "Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization", *Journal of Experimental Botany*, **53**(372):1351-1365, (2002).
- [16] Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. "Bitki Biyoteknolojisi II- Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları", 1. Baskı, S.Ü. Basımevi, Konya, 456 s., (2001).
- [17] Herbinger, K., Tausz, M., Wonisch, A., Soja, G., Sorger, A., Grill, D. "Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars", *Plant Physiol. Biochem.*, **40**:691-696, (2002).
- [18] Bor, M., Özdemir, F., Türkan, I. "The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L.", *Plant Science*, **164**:77-84, (2003).
- [19] Quariti, O., Boussama, N., Zarrouk, M., Cherif, A. ve Ghorbal, M.H. "Cadmium- and copper-induced changes in tomato membrane lipids", *Phytochemistry*, **45**(7):1343-1350, (1997).
- [20] Hernandez, J. ve Almansa, M. S. "Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves", *Physiologia Plantarum*, **115**:251-257, (2002).
- [21] Fernandez-Garcia, N., Martinez, V., Cerda, A., Carvajal, M. "Water and nutrient uptake of grafted tomato plants grown under saline conditions", *J. Plant Physiol.* **159**:899-905, (2002).

- [22] De Herralde, F., Biel, C., Save, R., Morales, M. A., Torrecillas, A., Alarcon, J.J., Sanchez-Blanco, M. J. "Effect of water and salt stresses on the growth, gas exchange and water relations in *Argyranthemum coronopifolium* plants", *Plant Science* **139**:9-17, (1998).
- [23] Zhang, H-X., Blumwald, E. "Transgenic salt tolerant tomato plants accumulate salt in the foliage but not in fruits", *Nat. Biotechnol.* **19**:765-768, (2001).
- [24] Jia, W., Wang, Y., Zhang, S., Zhang, J. "Salt-stress-induced ABA accumulation is more sensitively triggered in roots than in shoots", *Journal of Experimental Botany*, **53**(378):2201-2206, (2002).
- [25] Steudle E. "Water uptake by roots: effects of water deficit", *Journal of Experimental Botany*, **51**(350), Special Issue:1531-1542, (2000).
- [26] Rios-Gonzalez, K., Erdei, L., Lips, S.H. "The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources", *Plant Science* **162**:923-930, (2002).
- [27] Vieira Santos, C. L., Campos, A., Azevedo, H. ve Caldeira, G. "In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism", *Journal of Experimental Botany* **52**(355):351-360, (2001).
- [28] Houle, G., Morel, L., Reynolds, C.E., Siegel, J. "The effect of salinity on different developmental stages of an endemic annual plant, *Aster laurentianus* (*Asteraceae*)", *American Journal of Botany* **88**(1):62-67 , (2001).
- [29] Mäkelä, P., Munns, R., Colmer, T.D. ve Peltonen-Sainio, P. "Growth of tomato and an ABA-deficient mutant (*sitiens*) under saline conditions", *Physiologia Plantarum*, **117**:58-63, (2003).
- [30] Mulholland, B.J., Taylor, I.B., Jackson, A.C., Thompson, A.J. "Can ABA mediate responses of salinity stressed tomato", *Environmental and Experimental Botany*, **50**:17-28, (2003).
- [31] Katerji, N., van Hoorn, J.W., Hamdy, A. ve Mastrorilli, M. "Salt tolerance classification of crops according to soil salinity and to water stress day index", *Agricultural Water Management*, **43**:99-109, (2000).

