



MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİNDE SICAKLIK – AĞIR METAL
ETKİLEŞİMLERİNİN BİTKİ BÜYÜMESİ VE ÇÖZÜNÜR PROTEİN
MİKTARI ÜZERİNE ETKİLERİ

AHMET MUŞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

Temmuz 2010



MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİNDE SICAKLIK – AĞIR METAL
ETKİLEŞİMLERİNİN BİTKİ BÜYÜMESİ VE ÇÖZÜNÜR PROTEİN
MİKTARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

AHMET MUŞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

Temmuz 2010

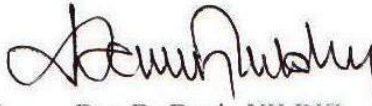
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİNDE SICAKLIK – AĞIR METAL
ETKİLEŞİMLERİNİN BİTKİ BÜYÜMESİ VE ÇÖZÜNÜR PROTEİN MİKTARI
ÜZERİNE ETKİLERİ

AHMET MUŞLU
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Yrd.Doç.Dr. Nuray ERGÜN danışmanlığında hazırlanan bu tez 16.07.2010 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile kabul edilmiştir.


Yrd.Doç.Dr. Nuray ERGÜN
Başkan


Doç.Dr. Deniz YILDIZ
Üye


Doç.Dr. Yüksek KELEŞ
Üye

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No: 476


Doç. Dr. Erdal YILMAZ
Enstitü Müdür V.

Bu çalışma M.K.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir.

Proje No: 04 Y 0103

Not: Bu tezde kuitanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, cizeige, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| ÖZET..... | I |
| ABSTRACT..... | II |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ..... | III |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | IV |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR..... | 4 |
| 2.1. Bitkilerde Yüksek Sıcaklık Stresi..... | 4 |
| 2.2. Bitkilerde Ağır Metal Stresi..... | 6 |
| 2.3. Sıcaklık + Ağır Metal Etkileşimleri..... | 11 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM..... | 12 |
| 3.1. Materyal..... | 12 |
| 3.2. Yöntem..... | 12 |
| 3.2.1. Bitki Yetiştirme Koşulları..... | 12 |
| 3.2.2. Bitki Büyüme Ölçümleri..... | 14 |
| 3.2.3. Kuru Madde Tayini..... | 14 |
| 3.2.4. Oransal Su İçeriği (OSİ)..... | 14 |
| 3.2.5. Membran Dayanıklılık İndeksi (MDİ)..... | 14 |
| 3.2.6. Pigment Analizi..... | 15 |
| 3.2.7. Serbest Prolin Analizi..... | 16 |
| 3.2.8. Enzim Analizleri..... | 16 |
| 3.2.8.1. Askorbat Peroksidaz (AP) Analizi..... | 16 |
| 3.2.8.2. Katalaz (KAT) Analizi..... | 16 |
| 3.2.9. Çözünür Protein Analizi..... | 17 |
| 3.2.10. Elektroforez Analizi..... | 17 |
| 3.2.10.1. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS- PAGE)..... | 17 |
| 3.2.10.2. SDS-Poliakrilamid Jellerinin Hazırlanması..... | 17 |
| 3.3. İstatistiksel Analizler..... | 17 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA..... | 19 |
| 4.1. Sıcaklık+Ağır Metal Etkileşimlerinin Bitki Büyümesi Üzerine Etkileri..... | 19 |
| 4.1.1. Kök Gelişimine Etkileri..... | 19 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.1.2. Sürgün Gelişimine Etkileri..... | 24 |
| 4.2. Membran Dayanıklılık İndeksi (MDİ) Üzerine Etkileri..... | 27 |
| 4.3. Oransal Su İçeriğine (OSİ) Etkileri..... | 29 |
| 4.4. Pigment Miktarı Üzerine Etkileri..... | 30 |
| 4.5. Askorbat Peroksidaz ve Katalaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri..... | 36 |
| 4.6. Prolin Miktarı Üzerine Etkileri..... | 40 |
| 4.7. Çözünür Protein Miktarı Üzerine Etkileri..... | 43 |
| 4.8. Çözünür Proteinlerin SDS-PAGE Analizleri..... | 45 |
| 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER..... | 48 |
| KAYNAKLAR..... | 52 |
| TEŞEKKÜR | 62 |
| ÖZGEÇMİŞ | 63 |
| EKLER | 64 |
| Ek 1-2. Buğday fidelerinde sıcaklık+ağır metal uygulamalarının ortalama kök boyuna (cm bitki ⁻¹) etkisi..... | 64 |
| Ek 3-4. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama kök taze ağırlığına (mg bitki ⁻¹) etkisi..... | 65 |
| Ek 5-6. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama kök kuru ağırlığına (mg bitki ⁻¹) etkisi..... | 66 |
| Ek 7-8. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama sürgün boyuna (cm bitki ⁻¹) etkisi..... | 67 |
| Ek 9-10. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama sürgün taze ağırlığına (mg bitki ⁻¹) etkisi..... | 68 |
| Ek 11-12. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama sürgün kuru miktarına (mg bitki ⁻¹) etkisi..... | 69 |
| Ek 13-14. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama kök/sürgün oranına (mg bitki ⁻¹) etkisi..... | 70 |
| Ek 15-16. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının % kök membran dayanıklılık indeksi (% MDİ) üzerine etkisi..... | 71 |
| Ek 17-18. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının % gövde membran dayanıklılık indeksi (% MDİ) üzerine etkisi..... | 72 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Ek 19-20. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının oransal su içeriğine (OSİ) etkisi..... | 73 |
| Ek 21-22. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının klorofil a miktarı üzerine ($\mu\text{g g}^{-1}$ T.A) etkisi..... | 74 |
| Ek 23-24. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının klorofil b miktarı üzerine ($\mu\text{g g}^{-1}$ T.A) etkisi..... | 75 |
| Ek 25-26. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının toplam klorofil miktarı üzerine (mg g^{-1} T.A) etkisi..... | 76 |
| Ek 27-28. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının klorofil a/b oranına (mg g^{-1} T.A) etkisi..... | 77 |
| Ek 29-30. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının karotenoid miktarı üzerine ($\mu\text{g g}^{-1}$ T.A) etkisi..... | 78 |
| Ek 31-32. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının askorbat peroksidaz (AP) aktivitesi üzerine (U mg^{-1} T.A) etkisi..... | 79 |
| Ek 33-34. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının katalaz aktivitesi (KAT) üzerine (U g^{-1} T.A) etkisi..... | 80 |
| Ek 35-36. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının serbest prolin miktarına (mg g^{-1} bitki) etkisi..... | 81 |
| Ek 37-38. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının çözüner protein miktarına (mg g^{-1} bitki) etkisi..... | 82 |

ÖZET

BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİNDE SICAKLIK – AĞIR METAL ETKİLEŞİMLERİNİN BİTKİ BÜYÜMESİ VE ÇÖZÜNÜR PROTEİN MİKTARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Bu araştırmada, buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Dağdaş 94) fidelerinde sıcaklık ve krom (Cr) ve bakır (Cu) ağır metalleri etkileşimlerin kök, sürgün ve kök ve sürgün kuru ağırlığı, oransal su içeriği (OSİ), membran dayanıklılık indeksleri (MDİ), pigment birikimi, askorbat peroksidaz (AP) ve katalaz (KAT) enzim aktiviteleri, serbest prolin miktarı, çözümlü protein miktarı üzerine etkileri ve çözümlü proteinlerin SDS-PAGE analizleri incelenmiştir.

Cr ve Cu metallerinin yüksek konsantrasyonları ve bu ağır metallerle birlikte uygulanan farklı sıcaklık dereceleri (16/24 °C ve 30/40 °C), fidelerin kök ve sürgün boy uzunluklarında, taze ve kuru ağırlıklarında, membran dayanıklılık indekslerinde ve oransal su içeriklerinde azalmalara neden olmuştur. Pigment miktarlarında meydana gelen değişimler incelendiğinde, sıcaklık ve ağır metal stresi altında buğday fidelerinin kl a, b, klorofil a/b ve toplam klorofil miktarlarında azalmalar meydana gelmiştir. Kontrol sıcaklığına göre yüksek sıcaklık uygulamaları altında karotenoid miktarında meydana gelen artışlar önemli bulunmuştur. 24 °C' de artan metal konsantrasyonlarına paralel olarak AP miktarında artmıştır. Ancak 30 µM 40 °C' de kontrole göre önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. KAT aktivitesi her iki sıcaklık derecesi ve artan ağır metal konsantrasyonlarında kontrole göre artış göstermiştir. Yüksek sıcaklık ve ağır metal stresi altında kontrol gruplarına oranla serbest prolin miktarı önemli derecede artmışken çözümlü protein miktarı önemli derece de azalmıştır. Ayrıca araştırma sonuçlarımıza göre genel olarak Cr uygulamaları, Cu uygulamalarına kıyasla daha toksik bir etki meydana getirmiştir.

2010, 82 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Sıcaklık, Ağır metal, buğday, antioksidant enzimler, krom, bakır, çözümlü protein, serbest prolin, klorofil, karotenoid.

ABSTRACT**EFFECTS OF TEMPERATURE - HEAVY METAL INTERACTIONS ON GROWTH PARAMETERS AND TOTAL SOLUBLE PROTEIN CONTENT ON WHEAT (*Triticum aestivum* L.) SEEDLINGS**

The aim of this research was to investigate the effects of temperature and chrome and copper heavy metals and the interaction of these heavy metals on wheat's (*Triticum aestivum* L. cv. Dağdaş 94) root and shoot elongation, dry weight, root/shoot dry weight ratio, pigment content, relative water percentage (RWC), membrane stability index (MSI), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) enzymes activities, proline, soluble protein contents and SDS-PAGE analyses of protein.

All two (Cr and Cu) heavy metals at high concentrations and interactions of different temperature's (24 and 40 C⁰) with them inhibited the growth of root and shoot length, dry weight, membrane stability index and relative water contents. In seedlings that applied with heat and heavy metal stress chlorophyll (a, b, total and a/b ratio) concentration decreased. All two (Cr and Cu) heavy metals at high concentrations carotenoid content has decreased according to control groups. At seedlings on which 24 C⁰ and at high metal concentrations applied, the amount of AP have increased. However AP concentration in 30 µM 40 C⁰ treated wheat seedlings is found to be decreased according to control. At seedlings on which heavy metals and heavy metal+heat applied the amount of KAT and free proline have increased according to control whereas the amount of the soluble protein has decreased. Furthermore it was determined that Cr has shown the most toxic effects than Cu treatment.

2010, 82 Page

Keywords: Temperature, heavy metal, wheat, antioxidant enzymes, chrome, copper, soluble proteins, free proline, chlorophyll, carotenoid.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|------------------------------------------|------------------------------------------|
| $^1\text{O}_2$ | Singlet Oksijen |
| AP | Askorbat Peroksidaz |
| DHA | Dihidroaskorbat |
| FAO | Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü |
| GR | Glutasyon Redüktaz |
| GP | Guaiakol Peroksidaz |
| H_2O_2 | Hidrojen Peroksit |
| KAT | Katalaz |
| MDA | Malondialdehit |
| MDİ | Membran Dayanıklılık İndeksi |
| $\text{O}_2^{\cdot -}$ | Süperoksit Radikali |
| OH^{\cdot} | Hidroksil Radikali |
| OSİ | Oransal Su İçeriği |
| PAGE | Poliakrilamid Jel Elektroforezi |
| ROT | Reaktif Oksijen Türleri |
| SDS | Sodyum Dodesil Sülfat |
| SOD | Süperoksit Dismutaz |
| TA | Taze Ağırlık |
| U | Ünite |
| μ | Mikro |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1. <i>T. aestivum</i> fidelerinin besin solüsyonuna alınması ve büyütme kabiniinde yetiştirilmesi..... | 13 |
| Şekil 4.1. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde ortalama kök boyuna (cm bitki ⁻¹) etkisi (n=9)..... | 19 |
| Şekil 4.2. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde ortalama kök taze ağırlığına (g bitki ⁻¹) etkisi (n=9)..... | 20 |
| Şekil 4.3. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde ortalama kök kuru ağırlığına (mg bitki ⁻¹) etkisi (n=9). | 20 |
| Şekil 4.4. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde ortalama sürgün boyuna (cm bitki ⁻¹) etkisi (n=9)..... | 24 |
| Şekil 4.5. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde ortalama sürgün taze ağırlığına (g bitki ⁻¹) etkisi (n=9)..... | 24 |
| Şekil 4.6. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde ortalama sürgün kuru ağırlığına (mg bitki ⁻¹) etkisi (n=9)..... | 25 |
| Şekil 4.7. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde ortalama kök/sürgün kuru ağırlığına (mg bitki ⁻¹) etkisi (n=9)..... | 25 |
| Şekil 4.8. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde kök MDİ üzerine (µS cm ⁻¹ bitki ⁻¹) etkisi (n=3)..... | 26 |
| Şekil 4.9. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde sürgün MDİ üzerine (µS cm ⁻¹ bitki ⁻¹) etkisi (n=3)..... | 26 |
| Şekil 4.10. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde OSİ üzerine etkisi (n=9)..... | 28 |
| Şekil 4.11. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde klorofil a miktarı üzerine (mg g ⁻¹ T.A) etkisi (n=3)..... | 29 |
| Şekil 4.12. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde klorofil b miktarı üzerine (mg g ⁻¹ T.A) etkisi (n=3)..... | 29 |
| Şekil 4.13. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde toplam klorofil miktarı üzerine (mg g ⁻¹ T.A) etkisi (n=3)..... | 30 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.14. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde klorofil a/b oranına (mg g^{-1} T.A) etkisi (n=3)..... | 30 |
| Şekil 4.15. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde karotenoid miktarı üzerine (mg g^{-1} T.A) etkisi (n=3)..... | 31 |
| Şekil 4.16. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde askorbat peroksidaz aktivitesine (U g^{-1} T.A) etkisi (n=3)..... | 34 |
| Şekil 4.17. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde katalaz aktivitesine (U g^{-1} T.A) etkisi (n=3)..... | 34 |
| Şekil 4.18. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde serbest prolin miktarı üzerine (mg g^{-1} bitki) etkisi (n=3)..... | 38 |
| Şekil 4.19. Cr, Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamalarının buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinde çözünür protein miktarı üzerine (mg g^{-1} bitki) etkisi (n=3)..... | 40 |
| Şekil 4.20. Cu ve yüksek sıcaklık+metal uygulamaları sonrası buğday (<i>T. aestivum</i> L.) fidelerinin sürgün ekstraktlarının SDS-PAGE ile görüntülenmesi..... | 40 |

1.GİRİŞ

Yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk ve kimyasal toksisite gibi pek çok abiyotik stres faktörleri ile oksidatif stres, dünyada büyük ölçüde tarım alanlarını tehdit etmektedir (Wang vd., 2003). Bitkilerde ortalama % 50' den fazla verim kaybına neden olan abiyotik stres faktörleri, dünyadaki tarımsal ürün kaybında birincil nedenidir (Bray vd., 2000). Bununla birlikte topraklarda giderek artan ağır metal kirliliği de tarım alanlarını ve insan sağlığını tehdit eden diğer önemli stres faktörlerindedir.

Ağır metaller, yoğunluğu 5 gr cm^{-3} ' ten daha fazla olan element grubu olarak tanımlanmakta (Stobrawa ve Plucinska, 2008) ve bu gruba kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), krom (Cr), demir (Fe), bakır (Cu), kobalt (Co), nikel (Ni), civa (Hg) ve çinko (Zn) olmak üzere altmıştan fazla metal dahil edilmiştir (Kahvecioğlu vd, 2007). Ağır metaller normal olarak, kayaların ve maden cevherlerinin yapısında bulunduğu için yaşayan organizmalarda, sularda, sedimentlerde ve toprakta bulunmaları doğaldır (Alloway ve Ayres, 1993). Bu metallere bazıları organizmaya girdikten sonra kolay kolay atılamazlar ve bazı fizyolojik aktiviteler üzerinde inhibitör etkisi gösterirler. Ayrıca bu metaller çeşitli insan aktiviteleri sonucu üretilen gerek sanayi gerekse de şehirsal atıkların (pil, akü, termometre, kurşun tetraetil gibi benzinle katılan maddeler vs.) içinde bol miktarda bulunmakta ve hem çevre kirliliğine (Ergün ve Öncel, 2005) hem de ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Waisberg vd., 2003). Bazı ağır metaller bitki beslenmesi için önemli oldukları halde yüksek konsantrasyonlarda toksiktirler. Bunlar Cu, Fe, mangan (Mn), molibden (Mo), Zn, Co ve Ni' dir. Bununla birlikte Cd, Cr, Hg ve Pb gibi ağır metaller de çeşitli yollardan tarımsal ekosisteme girerler. Bunların bitkideki zararlı etkileri derişimlerine ve çözünebilirliklerine bağlıdır (Bergmann, 1992)

Bitkiler yüksek miktarlarda ağır metale maruz kaldıklarında bu metalleri dokularında biriktirirler. Metallerin dokulardaki toksik başlangıç seviyeleri metal stresi için '**stres noktası**' olarak tanımlanır ve bu seviyenin üstünde hücre metabolizması dönüşümsüz olarak hasar görebilir (Van Assche ve Clijters, 1990). Yapılan çalışmalarda, ağır metal konsantrasyonu arttıkça çimlenme oranı ile kök ve gövde gelişiminin önemli ölçüde engellendiği ortaya konulmuştur. Cr, Cd ve Pb gibi esansiyel olmayan ağır metallerin topraktaki bulunmuşluklarının artması ve toksik seviyelere ulaşması da bitkiler için bir stres kaynağıdır.