- [32] Santa-Cruz, A., Martinez-Rodriguez, M. M., Perez-Alfocea, F., Romero-Aranda, R., Bolarin, M. M. "The rootstock effect on tomato salinity response depends on the shoot genotype", *Plant Science* **162**:825-831, (2002).
- [33] Sandalio, L. M., Dalurzo, H. C., Gomez, M., Romero-Puertas, M. C., del Rio, L.A. "Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants", *Journal of Experimental Botany*, **52**(364):2115-2126, (2001).
- [34] Iannelli, M. A., Pietrini, F., Fiore, L., Petrilli, L., Massacci, A. "Antioxidant response to cadmium in *Phragmites australis* plants", *Plant Physiol. Biochem.* **40**:977-982, (2002).
- [35] Leon, A.M., Palma, J.M., Corpas, F.J., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C., Chatterjee, D., Mateos, R.M., del Rio, L.A., Sandalio, L.M. "Antioxidative enzymes in cultivars of pepper plants with different sensitivity to cadmium", *Plant Physiol. Biochem.* **40**:813-820, (2002).
- [36] Clemens, S., Palmgren, M.G., Kramer, U. "A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation", *Trends in Plant Science*, **7**(7), (2002).
- [37] Stolt, J.P., Sneller, F.E.C., Bryngelsson, T., Lundborg, T., Schat, H. "Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat", *Environmental and Experimental Botany*, **49**:21-28, (2003).
- [38] Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R., "Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L.cv.Azad)", *Journal of Experimental Botany*, **52**(358):1101-1109, (2001).
- [39] Milone, M.T., Sgherri, C., Clijsters, H., Navari-Izzo, F. "Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium", *Environmental and Experimental Botany*, **00**:1-12, (2003).
- [40] Bonnet, M., Camares, O, Veisseire, P. "Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass (*Lolium perenne* L.cv Apollo)", *Journal of Experimental Botany*, **51**(346):945-953, (2000).
- [41] Cobbett, C.S. "Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification", *Current Opinion in Plant Biology*, **3**:211-216, (2000).

- [42] Grill, E., Löffler, S., Winnacker, E.L., Zenk, M.H. "Phytochelatins, the heavy-metal-binding peptides of plants, are synthesized from glutathione by a specific γ -glutamylcysteine dipeptidyl transpeptidase (phytochelatin synthase)", *Proc.Natl.Acad.Sci*, **86**:6838-6842,1989.
- [43] Szalai, G., Janda, T., Golan-Goldhirsh, A., Paldi, E. "Effect of Cd treatment on phytochelatin synthesis in maize", *Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology*, **2**:22, (2002).
- [44] Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. ve Tal, M. "Response of cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidative system", *Physiologia Plantarum*, **112**: 487-494, (2001).
- [45] Mittova, V., Tal, M., Volokita, M., Guy, M. "Salt stress induces up-regulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerant wild tomato species *Lycopersicon pennellii* but not in the cultivated species", *Physiologia Plantarum*, **115**:393-400, (2002).
- [46] Menezes-Benavente,L., Karam Teixeira, F., Alvim Kamei, C.L. ve Margis-Pinheiro, M. "Salt stress induces altered expression of genes encoding antioxidant enzymes in seedlings of an Brazilian indica rice (*Oryza sativa* L.)", *Plant Science*, **166**:323-331, (2004).
- [47] Alscher, G., R., Erturk, N. ve Heath, L.S. "Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants", *Journal of Experimental Botany*, **53**(372):1331-1341, (2002).
- [48] Neill, S. J., Radhika Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R. D. ve Hancock, J.T. "Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants", *Journal of Experimental Botany*, **53**(372):1237-1247, (2002).
- [49] Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. ve Yoshimura, K. "Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes", *Journal of Experimental Botany*, **53**(372):1305-1319, (2002).
- [50] Halliwell, B. "Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts", *Chemistry and Physics of Lipids*, **44**:327-40, (1978).

- [51] Larson, R.A. "The antioxidants of higher plants", *Phytochemistry*, **27**(4):969-78, (1988).
- [52] Bozcuk, S. "Domates (*Lycopersicum esculentum* Mill), Arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Bitkilerinin Büyüme ve Gelişmesinde Tuz-Kinetin Etkileşimleri Üzerinde Araştırmalar", Doçentlik tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Ankara (1978).
- [53] Porra, R.J., Thompson, R.A. ve Kriedemann, P.E. "Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvent verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy", *Biochem. And Biophys. Acta*, **975**:384-394, (1989).
- [54] Keleş, Y. "Bazı Çevresel Streslerin Etkisinde Kalan Buğday ""(*Triticum aestivum* L. ve *Triticum durum* Desf.) Fidelerinde Çeşitli Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişimlerin İncelenmesi", Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 91 s., (2000).
- [55] Moore, T.C. "Research Experiences in Plant Physiology", Springer-Verlag, New-York. (1974).
- [56] Beyer, W.F., Fridovich, I. "Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions", *Anal Biochem.*, **161**:559-566, (1987).
- [57] Vitória, P.A., Lea, P.J., Azevedo, R.A. "Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues" *Phytochemistry*, **57**:701-710, (2001).
- [58] Carlberg, I. and Mannervik, B. "Glutathion Reductase", *Methods in Enzymology*, **113**: 484-490, (1985).
- [59] Aebi, H.E., Bergmeyer, J., Grabl, M., "Catalase. In: *Methods of enzymatic analysis*", Eds. Verlag Chemie, Weinheim, **3**: 273-286, (1983).
- [60] Karabal, E., Yücel, M., Öktem, H.A. "Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity", *Plant Science*, **164**:925-933, (2003).
- [61] Kaçar, B. "Bitki Besleme Uygulama Kılavuzu", Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 900 Uygulama Kılavuzları:214: 94 s., (1984).