Çalışmamızda kullandığımız buğday bitkisi, dünyada 215 milyon hektar ekiliş alanı ve 628 milyon ton üretim ile diğer kültür bitkileri arasında yetiştiricilikte ilk sırayı almaktadır (FAO, 2005). Ülkemizde de buğday, ekiliş alanın büyüklüğü bakımından ilk sırayı almaktadır (Kün, 1988).

Geniş adaptasyon yeteneğine sahip tek yıllık bir bitki olan buğday, besleyici niteliği ve hammadde olarak kullanımının yaygın olması nedeniyle dünyanın hemen hemen her tarafında yetiştirilmekte ve dünya nüfusunun yaklaşık % 35' inin temel besin ihtiyacını karşılamaktadır (Vasil vd., 1991). Ilıman iklimde ve sulamanın yeterli olduğu sıcak iklimlerde yetişebilen buğday bitkisinin (Akkaya, 1994) giderek artan dünya nüfusu karşısında, yakın gelecekte talep edilen besin ihtiyacını karşılayamayacağı düşünülmektedir (Rosengrant vd., 1995). Bu durumda ileride yaşanacak açlık problemlerinin önüne geçilebilmesi için ya ekim alanlarının genişletilmesi ya da birim alan başına verimin artırılması gerekmektedir. Gelişmekte olan ülkelerdeki buğday ekim alanlarının sadece % 0.14 civarında artacağı beklenmektedir (Rosengrant vd., 1995). Dolayısıyla gelecekte oluşabilecek açlık sorunlarına karşı alınması gereken önlemin birim başına verim artışıyla sağlanabileceği açıkça görülmektedir.

Son yıllarda dünyanın farklı bölgelerinde yürütülen çalışmalarda, buğdayda verimi artırmada net fotosentez hızı, stoma iletkenliği, klorofil içeriği, klorofil floresansı, bitki örtüsünde serinleme, membran termostabilitesi gibi çeşitli fizyolojik özelliklerin esas alınabileceği ortaya çıkarılmıştır. Ancak yine de bu kriterlerin kullanılmadan önce ilgili çevrede ayrıca test edilmesi gerekmektedir (Reynolds vd., 2001).

Yüksek sıcaklık gibi abiyotik stres koşulları altında tarımsal bitki verimi sınırlanmaktadır (Paulsen, 1994; Ishag ve Mohamed, 1996). Buğday gelişimi ve verimi için optimum sıcaklık aralığı 18-24 °C olup, 28-32 °C gibi sıcaklıklara kısa süreli (5-6 gün) dahi maruz kalırsa, verimde % 20 veya daha fazla azalmaya neden olabilmektedir.

Dünya nüfus artış hızına paralel olarak hem tarımsal verimin artırılması ile besin sıkıntısının giderilmesine, hem de tarımsal alanların sıcak iklim kuşağındaki verimli alanlara doğru genişletilmesine ihtiyaç vardır. Bu nedenle tahılların yüksek sıcaklık stresine olan toleransı ile ilgili moleküler ve genetik temellerin (Maestri vd., 2002) ve ağır metal stresi gibi abiyotik stres faktörlerine karşı bitkilerin tolerans mekanizmalarının aydınlatılmasına ihtiyaç vardır.

Bitkiler çoğu kez yaşadıkları habitatın aynı anda birden fazla stres faktörüyle mücadele etmek zorunda kalırlar. Çünkü bitkilerin geliştiği ve yetiştiği ortamlarda gerek duyulan bazı faktörler eksik ve bazı faktörler de ideallikten oldukça uzaktır (Kadioğlu, 2007). Günümüzde en önemli çevre sorunlarından biri küresel iklim değişiklerine bağlı olarak meydana gelen sıcaklık artışıdır. Ayrıca tarım alanlarında ağır metal kirliliğinin giderek arttığı bilinmektedir. Bu koşullar altında gerek yüksek sıcaklık ve gerekse de ağır metal stresinin her ikisine birden maruz kalan bitkilerin her iki strese birden geliştirebilecekleri tolerans mekanizmalarının aydınlatılabilmesi ileride yaşanabilecek olumsuz çevre koşulları karşısında daha dirençli bitki çeşitlerinin geliştirilmesi açısından önemli olabilir.

Literatürde sıcaklık+ağır metal etkileşimlerinin bitkiler üzerine etkileri ile ilgili çalışmaların oldukça sınırlı olduğu göz önüne alınarak, ekmeklik (*Triticum aestivum* L. cv Dağdaş) buğday fidelerine uygulanan krom ve bakır ağır metalleri ve ayrıca bu ağır metallerle birlikte gerçekleştirilen yüksek sıcaklık (30/40 °C) uygulamalarının, kök-sürgün boyu, kök-sürgün taze ve kuru ağırlığı, kök/sürgün oranı, oransal su içeriği, klorofil (a, b, toplam ve a/b oranı), karotenoid miktarı, askorbat peroksidaz ve katalaz enzim aktiviteleri, kök-sürgün membran dayanıklılık indeksi, serbest prolin miktarı, çözümlü protein miktarı ve çözümlü proteinlerinin SDS-PAGE tekniği ile belirlenmesine çalışılmıştır. Bu tez çalışmasında, ağır metal ve sıcaklık stresi arasındaki olası etkileşimleri konu alarak, her iki stresin de aynı anda varlığı durumunda bitkiler de ortaya çıkacak tepkilerin incelenmesi amaçlanmıştır. Bununla birlikte Cu ve Cr ağır metallerinin belirtilen parametreler açısından birbirleriyle karşılaştırılması yapılarak ilgili metallerle birlikte uygulanan sıcaklığın ağır metal stresi üzerine etkisi incelenmeye çalışılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerde Yüksek Sıcaklık Stresi

Sıcaklık, bitki büyümesi ve gelişimini etkileyen en önemli abiyotik faktörlerden biridir (Vierling, 1991, Öncel vd., 2000). Aktif bitki büyümesi genellikle 10 - 40 °C arasındadır ve bu sıcaklık değerlerinin üstündeki ve altındaki sıcaklıklar bitkilerin metabolik aktiviteleri üzerinde stres yaratmaktadır (Treshow, 1970). Stres, çevresel ve biyolojik faktörlerin ayrı ayrı ya da birlikte organizmalarda belirgin fizyolojik değişimler meydana getirebilme kapasitesidir (Kadıoğlu, 2007). Stresin şiddeti ve süresine bağlı olarak organizmalarda meydana gelen değişimler, türler ve hatta türün bireyleri arasında bile farklılık gösterebilmektedir. Stres sonucu oluşan hasar, bir metabolizma bozukluğunun göstergesi olup, bitki büyümesi ve veriminde azalma ile sonuçlanır (Kadıoğlu, 2007). Yüksek sıcaklıktan etkilenme süresi uzarsa büyüme azalmasının yerini hücre zararlanması ve ölüm almaktadır (Levitt, 1980).

Bitkiler askorbik asit, glutatyon gibi bazı antioksidantların, prolin, glisin, betain, asparajin gibi aminoasitlerin, sukroz gibi taşınabilir karbonhidratların, hidroksiprolin ve glisince zengin hücre duvarı proteinlerinin ve sıcaklık şoku proteinleri gibi metabolitlerin sentezini artırarak yüksek sıcaklığa tolerans gösterebilirler (Nover vd., 1989).

Bitki gelişimi çoğunlukla biyokimyasal reaksiyonların bir fonksiyonudur. Bu reaksiyonlar enzimler tarafından kontrol edilir. Bir enzimin aktivasyonu baskılandığında onunla ilgili gelişim işlemleri de baskılanır (Treshow, 1970). Fotosentez sıcaklık ile etkilenen önemli bir reaksiyon dizisidir. Fotokimyasal bir olay olmasına rağmen enzim aktivitesine bağlıdır ve dolaylı olarak sıcaklığa bağımlı olduğu düşünülür. Solunum reaksiyonları da sıcaklığa bağlıdır ve genellikle bitkilerde 5 – 25 °C arasında normal seyir takip eden solunum, sıcaklığın 30 – 35 °C' ye yükselmesi ile artar, sıcaklığın daha fazla artması sonucu ise hızla azalır (Kadıoğlu, 2007).

Yüksek sıcaklık stresi altında hücre membran bileşenleri de önemli ölçüde etkilenmektedir. Sıcaklık stresi altında bitki membranları boyunca yapılan organik çözelti, su ve iyon hareketlerinin engellendiği (İbrahim ve Quick, 2001), gaz çözünürlüğünün, mineral absorpsiyonunun ve su alınımının azaldığı (Treshow, 1970), fotosentetik elektron transport sisteminin zayıfladığı ve membran lipidlerinin oksidatif bozulmaları artırdığı (Dash ve Mohanty, 2002) bildirilmiştir. Nitekim Dekov vd.,

(2000) fotosentezdeki verim azalışını, yüksek sıcaklık stresi altında kloroplast enzimlerinin inaktivasyonu sonucu meydana gelen oksidatif hasar ile ilişkilendirmiştir. Oksidatif stresin lipid peroksidasyonuna neden olarak, membran hasarına, protein degradasyonuna ve enzim inaktivasyonlarına neden olduğu ifade edilmiştir (Sairam vd., 2000; Meriga vd., 2004).

Yüksek sıcaklık stresinin bitkiler üzerindeki direkt etkisi proteinlerin denatüre ve koagüle olmasıdır. Yüksek sıcaklık stresi altında bu zararın önlenmesi için suyun gaz halinde kaybı artırılarak (transpirasyon) ısı etkisi düşürülmeye çalışılır (Kadioğlu, 2007).

Bir çok araştırmacı yüksek sıcaklık stresi altında bitki büyümesi ve gelişiminde, membran dayanıklılık indekslerinde, pigment içeriğinde, enzim aktivasyonları ve/veya inaktivasyonlarında, prolin ve protein miktarlarında meydana gelen değişimleri bildirmişlerdir.

Gibson ve Paulsen (1999), *Triticum aestivum* fidelerinde yüksek sıcaklık stresinin büyüme ve ürün verimi üzerine etkilerini inceledikleri araştırmalarında, hem bitki gelişiminin hem de ürün veriminin artan sıcaklık değerlerinde kontrole kıyasla önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

Gülen ve Eriş (2004), *Fragaria x ananassa* cv. Camarosa fidelerini 3 hafta kontrol sıcaklığında (25 °C) yetiştirdikten sonra 48 saat 5 °C artışla 30, 35, 40 ve 45 °C yüksek sıcaklık stresini kademeli olarak uygulamışlardır. Aynı zamanda kontrolden alınıp doğrudan bu sıcaklıklara konulan örnekler ile çalışılmıştır. Kademeli artışta 40 °C 'ye kadar elektrolit sızıntısının kontrole yakın fakat 45 °C' de % 64,3 olarak bulunmuştur. Doğrudan sıcaklık şoku uygulananlarda 35 °C' e kadar elektrolit sızıntısı neredeyse kontrole yakınken, 45 °C' de ise elektrolit sızıntısının % 86,7 olduğu ifade edilmiştir.

Cui vd. (2006), sıcaklık stresine toleransları farklı iki *Festuca arundinacea* (cv. TF-66 ve cv. Jaguar 3) kültüründe yüksek sıcaklık stresinin fotosentez, PS II fonksiyonları ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, her iki çeşitte de net fotosentez oranının, rubisko aktivitesinin, klorofil a+b ve klorofil/karotenoid oranının ve hücre membran termostabilitesinin azaldığını ancak lipid peroksidasyonunun kontrole göre önemli ölçüde arttığını ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, sıcaklık uygulamalarının 10. günün de her iki çeşitte askorbat

peroksidaz ve superoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin arttığını ancak 20. gün de AP aktivitesinin TF-66 çeşitinde azalırken, Jaguar 3 çeşitinde arttığını, SOD aktivitesinin ise her iki çeşitte de kontrole göre önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

Efeoğlu (2006), *T. aestivum*' un bazı çeşitleri üzerine farklı sürelerde (2, 4, 8 ve 24 saat) yüksek sıcaklık (37 ve 40 °C) uygulamalarının etkilerini incelediği çalışmada, kl a, kl b ve karotenoid miktarlarının 37 ve 45 °C ki değişimleri önemsiz bulunmuş ancak 45 °C 8 saat uygulamasında toplam kl a+b miktarının kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmiştir. Yüksek sıcaklık uygulamalarının 8 ve 24. saatlerinde kontrole göre membran dayanıklılık indeksinde %78.55 oranında bir azalışın olduğunu ifade etmiştir.

Badawi vd. (2007), *T. aestivum*' un sıcaklığa toleransı farklı 3 genotipinde (Fang, Siete Cerros ve Imam), farklı sıcaklık uygulamalarının 7, 15 ve 21. günlerde bazı antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan sıcaklıklara bağlı olarak antioksidant enzim aktivitelerinin önemli ölçüde değiştiğini ifade etmişlerdir. 7, 15 ve 21. gün değerlendirmeleri sonucu Fang, Siete ve Imam genotiplerinde artan sıcaklığa bağlı olarak AP aktivitesinin kontrole göre önemli ölçüde arttığını bildirmiştir. KAT aktivitesinin 21. gün değerlendirmelerinde ise Fang ve Siete genotipinde önemli ölçüde bir artış olduğunu ancak Imam genotipinde bu enzim aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Ristic vd. (2007), 12 kışlık *T. aestivum* çeşidi fidelerini 16 gün boyunca sıcaklık stresine maruz bırakarak sıcaklık toleransı ve klorofil içeriğini inceledikleri çalışmalarında, tüm kültürlerin tilakoid membranlarının hasara uğradığını ve birçok kültürde klorofil içeriğinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

2.2. Bitkilerde Ağır Metal Stresi

Mn, Fe, Cu, Co, Zn ve Ni gibi ağır metaller yüksek bitkiler için esansiyel besinlerdir (Nedelkoska ve Doran, 2000). Ancak bu ağır metallerin yüksek konsantrasyonları bitkiler için toksik etki gösterebilir. Cu ve Zn gibi ağır metallerin normal konsantrasyonları bitkilerin büyüme ve gelişimi için oldukça önemli olup, bazı protein ve enzimlerin yapısı için gerekli kofaktör olarak görev alırlar (Steffens, 1990). Örneğin Cu, sitokrom oksidaz, askorbik asit oksidaz gibi redoks enzimlerinin kofaktörü olarak görev alır. Mikrobeyin elementi olsun veya olmasın ağır metallerin bitkide aşırı

birikimi fizyolojik strese, büyüme ve gelişmede azalmaya sebep olmaktadır (Ouzounidou, 1994). Bitki dokularında ağır metal birikimi fazla olursa fotosentez (Lidon ve Ramalho, 1993), enzim aktivitesi (Van Assche ve Ceulemans, 1980) ve klorofil biyosentezi (Lidon ve Henriques, 1991) gibi çeşitli metabolik olaylar olumsuz yönde etkilenmektedir. Bunlara membran hasarları (Kennedy ve Gonsalves, 1987), hormon dengesinde bozulmalar ve su ilişkisinin değişmesi gibi fizyolojik olaylar da eklenebilir. Cd, Cr, Hg ve Pb gibi ağır metaller de çeşitli yollardan tarımsal ekosisteme girerler. Bunların bitki bünyesinde bulunmaları derişimlerine ve çözünebilirliklerine bağlıdır (Bergmann, 1992). Ağır metallerin bitkiler üzerindeki etkileri yapılan pek çok araştırma ile bildirilmiştir.

Chaoui vd. (1997), Cd ve Zn uygulamalarının *Phaseolus vulgaris* fidelerinin kök, gövde ve yaprak dokularında bazı antioksidant enzim aktiviteleri üzerine Cd ve Zn birikiminin etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta KAT aktivitesinin hem kök hem de yapraklarda azaldığını ancak gövde de değişmediğini, AP aktivitesinin ise, kök ve gövde dokularında değişmediğini ancak yapraklarda Cd uygulamasında % 113, Zn uygulamasında % 44 oranında arttığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar gövde ve yaprak dokularında çözünür protein miktarının ağır metal stresinden önemli ölçüde etkilenmese de, köklerde Cd uygulaması sonucu % 33, Zn uygulaması sonucu ise % 46 oranında azaldığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar kök dokusundaki bu azalışı, köklerin stres faktörlerinden daha fazla etkilendiği fikriyle açıklamışlardır.

Alam ve Shereen (2002), *T. aestivum* fidelerinde farklı konsantrasyonlarda uyguladıkları Zn (0, 5, 10 ve 20 mg⁻) ve P (0, 20 40 ve 60 mg⁻) miktarlarının bitki büyümesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, neredeyse tüm uygulamalarda gövde uzunluğu ile sürgün taze ve kuru ağırlıklarının arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, düşük Zn ve P varlığında klorofil miktarının arttığını ancak yüksek konsantrasyonlarda kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Candan vd. (2003), 0-1 µM Zn içeren besin solüsyonunda yetiştirdikleri *Mentha pulegium* fidelerinde Zn konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak SOD ve KAT aktivitesinin azaldığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar aynı deneme ünitesinde Zn 'nin zamana bağlı etkilerini incelediklerinde 7,67-1,8x10⁻² µM gibi azalan Zn konsantrasyonlarının 12. gününde antioksidant enzim aktivitelerinin de kontrole göre önemli derecede azaldığını ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar artan Zn

konsantrasyonlarına bağı olarak klorofil ve karotenoid miktarının kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Özcan (2003), doku kültüründe yetiştirdiği *Hordeum vulgare* L. 'nin Zafer -160 varyetesinde 40-80 μM CuSO_4 uygulamasının bitki gelişimini teşvik ettiğini ancak 400-1600 μM CuSO_4 uygulamalarının bitki büyümesini önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir. Araştırmacı Cu konsantrasyonu arttıkça çimlenme oranının, kök ve gövde gelişiminin önemli ölçüde azaldığını ifade etmiştir.

Panda vd. (2003), *T. aestivum* fidelerinde Zn ve Cr ağır metallerinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan ağır metal konsantrasyonlarına bağı olarak yapraklarda prolin miktarının önemli derecede arttığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar tüm konsantrasyonlarda MDA ve peroksidaz aktivitesinin arttığını ancak KAT, GP ve SOD gibi enzim aktivitelerinin önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2005), Ni, Co, Cr ve Zn ağır metallerinin farklı konsantrasyonlarındaki solüsyonlarında 10 gün süre ile gelişmeye bıraktıkları *Phaseolus vulgaris* fidelerinde, klorofil ve karotenoid miktarlarındaki değişimleri inceledikleri çalışmalarında, dört metalin de klorofil a, klorofil b, total pigment I ve II miktarında azalışa, karotenoid miktarında ise artışa neden olduğunu ifade etmişlerdir.

Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2006), *Helianthus annuus* fidelerine uygulanan 0.03, 0.05 ve 0.07 mM HgCl_2 'in toplam çözünebilir protein, prolin ve klorofil miktarı üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan Hg konsantrasyonlarına bağı olarak prolin birikiminde kontrole göre sırasıyla % 52.7, % 72.2 ve % 91.6 oranında önemli bir artışın, protein birikiminde ise kontrole göre sırasıyla % 21.5, % 31.6 ve % 47.1 oranında bir azalmanın olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar toplam klorofil (a+b) miktarının, 0.03 mM HgCl_2 uygulamasında % 21.9, 0.05 mM HgCl_2 uygulamasında % 28.2 ve 0.07 mM HgCl_2 uygulamasında ise % 36 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

Kırbağ-Zengin (2006), *Phaseolus vulgaris* fidelerinde (0.1, 0.3 ve 0.5 mM) $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ve (0.5, 0.7 ve 1.0 mM) $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ uygulamalarının kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine etkilerini incelediği çalışmasında, kök, gövde ve yaprak gelişiminin artan metal konsantrasyonlarında önemli ölçüde etkilendiğini ifade etmiştir. Araştırmacı Ni ve Cr uygulamalarının 10. gününde kök - gövde uzunlukları ile yaprak gelişiminin, kontrol bitkilerine göre önemli ölçüde azaldığını bildirmiştir.

Srivastava vd. (2006), *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle bitkisine farklı konsantrasyonlarda Cu uygulamalarının, antioksidant ve fitokelatin cevapları üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan Cu konsantrasyonlarında oksidatif stres sonucu yapraklarda elektrik iletkenliğinin (EL), SOD ve AP aktivitelerinin arttığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar zamana bağlı olarak değerlendirdikleri KAT aktivitesinin, 1 μM Cu uygulamasının 7. günün de kontrole göre % 108 oranında arttığını ancak 25 μM Cu uygulamasında kontrole göre % 42 oranında azaldığını ifade etmişlerdir.

Zou vd. (2006), *Amaranthus viridis*' de farklı konsantrasyonlardaki Cr (VI) uygulamalarının kök gelişimine etkisini incelediği çalışmalarında, 24 saat 10^{-3} M Cr (VI) uygulaması sonucu kök gelişiminin önemli ölçüde azaldığını, 10^{-4} M Cr (VI) uygulamasının kök gelişimini daha az etkilendiğini ve 10^{-5} M Cr (VI) uygulamasının ise kök büyümesinde uyarıcı bir etki yaptığını bildirmişlerdir.

Hosseini vd. (2007), *Brassica napus* cv. Pf 7045 91 ve Hyola 40 çeşitlerine farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 μM) Pb uygulamaları sonucu her iki çeşidin çimlenme ve gelişiminde önemli bir azalışın olduğunu, bitkilerin kök ve gövdelerinde katalaz ve peroksidaz enzim aktivitelerinin Pb konsantrasyonuna bağlı olarak arttığını ifade etmişlerdir.

Singh vd. (2007), *T. aestivum* fidelerinde 5, 25, 50 ve 100 mg L^{-1} Cu uygulamalarının 14. ve 21. günler de, tohum çimlenmesi ve gelişimi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, % çimlenme oranının, plumula ve radikula uzunluğunun, lateral kök sayısının ve sürgün taze ağırlığı ile su içeriğinin artan Cu konsantrasyonlarında azaldığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar klorofil miktarının 14. ve 21. günler de kontrole göre önemli ölçüde azalırken, karotenoid miktarının 14. gün de arttığını ancak 21. gün de tekrar kontrole göre azaldığını ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar katalaz ve peroksidaz aktivitelerini de inceledikleri çalışmalarında, her iki enzim aktivitesinin de artan Cu konsantrasyonlarına bağlı olarak arttığını ifade etmişlerdir.

Pourakbar vd. (2007), *Zea mays* fidelerinin 0, 25, 50, 75 ve 100 μM Cu içeren besin solüsyonunda yetiştirilmesi sonucu artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak klorofil a, b ve karotenoid miktarı ile nitrat redüktaz aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını ancak serbest amino asit miktarının arttığını ifade etmişlerdir.

Gautam vd. (2008), *Vigna radiata* fidelerinde 0, 0.01, 0.1, 1.0 ve 2.0 mM Pb uygulamalarının tohum çimlenmesi ve bitki büyümesi üzerine etkilerini incelediği çalışmalarında, artan Pb konsantrasyonlarına bağlı olarak klorofil, karotenoid ve çözümlü protein miktarının önemli ölçüde değiştiğini ifade etmişlerdir. Artan Pb konsantrasyonlarında klorofil, karotenoid ve çözümlü protein miktarının kontrole göre önemli düzeyde azaldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar 0.01 ve 0.1 mM Pb uygulamalarında kontrole göre çözümlü protein miktarında bir artış, 1.0 ve 2.0 gibi yüksek Pb konsantrasyonlarında ise önemli ölçüde bir azalışın olduğunu tespit etmişlerdir.

Subrahmanyam (2008), *T. aestivum* fidelerinde 0.10, 0.15 ve 0.25 mM $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ uygulamaları sonucu 20. gün sonunda kök ve gövde kuru ağırlığının önemli ölçüde azaldığını ve bu azalışın gövde de kökten daha fazla olduğunu ifade etmiştir. Araştırmacı artan ağır metal konsantrasyonuna bağlı olarak klorofil a miktarının kontrole göre sırasıyla % 16.5, % 22.3 ve % 40.5, klorofil b miktarının ise kontrole göre sırasıyla % 19.4, % 46.1 ve % 55.6 oranında azaldığını ifade etmiştir. Ayrıca araştırmacı 8. ve 14. günlerde KAT ve AP aktivitelerindeki değişimleri de incelemiştir. 0,1 mM Cr uygulamalarında katalaz aktivitesinin 8. günde % 7, 14. günde ise % 28 oranında azaldığını bildirmiştir. AP aktivitesindeki en fazla azalışın % 22.3 ile 14. gün 0.25 mM Cr uygulamasında olduğunu ifade etmiştir.

Doğan ve Çolak (2009), *T. aestivum* cv. Tosunbey fidelerinde 0, 10 ve 100 mg L^{-1} konsantrasyonlarındaki Pb uygulamalarının, büyüme ve gelişmeyi engellediğini, bitkinin kök ve otsu gövdelerinde çözümlü protein ve fenolik bileşiklerin miktarını azalttığını ifade etmişlerdir.

Ergün ve Öncel (2010), *Lens esculenta* fidelerinde büyüme ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine farklı konsantrasyonlardaki Cd ve Zn metallerinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan Cd konsantrasyonlarına bağlı olarak gövde kuru ağırlığının, fide büyümesinin, çözümlü protein ve çözümlü fenolik içeriğinin azaldığını, buna karşılık metal iyonlarının artışına bağlı olarak hem kök hem de gövde de prolin miktarının arttığını belirtmişlerdir.

2.3. Sıcaklık – Ağır Metal Etkileşimleri

Bitki büyümesi ve gelişimi için gerekli olan en önemli çevre faktörlerinden birisi sıcaklıktır (Graham ve Patterson, 1982; Vierling, 1991). Sıcaklık stresi sonucu meydana gelen metabolik değişimlere ek olarak topraktaki ağır metal kontaminasyonlarının da artması, bitki büyüme ve gelişimini önemli ölçüde etkilemektedir. Nitekim Öncel vd. (2000), farklı konsantrasyonlardaki Pb ve Cd (0, 50, 100, 250 ve 500 mg L⁻¹) ağır metalleri ile birlikte uyguladıkları 8/4, 25/18 ve 35/26 °C (gündüz/gece) sıcaklık denemelerinin *T. aestivum* fidelerinin Gerek-79 ve Bolal-2973 çeşitleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, yüksek konsantrasyonda Cd uygulamaları sonucu bitki boyu ve toprak üstü kısımlarının kuru ağırlığında kontrole göre önemli seviyede bir azalışın olduğunu ifade etmişlerdir. Metal konsantrasyonuna ve sıcaklık değişimlerine bağlı olarak toplam klorofil içeriğinin Gerek-79 çeşitinde, düşük sıcaklıkta Cd uygulamaları sonucu kontrole göre % 50 civarında azaldığını ve bu azalmanın Bolal-2973 çeşitinde kontrole göre % 70 civarında olduğunu tesbit etmişlerdir. Yüksek sıcaklık Cd uygulamalarında ise Gerek-79 'da klorofil miktarının kontrole göre % 35 oranında azaldığı, Bolal-2973' de ise bu azalışın % 30 civarında olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, her iki çeşitte Pb ile birlikte uygulanan farklı sıcaklık derecelerinin serbest prolin miktarında önemli bir artışa neden olmadığını ifade etmişlerdir. Cd ile birlikte uygulanan düşük ve yüksek sıcaklık denemelerinde, Bolal-2973 çeşidi fidelerde serbest prolin miktarlarının arttığını, Gerek-79 fidelerinde ise özellikle düşük sıcaklıkta ve yüksek Cd konsantrasyonlarında serbest prolin miktarının arttığını ifade etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

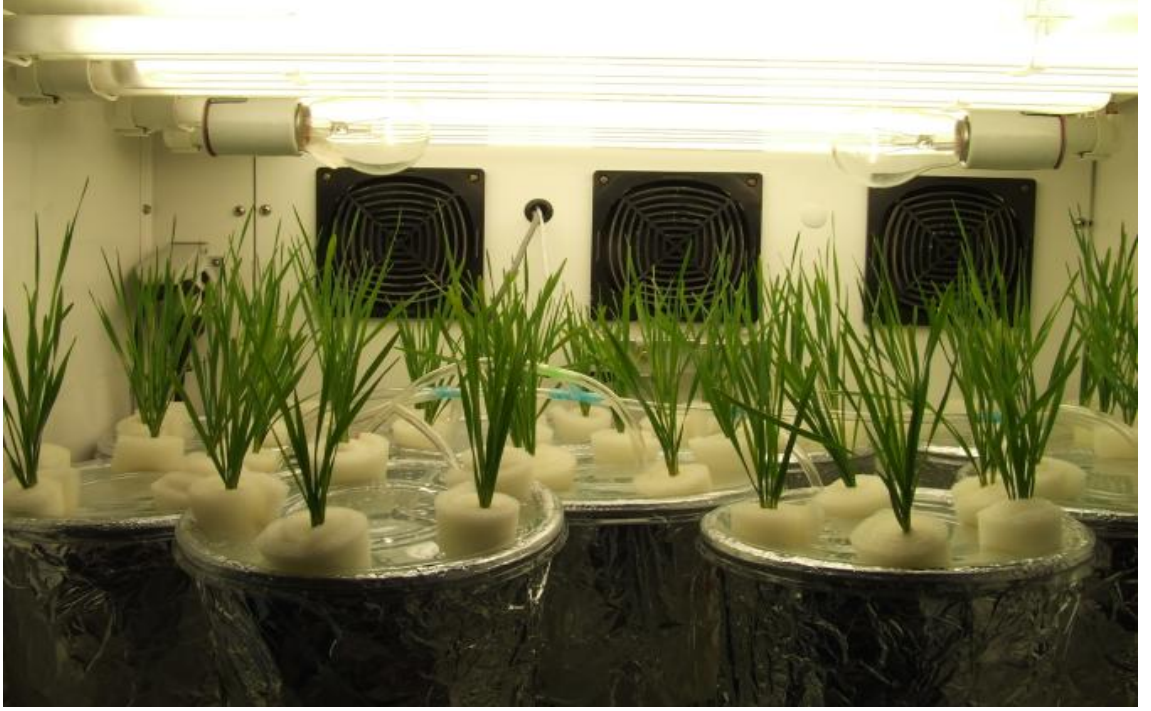
3.1. Materyal

Araştırmamızda bitki materyali olarak kuraklığa dayanımının iyi olduğu belirlenmiş olan buğday tohumları (*Triticum aestivum* L. cv. Dağdaş 94) kullanılmıştır (<http://www.ktb.org.tr>). Buğday tohumları Adana Çukurova Ziraat Fakültesi'nden temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Yetiştirme Koşulları

Çalışmamızda materyal olarak kullanılan fidelerin yetiştirilmesi sürecinde buğday tohumları 20 dakika % 2'lik sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisi ile (Rubio vd., 1994) steril edildikten sonra, distile su ile yıkanıp, petrielerde distile su ile nemlendirilmiş filtre kağıdı arasında 24 ± 2 °C'lik inkübatörde 48 saat süre ile çimlendirilmeye bırakılmıştır. Çimlendirilen tohumlar kum-perlit karışımı (1:1, v:v) (kum çapı ortalama olarak 0,7 mm, perlit çapı ortalama 2,8 mm) bulunan kavatalarda iklim kabininde beş gün distile su ile sulanarak büyütülmüştür. Beşinci günün sonunda fideler kum-perlit karışımından çıkarılmış ve kökler distile su ile zarar verilmeden iyice yıkanmıştır. Fidelerin su kültürü tekniği ile yetiştirilmesinde iki litrelik, dışı ışık geçirmeyecek şekilde alüminyum folyo ile sarılmış (Salisbury ve Ross, 1992) plastik kaplar kullanılmıştır. Plastik kapların ağız kısmına fideleri yerleştirmek üzere 6 adet delik bulunan özel kapaklar hazırlanmış ve kapakların üzeri yine alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Her kaba iki litre besin çözeltisi konulmuştur. Besin çözeltisi olarak pH'ı 5.7'ye ayarlanmış tam güçlü Arnon ve Hoagland (1940) çözeltisi kullanılmıştır. Daha sonra fidelerin kök-sürgün ayırım bölgesi bir parça sünger ile sarılmış ve fideler kapak üzerindeki 5 adet deliğe ayrı ayrı yerleştirilmiştir. Deliklerden biri ise çözeltiyi havalandırmak amacıyla kullanılmıştır. Kaplarda bu şekilde hazırlandıktan sonra iklim kabinine yerleştirilmişlerdir.



Şekil 3.1. *Triticum aestivum* fidelerinin besin solüsyonuna alınması ve büyütme kabiniinde yetiştirilmesi.

Fideler, gün boyu havalandırılmak suretiyle 10 gün büyütülmüşlerdir. 5. gün kaplardaki çözeltiler dökülüp yeni besin çözeltileri ile doldurulmuştur. Ağır metal (krom ve bakır) uygulamaları (fideler 10 günlük iken) besin çözeltilerine karıştırılmak suretiyle yapılmıştır. Ağır metallerin kimyasal safılıktaki potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) ve bakır sülfat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) formları kullanılmıştır. Bu metaller kontrol 0, 10, 30 μM Cr ve kontrol (0,32 μM), 10, 30 μM Cu olacak şekilde besin solüsyonuna ilave edilmiştir. Bitkiler iklim kabiniinde ortalama 24 ± 2 °C sıcaklıkta, nisbi nemin % 66 ve ışık koşullarının ortalama 1198 lüks olduğu koşullarında yetiştirilmiştir.