- [62] Younis, M.E., El-Shahaby, O.A., Abo-Hamed, S.A. ve İbrahim, A.H. "Effects of water stress on growth, pigments and $^{14}\text{CO}_2$ assimilation in three Sorghum Cultivars", *J.Agronomy&Crop Science*, **185**:73-82, (2000).
- [63] Schat, H., Llugany, M., Vooijs, R., Hartley-Whitaker, J. ve Bleeker, P.M. "The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes", *Journal of Experimental Botany*, **53**(379):2381-2392, (2002).
- [64] Öncel, I., Keleş, Y., Üstün, A.S. "Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings", *Environmental Pollution*, **107**:315-320, (2000).
- [65] Guo, T., Zhang, G., Zhou, M., Wu, F. Ve Chen, J. "Effects of aliminium and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barley genotypes with different Al resistance", *Plant and Soil*, **258**:241-248, (2004).
- [66] Yürekli, F., Türkan, İ., Porgali, Z.B. ve Topçuoğlu, F. "İndolacetic acid, gibberellic acid, zeatin, and abscisic acid levels in NaCl-treated tomato species differing in salt tolerance", *Israel Journal of Plant Sciences*, **49**:269-277, (2001).
- [67] Moran, J.F., Becana, M., Iturbe-Ormaetxe, I., Frechilla, S., Klucas, R.V. ve Aparicio-Tejo, P. "Drought induces oxidative stress in pea plants", *Planta* **194**:346-352, (1994).
- [68] Bazzaz, F.A., Rolfe, G.L., Carlson, R.W. "Effect of cadmium on photosynthesis and transpiration of excised leaves of corn and sunflower", *Physiologia Plantarum*, **32**:373-77, (1992).
- [69] Wu, F., Zhang, G., Dominy, P. "Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity", *Environmental and Experimental Botany*, **50**:67-78, (2003).
- [70] Kumar Tewari, R., Kumar, P., Nand Sharma, P. ve Bisht, S.S. "Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt", *Plant Science* **162**:381-388, (2002).
- [71] Siefermann-Harms, D. "The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes", *Physiol Plant*, **69**:561-568, (1987).

- [72] Munné-Bosch, S., Peñuelas, J. "Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions", *Plant Science*, **166**:1105-1110, (2004).
- [73] Bartoli, C.,G., Simontacchi, M., Tambussi, E., Beltrano, J., Montaldi, E. ve Puntarulo, S. "Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. Leaves", *Journal of Experimental Botany*, **50**(332):375-383, (1999).
- [74] Schickler, H. ve Caspi, H. "Response of antioxidative enzymes to nickel and cadmium stress in hyperaccumulator plants of the genus *Alyssum*", *Physiologia Plantarum*, **105**:39-44, (1999).
- [75] Del Rio, L.A., Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Palma, J.M., Gomez, M., Barroso, J.B. "Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes", *Journal of Experimental Botany*, **53**(372):1255-1272, (2002).
- [76] Sato, Y., Murakami, T., Funatsuki, H., Matsuba, S., Saruyama, H. ve Tanida, M. "Heat shock-mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings", *Journal of Experimental Botany*, **52**(354):145-151, (2001).
- [77] Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y., Sakuratani, T. "Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging", *Plant Science*, **163**:117-123, (2002).
- [78] Bailly, C., Audigier, C., Ladonne, F., Wagner, M.H., Coste, F., Corbineau, F. ve Come, D. "Changes in oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality", *Journal of Experimental Botany*, **52**(357):701-708, (2001).
- [79] Ramachandra R., A., Chaitanya, K.V., Jutur, P.P., Sumithra, K. "Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars", *Environmental and Experimental Botany*, **52**: 33-42, (2004).

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Mersin’de doğdu. 1996 yılında İcel Anadolu Lisesi (İngilizce)’den mezun oldu. 1997 yılında Hacettepe Üniversitesi Yabancı Diller Yüksekokulu’nda 1 yıl Almanca dil eğitimi gördükten sonra Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği (Almanca) bölümünden 2002 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