Deneme iki farklı sıcaklıkta yürütülmüştür. **Birinci deneme;** bitkiler iklim kabiniinde ortalama 16/24 °C (gece/gündüz) sıcaklıkta yetiştirilmiştir. Ağır metal uygulamasından sonraki 5. (fideler 15 günlük iken) günde fideler hasat edilmiştir. **İkinci deneme** de ise başlangıç koşulları değiştirilmeden ağır metal uygulamalarının 4. gününe kadar aynı işlemler tekrarlanmıştır. Ağır metal uygulamalarının 4. gün bitiminde (fideler 14 günlük iken) kabin sıcaklık ayarı 16/24 °C' den (gece/gündüz) 30/40 °C' ye (gece/gündüz) çıkarılarak fideler 24 saat yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılmıştır. Her deneme ünitesi 3 tekrarlı yürütülmüştür. Deneme süresince kapların

yerleri tesadüfi olarak belirlenmiş ve kendi aralarında her gün saat yönünde rotasyonla düzenlenerek tekdüzelik sağlanmıştır. Bitkiler, bu işlemlerin akabinde hasat edilmiştir.

Hasat sonrasında bitki büyüme, oransal su içeriği, membran dayanıklılık ve klorofil ölçümleri taze materyalden gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal analizler için ayrılan fidelerin kökleri kök-sürgün ayırım bölgesinden kesilmiş ve sürgünler çözünür protein, prolin ve enzim analizleri için küçük parçalar halinde derin dondurucuda, -80 derecede saklanmıştır.

3.2.2. Bitki Büyüme Ölçümleri

Hasattan sonra farklı sıcaklık ile Cr ve Cu uygulamaları yapılan fideler arasından tesadüfi bloklar deneme desenine göre seçilen 9 fidede kök ve sürgün boyları cm olarak ölçülmüştür. Daha sonra fideler kök-sürgün ayırım bölgesinden kesilerek kök ve sürgün taze ağırlıkları ayrı ayrı belirlenmiştir.

3.2.3. Kuru Madde Tayini

Fidelerde kuru madde miktarı hasattan sonra taze ağırlıkları alınan örnekler 110 °C'lik etüvde 24 saat kurutulmuş ve kuru ağırlıkları tayin edilmiştir.

3.2.4. Oransal Su İçeriği (OSİ)

Tesadüfi bloklar deneme desenine göre seçilen 9 fidenin sürgün yapraklarından 4 mm çapında alınan disklerden OSİ ölçümleri 9' ar tekrarlı olarak yapılmıştır. 0,1 g yaprak örneği alınmış ve içerisinde saf su bulunan petri kaplarında, 25 °C de 2 saat boyunca bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda diskler sudan çıkarılmış ve turgorlu ağırlıkları (TuA) belirlenmiştir. Aynı diskler 110 °C' de 24 saat süre ile kurutulup, kuru ağırlıkları (KA) ölçülmüş, bu verilerden yararlanarak aşağıdaki formüle göre OSİ hesaplanmıştır.

$$OSİ = (TA - KA) / (TuA - KA) \times 100$$

3.2.5. Membran Dayanıklılık İndeksi (MDİ)

Membran dayanıklılık indeksi yüzdeleri yaprak ve kök segmentlerinde Sairam vd. (1997)' e göre belirlenmiştir. Kontrol ve sıcaklık + ağır metal uygulamalarından hemen sonra birinci yaprak ayasının en geniş yerinden ve kökten ayrı ayrı birer cm'lik 5

segment alınmıştır. Bu segmentler membran dayanıklılık indeksinin belirlenmesi amacı ile içerisinde 5ml. deiyonize su bulunan tüplere konulmuş ve 24 saat çalkalayıcıda tutulmuştur. Bu sürenin sonunda elektriki iletkenlikleri (EL1) ölçülmüştür. Daha sonra bu örnekler 100 °C su banyosunda 30 dakika kaynatılıp tekrar elektriki iletkenlikleri (EL2) ölçülmüştür. Bulunan değerlerden MDİ aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Sairam vd.,1997).

$$MDİ (\%) = (1 - EL1 / EL2) \times 100$$

3.2.6. Pigment Analizi

Yaprak dokularındaki klorofil *a* ve *b*, toplam klorofil (*a* + *b*) ve karotenoid miktarları (mg gr⁻¹ T.A.) Arnon (1949)' a göre belirlenmiştir.

Sıcaklık+ağır metal uygulamalarından sonra hasat edilen fidelerin birinci yapraklarının en geniş yerinden beşer cm'lik segmentler alınıp tartılmıştır. Segmentler, küçük parçalara ayrılarak 10 ml % 80' lik aseton ile havanda ezilerek süzölmüştür. Daha sonra spektrofotometrede (1240 UV/Vis. Spectrophotometer) 663, 645 ve 470 nm'deki absorbans değerleri kaydedilmiştir. Pigment miktarları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır (Arnon, 1949).

$$Kla (AR) = [(12.7 \times A663) - (2.69 \times A645)]$$

$$Klb (AR) = [(22.9 \times A645) - (4.68 \times A663)]$$

$$Kla+b (AR) = [(20.21 \times A645) + (8.02 \times A663)]$$

$$Kla/b (AR) = Kla (AR) / Klb (AR)$$

Daha sonra bu değerler, Porra (2002)'ın önerisi dikkate alınarak aşağıdaki gibi düzeltilmiştir.

$$Kla (P) = Kl a+b (P) \times Kl a/b(P) / (Kla/b (P) + 1)$$

$$Klb (P) = Kl a+b (P) / (Kl a/b (P) + 1)$$

Burada gerekli olan Kla+b ve Kla/b değerleri aşağıdaki eşitliklere göre hesaplanmıştır.

$$Kla+b (P) = 0.895(Kla+b (AR))$$

$$Kla/b (P) = (0.593 + 0.459 (Kla/b (AR)) + 0.229 (Kl a/b (AR)) \times 2$$

Düzeltilmiş konsantrasyon değerleri ele alınarak önce birim yaprak ağırlığı başına klorofil pigment miktarları (mg g⁻¹)aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$Kla (mg g^{-1}) = Kla (P) \times (V/W)$$

$$Klb (mg g^{-1}) = Klb (P) \times (V/W)$$

$$Kla+b (mg g^{-1}) = Kla+b (P) \times (V/W)$$

3.2.7. Serbest Prolin Analizi

Serbest prolin analizi için, 0.5 g taze materyal 10 ml %3' lük sülfosalisilik asit ile havanda ezilerek süzüntü 24 saat +4 °C' de bekletilmiştir. Homojenat Whatman No: 2 ' den süzülerek cam tüplere konulmuştur. Süzüntünün 2 ml' si üzerine 2 ml ninhidrin çözeltisi ve 2 ml glasiyel asetik asit ilave edilerek su banyosunda 100 °C' de 1 saat bekletilmiştir. Bu işlem sonucunda tüpler oda sıcaklığına alınarak üzerlerine 4 ml soğuk toluen konularak 15 - 20 sn vortekslenmiştir. Toluene fazı absorbanı 520 nm' ye ayarlanmış spektrofotometrede prolin standardına karşı ölçülmüştür (Bates vd., 1973).

3.2.8. Enzim Analizleri

3.2.8.1. Askorbat Peroksidaz (AP, E.C. 1.11.1.11)

Askorbat peroksidaz (AP) aktivitesi, Çakmak ve Marschner (1992) ve Çakmak (1994)'e göre 290 nm'de askorbat oksidasyon oranı ölçülerek saptanmıştır. Reaksiyon karışımı (1ml), 50 mM fosfat tamponu (pH 7.6), 0,1 mM EDTA, 12 mM H₂O₂, 0,25 mM L(+) askorbik asit (ASA) ve enzim ekstraktından oluşmaktadır. (Çakmak ve Marschner 1992).

50 mM P tamponu hazırlanışı:

A) KH₂PO₄ (MA: 136.09 g mol⁻¹)

B) K₂HPO₄ * 3H₂O (MA: 228.23 g mol⁻¹)

A+B karıştırılarak pH: 7.6' a ayarlanılır.

3.2.8.2. Katalaz (KAT, E.C. 1.11.6.1)

Katalaz enzim aktivitesi (KAT), spektrofotometrede 240 nm'de H₂O₂'in parçalanma oranına bağlı olarak ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı (1ml), 50 mM fosfat tamponu (pH 7.6), 0,1 mM EDTA, 100 mM H₂O₂ ve enzim ekstratından oluşmaktadır (Çakmak ve Marschner 1992).

50 mM P tamponu hazırlanışı:

A) KH₂PO₄ (MA: 136.09 g mol⁻¹)

B) K₂HPO₄ * 3H₂O (MA: 228.23 g mol⁻¹)

A+B karıştırılarak pH: 7.6' a ayarlanılır.

3.2.9. Çözünür Protein Analizi

Örneklerin çözünür protein analizi için 0,5 g bitki örneği %80' lik aseton ile önceden soğutulmuş havan içerisinde ekstrakte edilmiş ve 10 dk çalkalanmıştır. Karışım 10.000 rpm' de 10 dk santrifüjlenerek süpernatant atılmıştır. Çökelti üzerine 0,1 M Tris-HCl (pH: 8) tamponundan 2 ml ilave edilerek 3.000 rpm' de 5 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant, 8 ml %100' lük aseton ile karıştırılarak 15.000 rpm' de 10 dk tekrar santrifüjlenmiş ve proteinler çöktürülmüştür. Çökelti üzerine 0,1 M Na(OH)' tan 2 ml eklenerek proteinler süspansiyon edilmiş ve bunun 1 ml' si tayin için spektrometreye alınmıştır (Jordan vd., 1992). Çözünür protein konsantrasyonları 600 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede bovin serum albumin standartlarına karşı ölçülerek belirlenmiştir (Lowry vd., 1951). Bovin serum albumin proteininin değişik konsantrasyonlarındaki absorbans değerlerinden yararlanılarak elde edilen protein standart grafiğine göre örneklerin çözünür protein miktarları hesaplanmıştır.

3.2.10. Elektroforez Analizi

3.2.10.1. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (PAGE)

Protein analizleri Laemmli'ye göre % 5'lik yığılma ve % 12'lik ayırma jel kullanarak sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezinde (mini Clever SDS-PAGE) yapılmıştır (Laemmli, 1970).

3.2.10.2. SDS-Poliakrilamid Jellerinin Hazırlanması

Ayırma Jeli: 4 ml Akrilamid/Bis Akrilamid (% 30'lük), 3.3 ml distile su, 2.5 ml 1,5 M Tris-HCl (pH: 8,6), 100 µl % 10'lük APS (amonyum per sülfat), 100 µl % 10'lük SDS birbirine karıştırıldıktan sonra 4 µl TEMED (N,N, tetraetilen diamid) ilave edilerek, 1 mm aralığa sahip iki jel camı arasına hızlı bir şekilde dökülmüştür. Jelin üst kısmı distile su ile kaplanıp hava ile teması önlenerek polimerize olması sağlanmıştır.

Yığılma Jeli: 1,4 ml % 30'lük Akrilamid/Bis Akrilamid, 0,36 ml distile su, 0,25 ml 1 M Tris-HCl (pH: 6.8), 20 µl % 10'lük APS ve 20 µl % 10'lük SDS birbiri ile karıştırıldıktan sonra 2 µl TEMED ilave edilmiştir. Bu karışım polimerize olan ayırma jelinin üzerindeki distile su uzaklaştırıldıktan sonra ayırma jeli üzerine dökülmüştür.

Tarak yerleştirilmiş ve jelin polimerize olması sağlanmıştır. Polimerize olan jelden tarak çıkarılmış, jel tanka sabitlenmiş ve elektroforez düzeneği (Clever Vertical Electrophoresis) yürütme tamponu ile doldurulmuştur.

Stok Yürütme Tamponu (pH; 8.3) (5x): 25 mM Tris, 250 mM Glisin, % 1 (w/v) SDS, distile su karıştırılarak hazırlanmıştır.

Protein marker (BioLabs-P7702S) (2 µl) ve örnekler (15 µl) kuyucuklara yüklenmiş ve güç kaynağı bağlantısı ile 24 mA'de 100 voltta ortalama 4 saat yürütülmüştür.

Stok Boya Çözeltilisi: % 0,005 Coomassie Brilliant mavisi % 50 (v/v) metanol, % 10 (v/v) asetik asit ve % 40 distile H₂O ile karıştırılarak hazırlanmıştır.

Elektroforez işleminin bitmesinin ardından jeller, boya çözeltisi içerisinde bir gece bekletilmiştir. Jeller distile su ile eşit aralıklarla yıkanarak jellerin zemininde bulunan fazla boyanın giderimi sağlanmıştır.

3.3. İstatistiksel Analizler

Sonuçlar, aritmetik ortalamaların (\bar{x}) ve standart hataların ($S_{\bar{x}}$) hesaplaması ile değerlendirilmiştir (Apaydın vd., 2002). Deneme sonucunda elde edilen değerlerin karşılaştırılmasında varyans analizi tekniğinden yararlanılmıştır. Varyans analizi tekniğinde karşılaştırılan gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmuş ise farklı olan grupların belirlenmesinde çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Duncan testi kullanılmıştır.

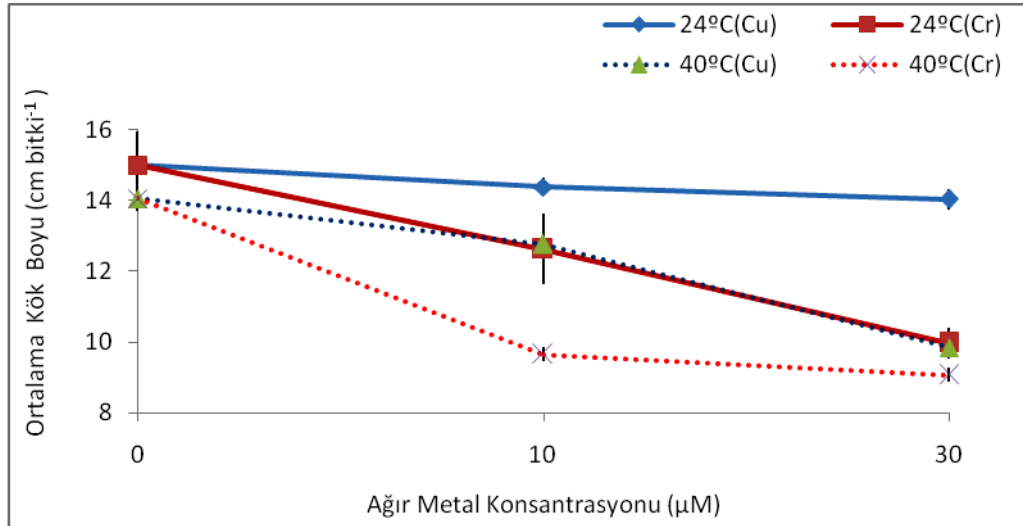
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, kontrol grubu ile 10 ve 30 μM konsantrasyonlarında Cr ve Cu uygulamalarına maruz kalan fideler arasındaki farkları ve ayrıca bu ağır metallere birlikte yapılan 2 farklı sıcaklık (16/24 $^{\circ}\text{C}$ ve 30/40 $^{\circ}\text{C}$) uygulamalarının buğday fideleri üzerine etkilerini ortaya koyacak şekilde ele alınmıştır. Denemelerde kullanılan buğday fidelerinde kök ve sürgün boyu, kök, sürgün taze ve kuru ağırlığı, kök/sürgün oranı, oransal su içeriği, kök - gövde MDİ, klorofil (a, b, toplam ve a/b oranı), karotenoid miktarı, AP ve KAT enzim aktiviteleri, serbest prolin, çözümlü protein ve çözümlü proteinlerin SDS-PAGE' de analizleri incelenmiştir.

4.1. Sıcaklık - Ağır Metal Etkileşimlerinin Bitki Büyümesi Üzerine Etkileri

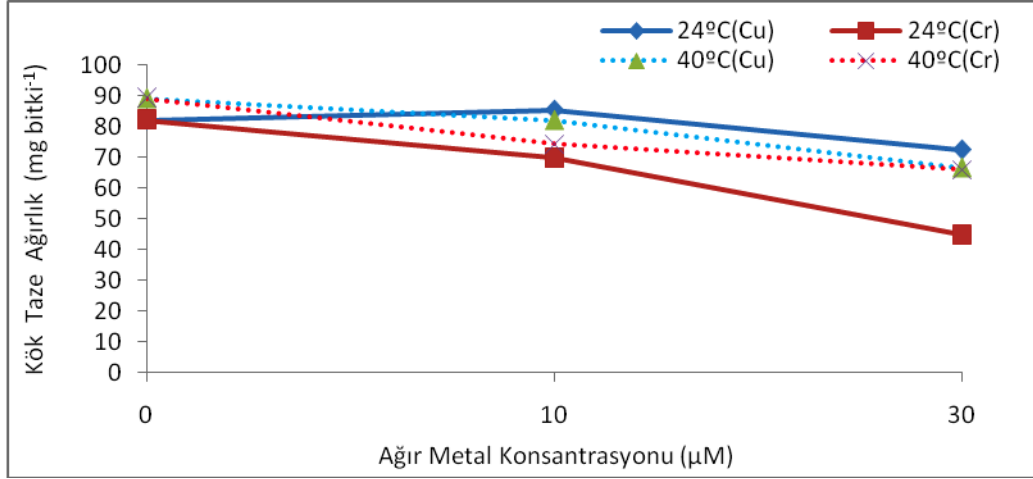
4.1.1. Kök Gelişimine Etkileri

Araştırmada bitki büyüme parametreleri incelendiğinde, gerek sıcaklık ve ağır metal gerekse de ağır metallerin konsantrasyonları arasında buğday fidelerinin kök boyunda meydana gelen farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Sıcaklık+ağır metal+ağır metallerin konsantrasyonları arasındaki etkileşimler ise kök boyunda önemli bir azalmaya neden olmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.1, Ek 1-2).



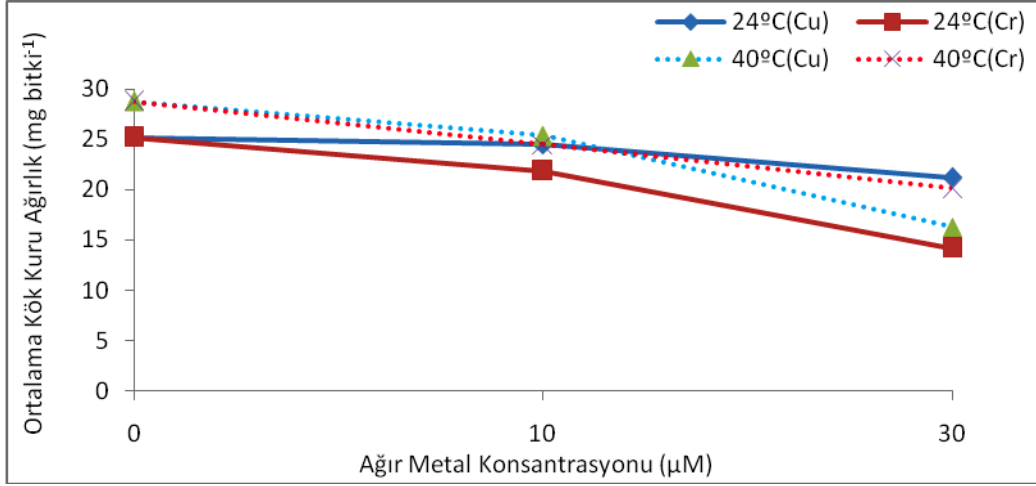
Şekil 4.1. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde ortalama kök boyuna etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Kök taze ağırlığı incelendiğinde, gerek sıcaklık ($p < 0,05$), ağır metal ve gerekse de ağır metallerin konsantrasyonları arasında buğday fidelerinin kök taze ağırlıklarında meydana gelen azalmalar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Ayrıca sıcaklık+ağır metal etkileşimleri sonucu kök taze ağırlığında önemli ölçüde azalma meydana gelmiştir ($p < 0,01$) (Şekil 4.2, Ek 3-4).



Şekil 4.2. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde ortalama kök taze ağırlığına etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Sıcaklık ($p < 0,05$) ve ağır metal konsantrasyonları arasında buğday fidelerinin kök kuru ağırlıklarında meydana gelen azalmalar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.3, Ek 5-6).



Şekil 4.3. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde ortalama kök kuru ağırlığına etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Öncel vd. (2000), farklı konsantrasyonlardaki Pb ve Cd (0, 50, 100, 250 ve 500 mg/l) ağır metalleri ile birlikte uyguladıkları 8/4, 25/18 ve 35/26 °C (gündüz/gece) sıcaklık denemelerinin buğday fideleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 35/26 °C sıcaklık parametresi ile birlikte 250 mg L⁻¹ Cd uygulamasının buğday fidelerinde kök büyümesini önemli ölçüde azalttığını ayrıca Cd uygulaması sonucu buğday fidelerinde % kuru ağırlığın arttığını ancak Pb uygulamalarında % kuru ağırlıkta önemli bir artışın olmadığını ifade etmişlerdir.

Özcan (2003), doku kültüründe yetiştirdikleri *Hordeum vulgare* L. 'nin Zafer - 160 varyetesinde 40-80 µM CuSO₄ uygulamasının bitki gelişimini teşvik ettiğini ancak 400-1600 µM CuSO₄ uygulamalarının bitki büyümesini önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir. Araştırmacı Cu konsantrasyonu arttıkça çimlenme oranının, kök ve gövde gelişiminin önemli ölçüde azaldığını ifade etmiştir.

Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2004), 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ içeren Hoagland solüsyonlarında büyütülen fasulye fidelerinin primer kökleri, uygulamanın ikinci gününde kontrole göre, sırasıyla % 18.2, % 20.8 ve % 21.3 oranlarında daha az büyüdüğünü ifade etmişlerdir (p< 0.05). On günlük uygulama süresinin sonunda yapılan ölçümlerde ise 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ konsantrasyonlarında fidelerin primer kök uzunluğunu kontrol bitkilerine göre, sırasıyla % 31.4, % 32.8 ve % 34.5 oranlarında azalttığını (p< 0.01) ifade etmişlerdir.

Jamal vd. (2006), *T. aestivum* (cv. Anmol ve cv. Kiran) fidelerinde çimlenme ve erken fide evresinde farklı konsantrasyonlardaki (0, 40, 80, 120 ve 160 ppm) Al ve Cr metallerinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, tohum çimlenmesi ve kök uzunluğunun kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ayrıca Al ve Cr uygulamaları kuru ağırlıkta bir değişime neden olmasa da iki metalin birlikte uygulanması sonucu her iki çeşitte de kuru ağırlığın arttığını ifade etmişlerdir.

Zou vd. (2006), *Amaranthus viridis* 'de farklı konsantrasyonlardaki Cr (VI) uygulamalarının kök gelişimine etkisini incelediği çalışmalarında, 24 saat 10^{-3} M Cr (VI) uygulaması sonucu kök gelişiminin önemli ölçüde azaldığını, 10^{-5} M Cr (VI) uygulamasının ise kök büyümesinde uyarıcı bir etki yaptığını ifade etmiştir.

Bouazizi vd. (2007), 10 gün boyunca hidroponik ortamda yetiştirilen *Zea mays* fidelerine 7 gün boyunca 50 ve 100 μ M CuSO_4 'e maruz bıraktıklarında kök ve gövde uzamasının önemli ölçüde azaldığı ve kök gelişiminin gövde gelişiminden daha fazla etkilendiğini ifade etmişlerdir.

Singh vd. (2007), *T. aestivum* 'da tohum çimlenmesi ve gelişimi üzerine farklı konsantrasyonlardaki Cu uygulamalarının etkilerini inceledikleri çalışmalarında, % çimlenme oranının, plumula ve radikula uzunluğunun ve yan (lateral) kök sayısının artan Cu konsantrasyonlarında kontrole göre azaldığını ifade etmişlerdir.

Ergün ve Öncel (2009), *T. aestivum* fidelerinde Pb, Zn ve Cd ağır metalleri ve bu ağır metallerle birlikte ABA ve GA_3 hormon etkileşimlerinin kök ve sürgün büyümesi üzerine etkileri zamana bağlı olarak araştırmışlardır. Sonuçta her üç metalin yüksek konsantrasyonları ve bu ağır metallerle birlikte uygulanan ABA ve GA_3 ' un buğday bitkisinin kök ve sürgün büyümesini engellediğini bildirmiştir. Ağır metallerin konsantrasyon ve uygulama süresinin (5 ve 10 gün) artışına paralel olarak kök ve sürgün büyümesinin engellenmesi arasında bir paralelliğin olduğunu saptamıştır. Ayrıca araştırmacılar çalışılan parametreler üzerinde genel olarak en toksik etkinin Cd denemelerinde görüldüğünü ifade etmişlerdir.

Kök büyümesinin metal toksisitesine çok fazla duyarlı olduğu belirtilmiştir (Foy vd., 1978). Ağır metallere maruz kalan buğday fidelerinde kök büyümesinde meydana gelen inhibisyonlar bakımından bulgularımız Jamal vd. (2006), Bouazizi vd. (2007), Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2004), Singh vd. (2007), Zou vd. (2006) ve Ergün ve Öncel (2009)' in bulgularını desteklemektedir. Bununla birlikte Özcan (2003), 40-80

μM CuSO_4 uygulamasının bitki gelişimini teşvik ettiği yöndeki bulguları ile bizim kök gelişimi ile ilgili bulgularımıza zıt düşmektedir. Ağır metallerin kök büyümesi üzerine engelleyici etkilerinin bitki türü ve büyüme koşullarına göre değiştiği ifade edilmiştir (Greger vd., 1991).

Bir ağır metal olan Cu'nun bitki gelişimi için gerekli bir mikrobeselementi olduğu bilinmektedir. Bitki bünyesinde birçok fizyolojik işlevlere katılan Cu çok sayıda metalloprotein için gerekli bir kofaktördür. Bununla birlikte, hücrelerde toksik seviyede Cu bulunması durumunda hücresel metabolizma (fotosentetik elektron transfer sistemi gibi) aksayarak bitki gelişimi inhibe olmaktadır. Cu, fotosentetik elektron akseptörü olan plastosiyanin, sitokrom oksidaz, askorbik asit oksidaz gibi redoks enzimlerinin kofaktörüdür. Yine superoksit radikallerinin (O^{2-}) parçalanmasını sağlayan superoksit dismutaz enzimi de Cu ihtiva eden bir diğer enzimdir (Kadıoğlu, 2007). Hücresel seviyede; proteinlerin sülfhidril (tiyol) gruplarını bağlaması ve böylece enzim aktivitesini veya protein fonksiyonlarının bozulması durumunda, diğer esansiyel iyonların yetersizliğinde indüksiyonlarının artması, hücre transport sisteminin bozulması ve oksidatif hasar durumlarında hücredeki Cu konsantrasyonları toksik seviyelere çıkmaktadır (Assche ve Clijsters 1990; Meharg, 1994). Cu^{+2} ve Cu^+ arasındaki redoks döngüsü ile aşırı derecede toksik olan OH^{\cdot} radikallerinin oluşumu katalizlenir ve ilerleyen durumlarda DNA, protein, lipid ve diğer biyomoleküllerin ciddi hasar görmesiyle sonuçlanmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1984). Bununla birlikte hücrede Cu'nun eksik veya fazla bulunuşu birçok fizyolojik işlevleri etkileyerek bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilemektedir. Aşırı toksik seviyelerdeki Cu konsantrasyonlarında nekrozis, klorozis, bodurluk, yaprakta renk kaybı ve kök büyümesinin engellenmesi gibi semptomlar ortaya çıkmaktadır (Van Assche ve Clijsters 1990; Marschener, 1995).

Köklerde yapraktan ve gövdeden daha fazla Cr birikimi olmaktadır. Köklerdeki fazla Cr birikiminin nedeni kök hücre vakuollerinde Cr birikiminin yapılmasından kaynaklanabilir. Bu durumun belki de bitkilerin Cr toksisitesine doğal yoldan verdikleri bir cevap olduğu düşünülmektedir (Shankar vd. 2004). Ağır metallerin etkisiyle kökün kahverengileştiği ve kahverengileşmenin suberin miktarının artmasıyla oluştuğu, bu durumun da su alımını sınırladığı ileri sürülmüştür (Barcelo vd. 1990). Cr ile kirlenmiş topraklarda kök büyümesindeki bu azalış, köklerin bulunduğu ortamdan su absorblama

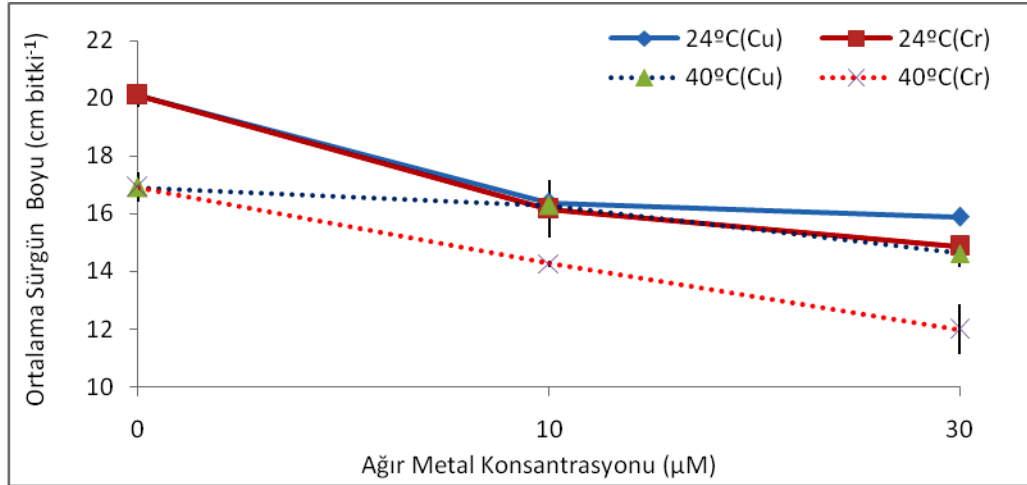
yeteneklerini yitirmelerinden dolayı ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (Barcelo vd., 1986).

Kök büyümesi sıcaklıkla önemli derecede inhibe olmaktadır. Sıcaklığa bağlı kök büyümesinde meydana gelen azalma ile ilgili bulgularımız Efeoğlu (2006)' nın verileri ile uyumludur.

Çalışmamızda yüksek sıcaklık koşulları altında ağır metal konsantrasyon artışına paralel olarak kök gelişiminde meydana gelen azalma ile ilgili bulgularımız Öncel vd. (2000)' in 35/26 °C sıcaklık parametresi ile birlikte 250 mg L⁻¹ Cd uygulamasının buğday fidelerinde kök büyümesini önemli ölçüde azalttığını ifade eden bulguları ile uyumludur.

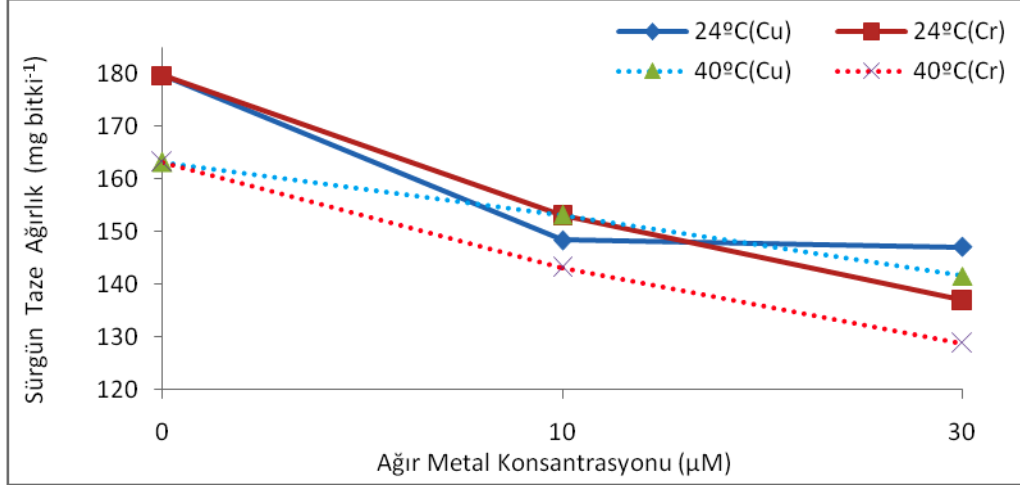
4.1.2. Sürgün Gelişimine Etkisi

Araştırmada bitki büyüme parametreleri incelendiğinde, buğday fidelerinin sürgün boyunda; sıcaklık, ağır metal ve ağır metallerin konsantrasyonları arasındaki farklara bağlı azalmalar önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Sıcaklık+ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşimler de sürgün boyunda azalmaya neden olmuştur ($p < 0,05$) (Şekil 4.4 Ek 7-8).



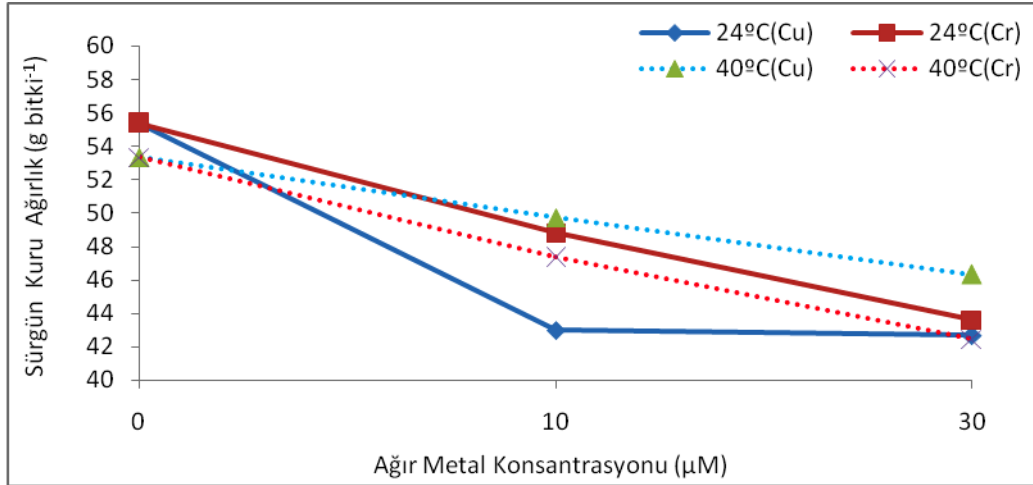
Şekil 4.4. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde ortalama sürgün boyuna etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Sürgün taze ağırlığında meydana gelen sıcaklığa ve ağır metal konsantrasyonuna bağlı azalmalar ($p < 0,01$) seviyesinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.5, Ek 9-10).



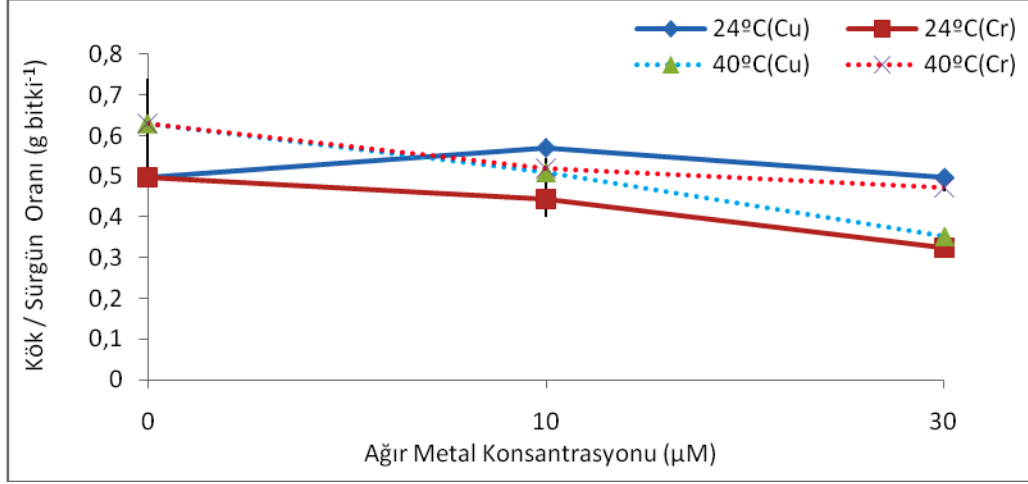
Şekil 4.5. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde ortalama sürgün taze ağırlığına etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Araştırmada ağır metallerin konsantrasyonlarının ($p < 0,01$) ve sıcaklık+ağır metal etkileşimlerinin ($p < 0,01$) buğday fidelerinin sürgün kuru ağırlığında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.6, Ek 11-12).



Şekil 4.6. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde ortalama sürgün kuru ağırlığına etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Kök/sürgün oranında ağır metallerin konsantrasyonları ve sıcaklık+ağır metal etkileşimleri sonucu meydana gelen azalmalar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.7, Ek 13-14).



Şekil 4.7. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde ortalama kök/sürgün oranına etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Öncel vd. (2000), *T. aestivum*' un Gerek-79 ve Bolal-2973 çeşitlerinde yüksek konsantrasyonda Cd uygulamaları sonucu bitki boyu ve toprak üstü kısımlarının kuru ağırlığında kontrole göre önemli seviyede bir azalma olduğunu ifade etmişlerdir.

Alam ve Shereen (2002), *T. aestivum* fidelerinde farklı konsantrasyonlarda uyguladıkları Zn ve P miktarlarının bitki büyümesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, tüm uygulamalarda kök ve sürgün taze ağırlığının kontrole göre arttığını ve bu artışın gövde de köklere oranla daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar Zn ve P uygulamalarında azda olsa gövde uzunluğunun arttığını ancak kök uzunluğunun kontrole göre önemli miktarda azaldığını bildirmişlerdir.

Kırbağ-Zengin (2006), *Phaseolus vulgaris* fidelerinde 0.5, 0.7 ve 1.0 mM $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ uygulamalarının ikinci gününde gövde uzunluklarının kontrol bitkilerine göre sırasıyla % 11.7, % 12.9 ve % 14.2, uygulamanın onuncu gününde ise kontrol bitkilerine göre sırasıyla % 27.3, % 31.7 ve % 34.7 oranında azaldığını ifade etmiştir.

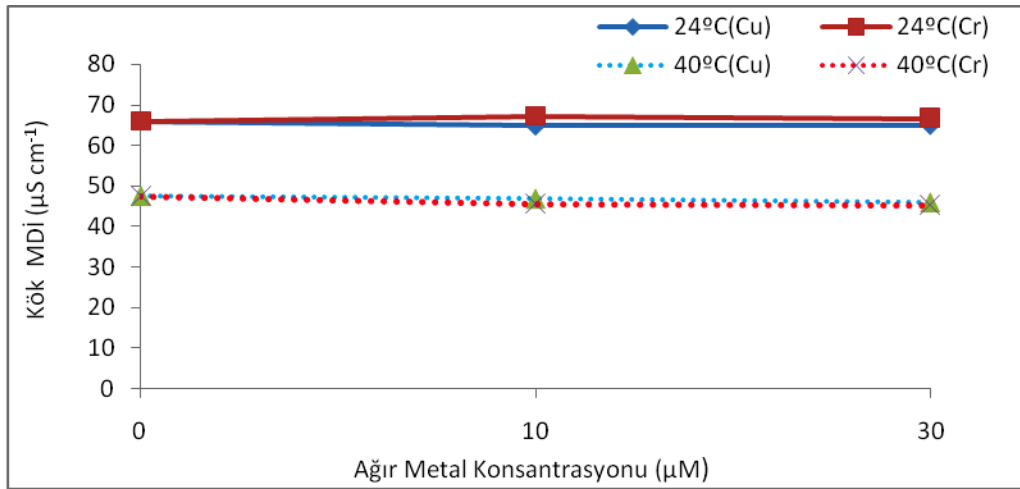
Ergün ve Öncel (2010), *Lens esculenta* fidelerinde kök ve gövde büyümesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki Cd ve Zn metallerinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan Cd konsantrasyonlarına bağlı olarak gövde kuru ağırlığının ve fide büyümesinin önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Pb, Cr, Al, Cu ve de Cd gibi metallerin uzun süreli etkisine maruz kalan bitkilerde kök büyümesi gövdeye oranla önemli derecede etkilenmektedir. Ancak bu durumun bitkinin gelişim evresi, yetiştirme koşulları ve bitki türlerine göre değiştiği belirtilmiştir (Greger vd., 1991).

Çalışmamızda özellikle ağır metalin konsantrasyon artışına paralel olarak kök/sürgün oranında azalma belirlenmiştir. Bu bakımdan verilerimiz Greger ve ark. (1991)' in verileri ile uyumludur.

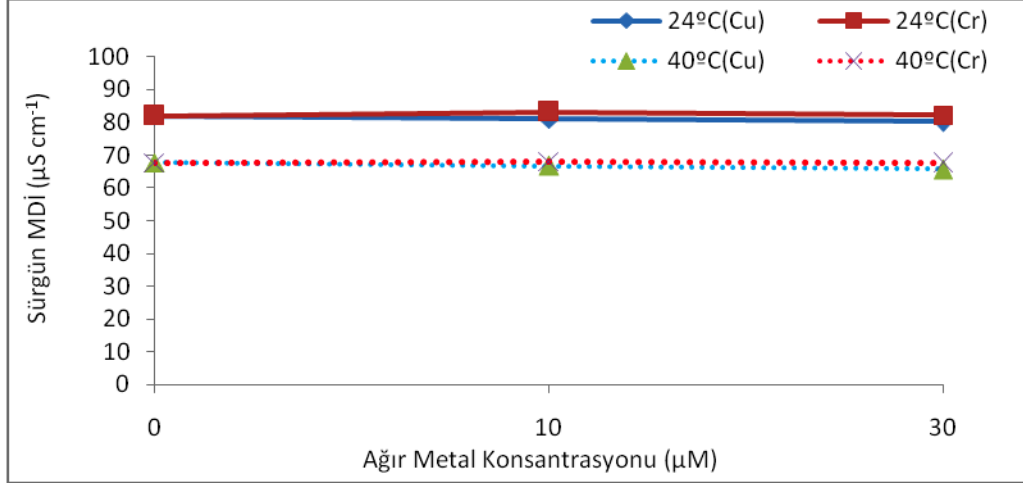
4.2. Membran Dayanıklılık İndeksine Etkisi

Çalışmamızda gerek sıcaklık, ağır metal ($p < 0,05$) ve ağır metallerin konsantrasyonları arasında buğday fidelerinin kök membran dayanıklılık indekslerinde meydana gelen farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.8). Sıcaklık+ağır metal arasındaki etkileşimler ise kök membran dayanıklılık indeksinde önemli bir azalmaya neden olmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.8, Ek 15-16).



Şekil 4.8. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde kök membran dayanıklılık indeksi üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çalışmamızda sıcaklık, ağır metal ve sıcaklık+ağır metal etkileşimleri arasında buğday fidelerinin sürgün membran dayanıklılık indekslerinde meydana gelen farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.9, Ek 17-18).



Şekil 4.9. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde gövde membran dayanıklılık indeksi üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Yüksek sıcaklık ile fosfolipid tabakasının bozulmasına neden olan lipitlerin fazla sıvılaşması ve membranda deliklere neden olan membran proteinlerinin denatürasyonu ve yığılmasının yarı geçirgenliğin kaybına neden olduğu düşünülmektedir (Treshow, 1970). Yüksek sıcaklık koşulları altında yaprak dokuları hasar gördükleri zaman membran geçirgenliğinin ve elektrolit sızıntısının arttığı da bildirilmiştir (Chen vd., 1982).

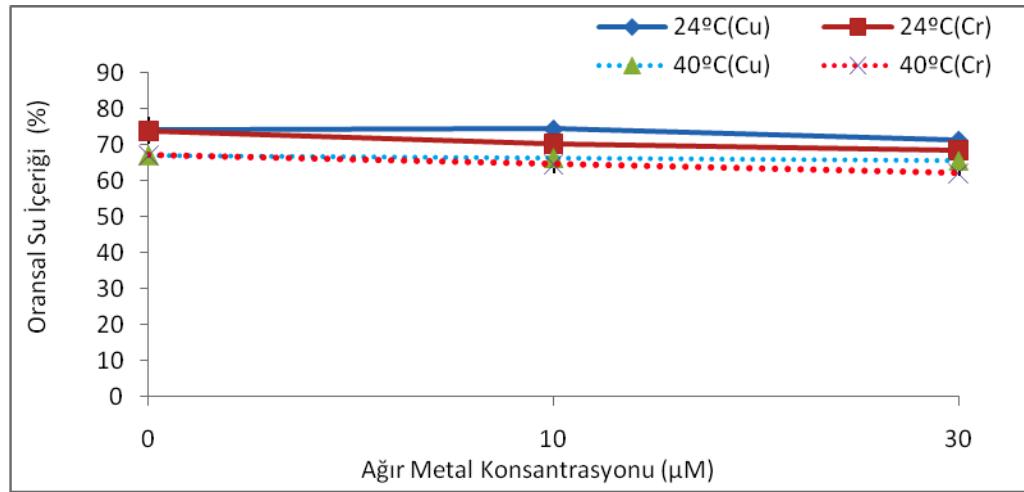
Gülen ve Eriş (2004), *Fragaria x ananassa* cv. Camarosa fidelerini 3 hafta kontrol sıcaklığında (25 °C) yetiştirdikten sonra 48 saat 5 °C artışla 30, 35, 40 ve 45 °C yüksek sıcaklık stresini kademeli olarak uygulamışlardır. Aynı zamanda kontrolden alınıp doğrudan bu sıcaklıklara konulan örnekler ile de çalışılmıştır. Kademeli artışta 40 °C' ye kadar elektrolit sızıntısının kontrole yakın, 45 °C' de ise kontrole göre % 64,3 daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Doğrudan sıcaklık şoku uygulananlarda ise 35 °C' e kadar elektrolit sızıntısının kontrole yakınken, 45 °C' de elektrolit sızıntısının % 86,7 olduğunu ifade etmişlerdir.

Efeoğlu (2006), *T. aestivum* çeşidi olan Bezostaya-1' in yaprak dokularında 37 ve 45 °C yüksek sıcaklık uygulamalarının 2, 4 ve 8. saatlerinde kontrole göre membran dayanıklılık indekslerinde önemli bir farkın olmamasına rağmen, 24. saat uygulaması sonucu kontrole göre membran dayanıklılık indeksinin % 78,6 oranında azaldığını ifade etmiştir. 45 °C' de 2, 4, 8 ve 24 saat yüksek sıcaklık uygulamalarının sonunda ise kontrole göre bu azalışın % 4,0 – 86,1 arasında olduğunu ifade etmiştir. Aynı zamanda

araştırmacı yaptığı bu çalışmasında hem yaprak hem kök dokusunda MDİ' lerinin azaldığını ancak yüksek sıcaklık stresine kök dokusunun yaprak dokusuna oranla daha hasas olduğunu ifade etmiştir.

4.3. Oransal Su İçeriğine Etkileri

Araştırmamızda gerek sıcaklık gerekse de ağır metallerin konsantrasyonları arasında buğday fidelerinin oransal su içeriğinde meydana gelen azalmalar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.10, Ek 19-20).



Şekil 4.10. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde oransal su içeriği üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde,** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Poschenrieder vd. (1989), Cd' un bitkilerde yaprak taze ağırlığını kuru ağırlığından daha fazla etkilediğini ve oransal su içeriğini azalttığını ifade etmişlerdir. Kastori vd. (1992), yüksek konsantrasyonda Cu, Cd, Zn ve Pb' un transpirasyon ve oransal su içeriğinin önemli oranda azalttığını tespit etmişlerdir.

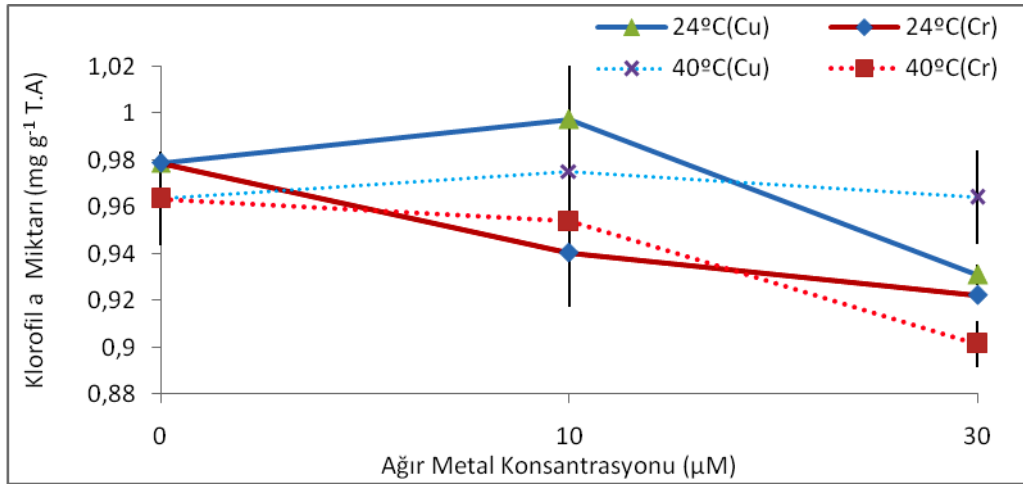
Öncel ve Keleş (2002), iki buğday türüne ait 6 genotipin (*T. aestivum* L. cv. Bezostaya-1, cv. Seri-82, cv. Kıraç-66 ve *T. durum* Desf. cv. Kızıltan-91, cv. Kunduru 414-44, cv. Ç. 1252) Arnon-Hoagland besin solüsyonuna 200 mM NaCl eklenmesi ile yetiştirdikleri denemelerinde, bitki büyümesi ve oransal su içeriğinin (OSİ) kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Ağır metal uygulaması ile birlikte OSİ' inde meydana gelen azalma ile ilgili bulgularımız Kastori vd. (1992), ve Poschenrieder vd. (1989)' nin verileri ile ayrıca

Öncel ve Keleş (2002), NaCl uygulamalarında OSİ de meydana gelen fidelerdeki azalmayla ilgili verileri ile uyumludur.

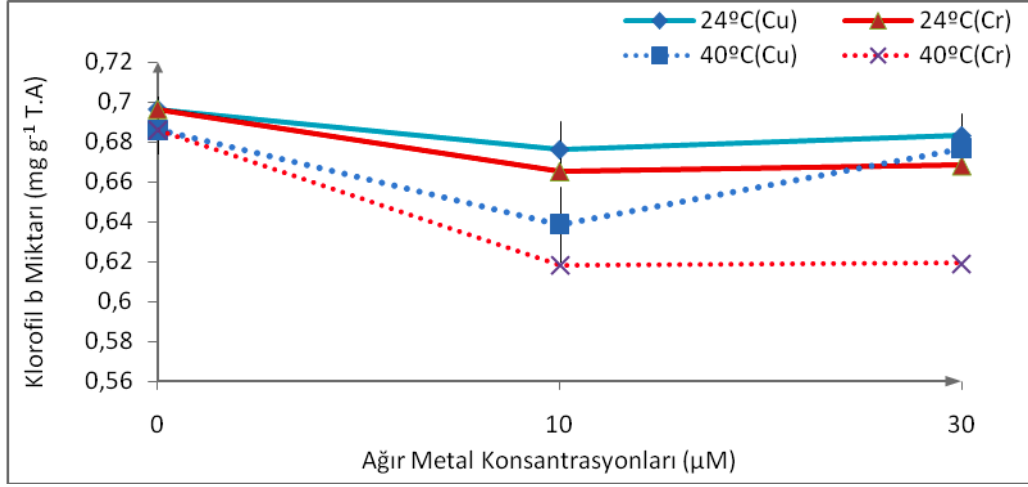
4.4. Pigment Miktarı Üzerine Etkileri

Araştırmada pigment miktarları incelendiğinde, gerek ağır metal ($p \leq 0,01$) ve gerekse de ağır metallerin konsantrasyonları arasında buğday fidelerinin kl a miktarlarında meydana gelen farklılıklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.11, Ek 21-22).



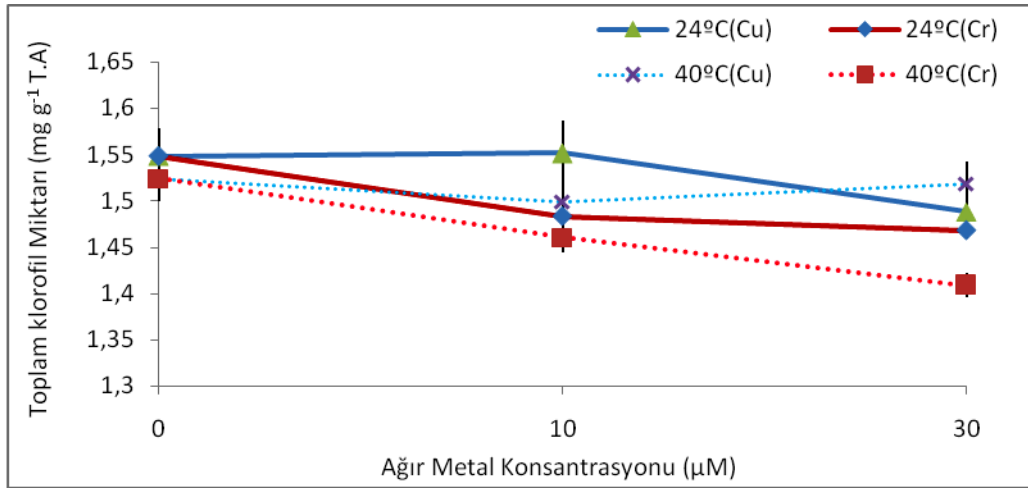
Şekil 4.11. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde klorofil a miktarı üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde,** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çalışmamızda buğday fidelerinin kl b miktarında meydana gelen farklılıklar, sıcaklık uygulamalarında ($p < 0,01$) seviyesinde, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları arasında ise ($p < 0,05$) seviyesinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.12, Ek 23-24).



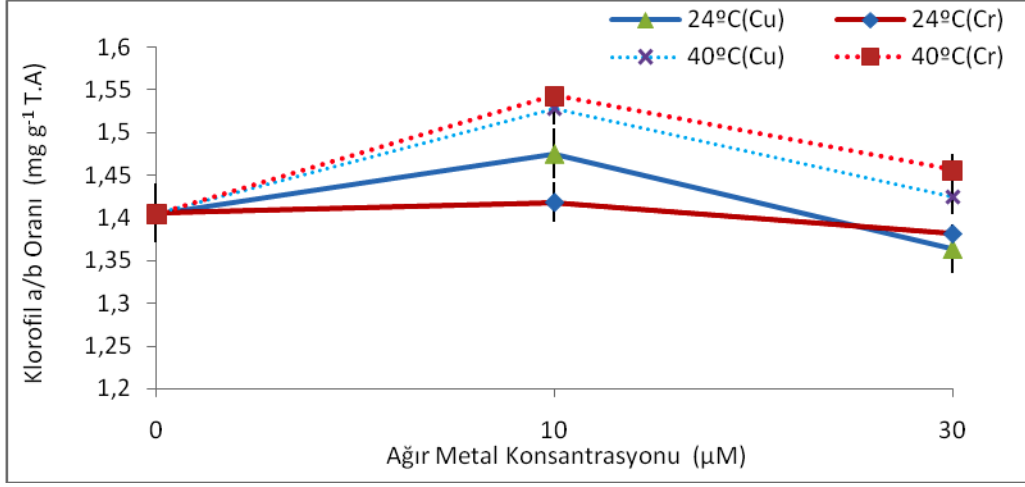
Şekil 4.12. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde klorofil b miktarı üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde,** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Buğday fidelerinin toplam klorofil miktarlarına sıcaklık ve ağır metal konsantrasyonlarının etkisi (p< 0,05) seviyesinde, ağır metallerin etkisi ise (p< 0,01) seviyesinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.13, Ek 25-26).



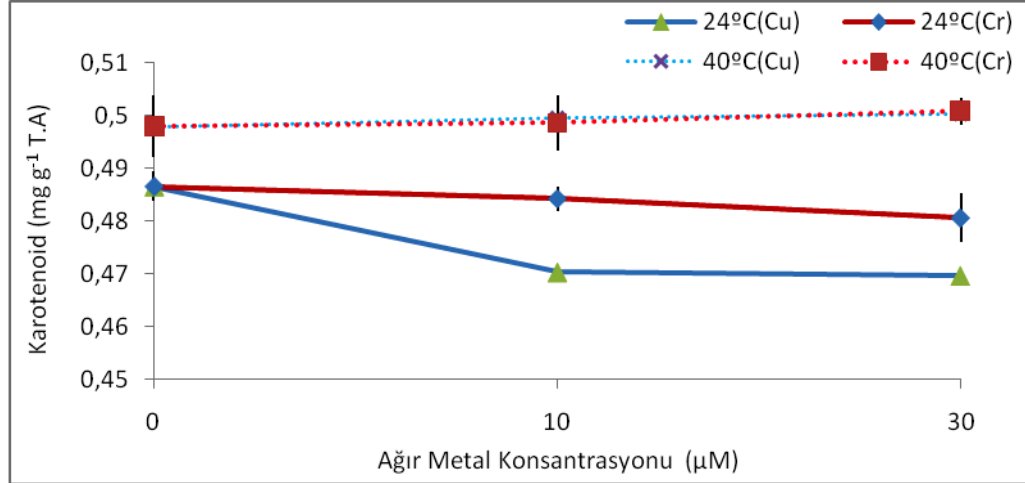
Şekil 4.13. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde toplam klorofil miktarı üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde,** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çalışmamızda buğday fidelerinin kl a/b oranı incelendiğinde, sıcaklık ve ağır metal konsantrasyonları arasında meydana gelen farklılıklar (p<0,01) seviyesinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.14, Ek 27-28).



Şekil 4.14. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde klorofil a/b oranı üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Buğday fidelerinin karotenoid miktarları üzerine ağır metallerin etkisi (p< 0,01) düzeyinde önemli bulunmuştur. Ayrıca sıcaklık+ağır metal konsantrasyonları ve ağır metal+ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşimler istatistik olarak önemli bulunmuştur (p< 0,01) (Şekil 4.15, Ek 29-30).



Şekil 4.15. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde karotenoid miktarı üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ağır metal stresine bağlı olarak klorofil içeriğinde meydana gelen azalmanın, klorofil biyosentez yolunda iř gören enzimlerin ağır metaller tarafından engellenmesinin bir sonucu olabileceği bildirilmiştir. Cd'un klorofil biyosentezi üzerine etki yaptığı ve protoklorofil redüktaz ile aminolevulinik asit (ALA) sentezini engellediği ifade edilmiştir (Stobart vd., 1985). Ağır metallerin serbest radikal oluşumunu artırarak, tilakoid membran lipidlerinin oksidatif yıkımına neden olduğu düşünülmektedir (Sandmann ve Böger, 1980). Bu ve benzeri durumlarda klorofil yıkımının artması veya sentezinin engellemesi yoluyla klorofil miktarında azalma olabileceği belirlenmiştir (Luna vd., 1994). Oksijenik fotosentez sonucu reaktif oksijen türleri (ROT) meydana gelir. Bu moleküller oksidatif hasara neden olarak fotosentetik kapasiteyi azaltırlar. Bu gibi durumlarda ise kloroplastı onarıcı ve tamir edici mekanizmalar devreye girer (Demming-Adams vd., 1992; Niyogi, 1999). Bu onarıcı mekanizmalardan birisinin de karotenoid miktarındaki artış ile sağlandığı bilinmektedir. Karotenoidler ışık ve oksijen karşısında klorofillerin parçalanmasını azalttığı düşünülmektedir. Karotenoidlerin bu tür durumlarda klorofillerin parçalanmasına nasıl engel oldukları tam olarak bilinmese de, bu pigmentlerin serbest oksijen radikalleriyle birleşerek klorofil yıkımına engel oldukları düşünülmektedir (Hopkins, 1995). Patsikka vd. (2002), yüksek konsantrasyonlarda Cu uygulamalarıyla yetiştirilen bitkilerde Fe eksikliği sonucu klorofil miktarının azaldığını ifade etmişlerdir. Hidroponik büyütme ortamına fazla Fe eklendiğinde bitki kökleriyle alınımlı sırasında Cu ile yarışa girdiği ve Cu toksisitesini azalttığı düşünülmektedir.

Bitkilerde fotosentetik yapılar sıcaklığa oldukça hassastır. Yüksek sıcaklık stresi altındaki bitkilerde fotosentez oranındaki azalmaların, kloroplastların yapısal ve fonksiyonel olarak zarar görmeleri ve klorofil birikimindeki azalmadan kaynaklandığı ifade edilmiştir (Xu vd., 1995). Kloroplastı kuşatan i ve dış membranlar (McCain vd., 1989) ile tilakoid membranları yüksek sıcaklıktan olumsuz etkilenmektedir. Tilakoid membran geçirgenliğindeki artış, membran lipit matriksinin aşırı akışkanlığı ve lipit-protein etkileşimindeki değişimlerin fotosistem II (PS II) termal kararlılığındaki değişimler ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Berry vd., 1980). Yüksek sıcaklık ve yüksek ışık şiddeti ile tilakoid lipidlerinin peroksidasyonundaki artış, elektron transport aktivitesinde azalma ile sonuçlanır. Lipidler evresel stres koşulları altında fotosentetik

aktivitenin devamı için gereklidir ve lipidlerin yüksek ışık veya sıcaklıkla parçalanması durumunda fotosentetik aktivitede kayıp gözlenmektedir (Mishra vd., Singhal, 1992).

Vazquez vd. (1987), *Phaseolus vulgaris* fidelerinde $9.6 \times 10^{-5} \text{M}$ Cr (VI) uygulamasının trifolyat ve primer yapraklardaki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, klorofil a, b ve karotenoid miktarlarının trifolyat yapraklarda azalırken primer yapraklarda arttığını, her iki yaprakta da klorofil a/b oranında ise önemli bir değişikliğin olmadığını belirlemişlerdir.

Öncel vd. (2000), farklı konsantrasyonlardaki Pb ve Cd (0, 50, 100, 250 ve 500 mg/l) ağır metalleri ile birlikte uyguladıkları 8/4, 25/18 ve 35/26 °C (gündüz/gece) sıcaklık denemelerinin *Triticum aestivum* fidelerinin Gerek-79 ve Bolal-2973 çeşitleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, metal konsantrasyonuna ve sıcaklık değişimlerine bağlı olarak toplam klorofil içeriğinde önemli ölçüde azalışın olduğunu ifade etmişlerdir. Gerek-79 çeşitinde düşük sıcaklıkta Cd uygulamaları sonucu toplam klorofil miktarının kontrole göre % 50 civarında azaldığını ve bu azalmanın Bolal-2973 çeşitinde kontrole göre % 70 civarında olduğunu ifade etmişlerdir. Yüksek sıcaklık Cd uygulamalarında ise Gerek-79'da klorofil miktarının kontrole göre % 35 oranında azaldığı, Bolal-2973' de ise bu azalışın % 30 civarında olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca Pb uygulamaları sonucu kontrole göre klorofil miktarlarında bir artış olduğu fakat bu artışın istatistiksel açıdan önemsiz bulunduğunu ifade etmişlerdir.

T. aestivum fidelerinde farklı konsantrasyonlarda uyguladıkları Zn (0, 5, 10 ve 20 mg L⁻¹) ve P (0, 20, 40 ve 60 mg L⁻¹) uygulamalarının bitki büyümesi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, düşük konsantrasyonlarda Zn ve P uygulamalarında klorofil miktarı artarken, yüksek konsantrasyonlarda kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir (Alam ve Shereen, 2002).

Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2005), Ni, Co, Cr ve Zn ağır metallerinin farklı konsantrasyonlarındaki çözeltilerinde 10 gün süre ile gelişmeye bıraktıkları *Phaseolus vulgaris* fidelerinde, klorofil ve karotenoid miktarlarını inceledikleri çalışmalarında, dört metalin de klorofil a, klorofil b, total pigment I ve II miktarında azalışa, karotenoid miktarında ise artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Sıcaklık stresine toleransları farklı iki *Festuca arundinacea* (cv. TF-66 ve cv. Jaguar 3) kültüründe yüksek sıcaklık stresinin fotosentez, PS II fonksiyonları ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, her iki

çeşitde de net fotosentez oranının, rubisko aktivitesinin, klorofil a+b ve klorofil/karotenoid oranının önemli ölçüde azaldığını buna karşılık klorofil a/b oranının arttığı belirlenmiştir (Cui vd., 2006).

Efeoğlu (2006), kontrol, 37 °C ve 45 °C, 8 saat sıcaklık uygulamalarının *T. aestivum* fidelerinin Karacadağ ve Fırat çeşitleri üzerine etkilerini incelediği çalışmada kl a, kl b ve karotenoid miktarlarının 37 °C ve 45 °C ki değişimleri önemsiz bulunmuş ancak 45 °C 8 saat uygulamasında toplam klorofil miktarının kontrole göre önemli ölçüde azaldığını rapor etmişlerdir.

Terzi (2006), *T. aestivum* ve *T. durum*' un bazı çeşitlerinde yüksek sıcaklık stresinin fotosentetik pigment birikimi ve hücre canlılığı üzerine etkilerini incelediği araştırmasında, uyumu takiben yüksek sıcaklık uygulamalarına (37→50 °C) maruz bırakıldıktan sonra kontrol sıcaklığında (25 °C) 24 saat süre ile ışık periyoduna alınan bazı buğday çeşitlerin etiyole fidelerinde karotenoid birikiminin kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmiştir.

Ristic vd. (2007), 12 adet kışlık *T. aestivum* çeşidi fidelerini 16 gün boyunca sıcaklık stresine maruz bırakarak sıcaklık toleransı ve klorofil içeriğini inceledikleri çalışmalarında, tüm kültürlerin tilakoid membranlarının hasara uğradığını ve birçok kültürde klorofil içeriğinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Zea mays fidelerinin 15 gün 0, 25, 50, 75 ve 100 µM Cu içeren besin solüsyonunda yetiştirilmesi sonucunda artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak klorofil a, b ve karotenoid miktarının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Pourakbar vd., 2007).

Subrahmanyam (2008), *T. aestivum* fidelerinde 0.10, 0.15 ve 0.25 mM Cr (VI) uygulamaları sonucu kontrole göre kl a miktarındaki azalışın sırasıyla % 16.5, % 22.3 ve % 40.5 iken kl b miktarında ise bu azalışın sırasıyla % 19.4, % 46.1 ve % 55.6 civarında olduğu bildirilmiştir.

Sıcaklık ve ağır metale maruz kalan buğday fidelerinde pigment miktarlarında meydana gelen inhibisyonlar bakımından bulgularımız Vazquez vd. (1987), Öncel vd. (2000), Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2005), Efeoğlu (2006), Terzi (2006), Ristic vd. (2007), Pourakbar vd. (2007) ve Subrahmanyam (2008) 'ın bulgularına benzetilebilir.

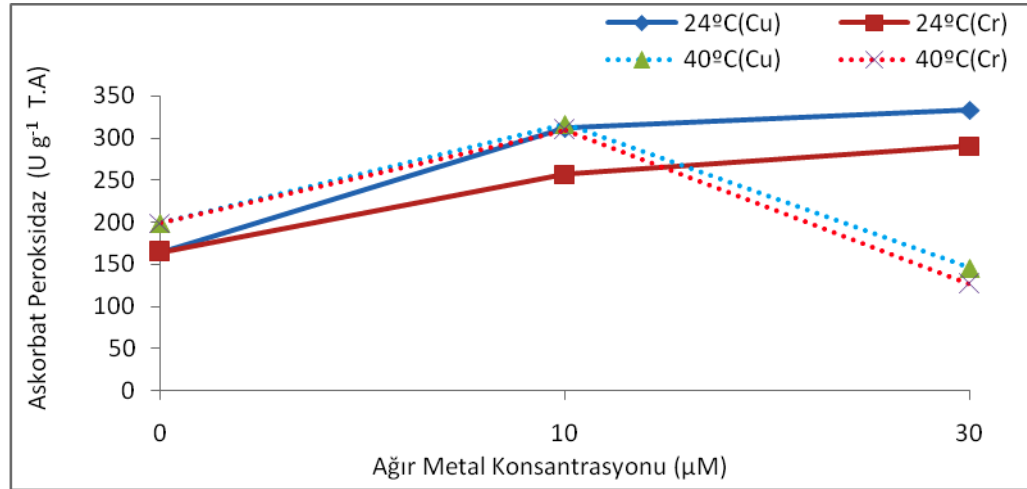
Alam ve Shereen'in (2002), *T. aestivum* fidelerine uyguladıkları düşük konsantrasyonlarda Zn ve P uygulamalarında klorofil miktarındaki artış ile ilgili

bulguları bizim verilerimize zıt iken, yüksek konsantrasyonlarda kontrole göre önemli ölçüde azalma ile ilgili bulguları bizim sonuçlarımızla uyumludur.

Sıcaklık ile ilgili olarak çalışmamızda buğday fidelerinde kl, klb, toplam klorofil oranında azalma ve kl a/b oranında artış bulunmuştur. Bu bakımdan verilerimiz Cui vd. (2006)'nın verileri ile uyumludur.

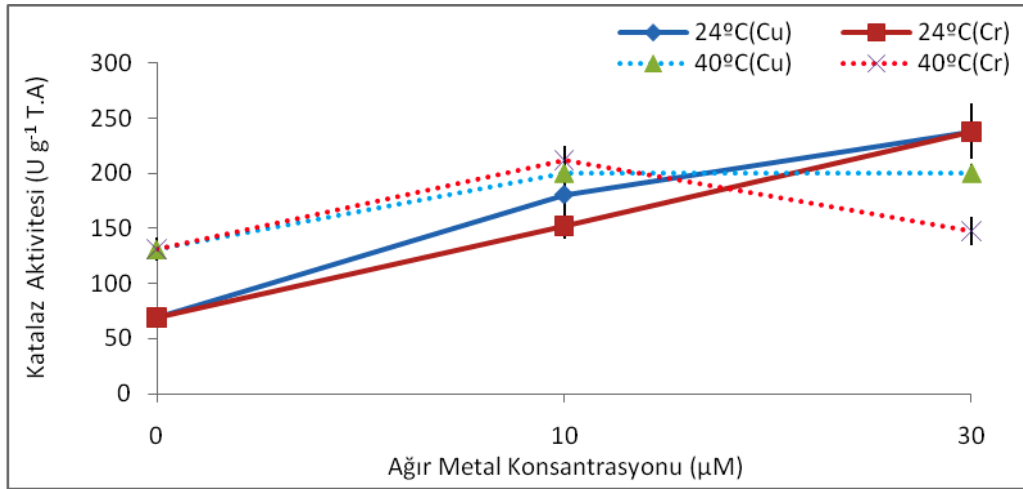
4.5. Askorbat Peroksidaz ve Katalaz Aktivitesi Üzerine Etkileri

Araştırmada antioksidant enzim aktiviteleri incelendiğinde, kontrol sıcaklığında uygulanan ağır metallerin konsantrasyon artışına bağlı olarak buğday fidelerinin askorbat peroksidaz miktarındaki artış ($p < 0,01$) seviyesinde önemli bulunmuştur. Sıcaklık + ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşim sonucu askorbat peroksidaz aktivitesinde önemli bir azalma meydana gelmiştir ($p < 0,01$) (Şekil 4.16, Ek 31-32).



Şekil 4.16. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde askorbat peroksidaz aktivitesine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Çalışmamızda ağır metallerin konsantrasyonları ve sıcaklık + ağır metal etkileşimleri sonucu buğday fidelerinin katalaz aktivitelerinde meydana gelen artışlar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.17, Ek 33-34).



Şekil 4.17. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde katalaz aktivitesi üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Birçok stres faktörü reaktif oksijen ara ürünlerinin oluşumunu artırarak hücrelerin homeostasisini hasara uğratmaktadır (Polle, 2001). Bu stres faktörleri kuraklık, su eksikliği, donma, tuz stresi, sıcaklık şoku, ağır metal stresi, ultraviyole yayılımı, ozon ve SO₂ gibi hava kirleticileri, besin eksikliği, patojen saldırılar ve yüksek ışık stresi gibi mekanik streslerdir (Bowler vd., 1992; Allen, 1995; Dat vd., 2000). Bu stres faktörleri mitokondriyal solunumda, kloroplastlarda ve fotorespirasyonda reaktif oksijen ara ürünlerini meydana getirmektedirler.

Dekov vd. (2000), fotosentezdeki verim azalışını, yüksek sıcaklık stresi altında kloroplast enzimlerinin inaktivasyonu sonucu meydana gelen oksidatif hasar ile ilişkilendirmiştir. Oksidatif stres lipid peroksidasyonuna neden olarak, membran hasarı, protein degradasyonu ve enzim inaktivasyonları ile sonuçlanmaktadır (Sairam vd., 2000; Meriga vd., 2004).

Bitkilerde toksik seviyelerde Cr birikiminin, metabolik değişimler sonucu enzimler ve diğer metabolitler üzerinde direkt bir etkiye sahip olduğu ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olarak lipid peroksidasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Shankar vd., 2005, Sinha vd., 2005, Montes-Holguin vd., 2006). Cr, fotosentez sırasında CO₂ fiksasyonunu, elektron transportunu, fotofosforilasyonu ve enzim aktivitesini etkileyebilmektedir (Clijsters ve Van Assche 1985, Hörcsik vd., 2007).

Cu gibi geçiş metallerinin süperoksit (O_2^-) ve H_2O_2 arasında non-enzimatik reaksiyonlarla hidroksil radikallerinin (OH^\cdot) oluşumunu katalizledikleri bilinmektedir (Haber-Weiss reaksiyonu) (Halliwell ve Gutteridge, 1984). Bitkilerde aşırı miktarda Cu, oksidatif strese neden olabilir ve ileri safhada fazla miktarda serbest oksijen radikallerinin birikimindeki artıştan dolayı antioksidant cevabı da artmaktadır. Bu durum bitkilerin maruz kaldıkları stres faktörlerine karşı savunma ya da tolerans mekanizmalarının bir göstergesi olabilir. Bu nedenle bitkilerde oksidatif strese neden olabilen stres koşulları varlığında bazı antioksidatif (askorbat peroksidaz ve katalaz gibi) bileşenlerin aktiviteleri incelenmiştir.

Subrahmanyam (2008), *T. aestivum* fidelerinde 0.10, 0.15 ve 0.25 mM Cr(VI) uygulamaları sonucu kontrole göre hem 8. hem de 14. gün sonunda 0,1 mM Cr konsantrasyonlarında KAT aktivitesinde önemli bir artışın olduğunu ifade etmiştir.

Candan vd. (2003), 0-1 μ M Zn içeren besin solüsyonunda yetiştirdikleri *Mentha pulegium* fidelerinde Zn konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak SOD ve KAT aktivitesinin de azaldığını ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar aynı deneme ünitesinde Zn 'nin zamana bağlı etkilerini incelediklerinde $7,7-1,8 \times 10^{-2} \mu$ M gibi azalan Zn konsantrasyonlarının 12. gününde antioksidant enzim aktivitelerinin kontrole göre önemli derecede azaldığını ifade etmişlerdir.

Singh vd. (2007), *T. aestivum* fidelerinde 5, 25, 50 ve 100 mg L^{-1} Cu uygulamalarının 14. ve 21. günlerde, tohum çimlenmesi ve gelişimi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, KAT ve peroksidaz aktivitelerinin artan Cu konsantrasyonlarına bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar 14. gün de kontrol bitkilerinde KAT aktivitesini 97.3, artan Cu konsantrasyonlarında ise sırasıyla 134.7, 161.3, 216.0 ve 232.0 (ml H_2O_2 hidrolizi g^{-1} T.A) olarak, 21. günde kontrolde 140.0, Cu uygulamalarında ise sırasıyla 245.3, 274.7, 278.7 ve 300.7 (ml H_2O_2 hidrolizi g^{-1} T.A) olduğunu ifade etmişlerdir.

Chaoui vd. (1997), Cd ve Zn uygulamalarının *Phaseolus vulgaris* fidelerinin kök, gövde ve yaprak dokularında bazı antioksidant enzim aktiviteleri üzerine Cd ve Zn birikiminin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, KAT aktivitesinin hem kök hem de yapraklarda azaldığını ancak gövde de değişmediğini, AP aktivitesinin ise, kök ve gövde dokularında değişmediğini ancak yapraklarda Cd uygulamasında % 113, Zn uygulamasında % 44 oranında arttığını ifade etmişlerdir.

Badawi vd. (2007), *T. aestivum*'un sıcaklığa toleransı farklı 3 genotipinde (Fang, Siete Cerros ve Imam), farklı sıcaklık uygulamalarının 7, 15 ve 21. günlerde bazı antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan sıcaklıklara bağlı olarak antioksidant enzim aktivitelerinin önemli ölçüde değiştiğini ifade etmişlerdir. 7, 15 ve 21. gün değerlendirmeleri sonucu Fang, Siete ve Imam genotiplerinde artan sıcaklığa bağlı olarak AP aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde artarken KAT aktivitesi 21. gün değerlendirmelerinde Fang ve Siete genotipinde önemli ölçüde artarken Imam genotipinde ise önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Hosseini vd. (2007), *Brassica napus* cv. Pf 7045 91 ve Hyola 40 çeşitlerine farklı konsantrasyonlarda (0, 100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 μ M) Pb uygulamaları sonucu her iki çeşidin kök ve gövdelerin de katalaz ve peroksidaz enzim aktivitelerinin Pb konsantrasyonuna bağlı olarak arttığını ifade etmişlerdir.

Gülen ve Eriş (2004), *Fragaria x ananassa* cv. Camarosa genotipinde 3 haftalık bitkileri 48 saat 5 $^{\circ}$ C artışla 30, 35, 40 ve 45 $^{\circ}$ C yüksek sıcaklık stresi kademeli olarak uygulanmıştır. Aynı zamanda kontrolden alınıp doğrudan bu sıcaklıklara konulan örnekler ile çalışılmıştır. Araştırmacılar yüksek sıcaklık koşullarında peroksidaz aktivitesinin önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir.

Cui vd. (2006), sıcaklık stresine toleransları farklı iki *Festuca arundinacea* (cv. TF-66 ve cv. Jaguar 3) kültüründe yüksek sıcaklık stresinin fotosentez, PS II fonksiyonları ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, sıcaklık uygulamalarının 10. günün de her iki çeşitte de AP ve SOD aktivitesinin arttığını ancak 20. gün de AP aktivitesinin TF-66 çeşitinde azalırken, Jaguar 3 çeşitinde arttığını, SOD aktivitesinin ise her iki çeşitte de kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

Srivastava vd. (2006), *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle bitkisine farklı konsantrasyonlarda Cu uygulamaları sonucu antioksidant ve fitoşelatinlerin cevaplarını araştırdıkları çalışmalarında, artan Cu konsantrasyonlarında oksidatif stres sonucu SOD, AP aktivitesinin arttığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar zamana bağlı olarak değerlendirdikleri enzim aktivitelerinde KAT aktivitesinin, 1 μ M Cu uygulamasının 7. gün de kontrole göre % 108 oranında arttığını ancak 25 μ M Cu uygulamasında kontrole göre % 42 oranında azaldığını ifade etmişlerdir.

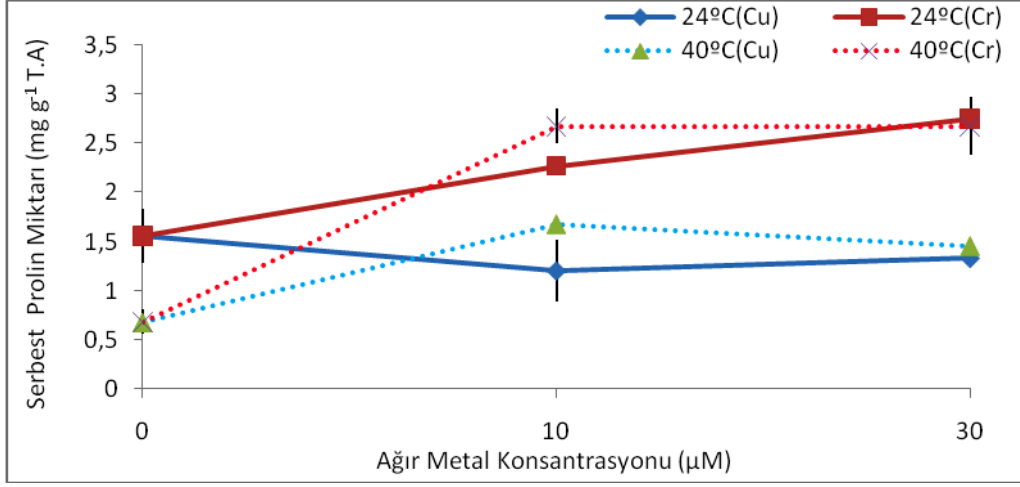
Uygulanan her iki ağır metalin de konsantrasyon artışına bağlı olarak buğday fidelerinin AP aktivitesinde meydana gelen artışlar bakımından bulgularımız, Chaoui vd. (1997), Gülen ve Eriş (2004), Cui vd. (2006), Badawi vd. (2007), Hosseini vd. (2007), Singh vd. (2007)' in bulgularına benzetilebilir. Buna karşın ağır metalin konsantrasyon artışına paralel olarak enzim aktivasyonunda meydana gelen artışlarla ilgili bulgularımız Candan vd. (2003)' nın bulgularıyla zıt düşmektedir.

Ağır metallerin konsantrasyon artışına bağlı olarak buğday fidelerinin KAT aktivitesinde meydana gelen artışlar bakımından bulgularımız, Chaoui vd. (1997), Hosseini vd. (2007), Singh vd. (2007) ve Subrahmanyam (2008) 'ın bulgularına benzetilebilir. Buna karşın ağır metallerin konsantrasyon artışına paralel olarak KAT aktivitesinde meydana gelen artışlarla ilgili bulgularımız Candan vd. (2003) ve Srivastava vd. (2006)' nın bulgularıyla zıt düşmektedir.

Enzim yapısında olan antioksidant savunma sistemleri, oksijen ara ürünlerini ve serbest radikalleri toplama, nötrleştirme ve ortamdan uzaklaştırma görevini yerine getirmektedir. H_2O_2 'i etkili bir şekilde ortamdan uzaklaştıran katalaz ve peroksidazlar bu özellikleri ile stres koşulları altında hücrenin canlılığını sürdürmede etkili olabilmektedirler. Askorbat-glutasyon döngüsünün, glutasyon ve askorbatı içine alarak, birbirini izleyen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları süresince oluşan belirli oksijen türlerinin detoksifikasyonunda hayati rol oynadığı saptanmıştır. Bitkilerde H_2O_2 'i detoksifikiye edilmesinde hidrojen donörü olarak askorbatı kullanan peroksidazların bir fonksiyonu olduğu bilinmektedir (Asada, 1994).

4.6. Serbest Prolin Miktarı Üzerine Etkileri

Çalışmamızda ağır metal uygulamaları ve ağır metallerin konsantrasyonları arasında buğday fidelerinin prolin miktarında meydana gelen artış istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$). Ayrıca sıcaklık+ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşimlerde ($p < 0,01$) seviyesinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.18, Ek 35-36).



Şekil 4.18. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde prolin miktarı üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Bitkiler ağır metal stresine maruz kaldıklarında bir takım metabolik maddeleri biriktirerek çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı dayanıklılık oluşturdukları ifade edilmiştir (Sharma vd., 1998; Alia-Saradhi, 1991). Stres koşullarında hücre öz suyu osmotik yoğunluğunun düzenlenmesinde prolin, glisin, betain ve çözümlü karbonhidratlar gibi osmotik etkiye sahip organik maddelerin biriktikleri bilinmektedir. Bu durumun ağır metal stresi altında da dayanıklılık için geçerli olacağı düşünülmektedir. Prolinin koruyucu rolünü bazı bitkilerde glisin, betain ya da sorbitol gibi bileşikler üstlenebilir. Bu durumda, bu tür bitkilerde prolin birikimi gözlenmeyebilir (Greenway vd., 1980). Eroğlu ve Öncel (1997) doku su dengesi üzerinde gerekli olan şekerler ve bunların miktarlarının artmasına sebep olan prolinin, stres koşullarında hücrede dehidrasyonu azaltıp, hücre içi viskoziteyi artırarak dayanıklılık oluşturdukları ifade etmişlerdir.

Panda vd. (2003), *T. aestivum* fidelerinde Zn ve Cr ağır metallerinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan ağır metal konsantrasyonlarına bağlı olarak yapraklarda prolin miktarının önemli derecede arttığını belirlemişlerdir.

Öncel vd. (2000), farklı konsantrasyonlardaki Pb ve Cd (0, 50, 100, 250 ve 500 mg l⁻¹) ağır metalleri ile birlikte uyguladıkları 8/4, 25/18 ve 35/26 °C (gündüz/gece) sıcaklık denemelerinin *T. aestivum* fidelerinin Gerek-79 ve Bolal-2973 çeşitleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, her iki çeşitte de Pb ile uygulanan farklı sıcaklık

derecelerinde serbest prolin miktarında önemli bir artışın olmadığını belirlemişlerdir. Cd uygulamalarında ise Bolal-2973 çeşitinin düşük veya yüksek sıcaklık uygulamalarında serbest prolin miktarının arttığı, Gerek-79 çeşitinde ise özellikle düşük sıcaklıkta ve yüksek Cd konsantrasyonlarında serbest prolin miktarının arttığını ifade etmişlerdir.

Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2006), *Helianthus annuus* fidelerine uygulanan 0.03, 0.05 ve 0.07 mM HgCl₂ etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan civa konsantrasyonlarına bağlı olarak prolin birikiminde kontrole göre sırasıyla % 52.7, % 72.2 ve % 91.6 oranında önemli bir artışın olduğunu belirtmişlerdir.

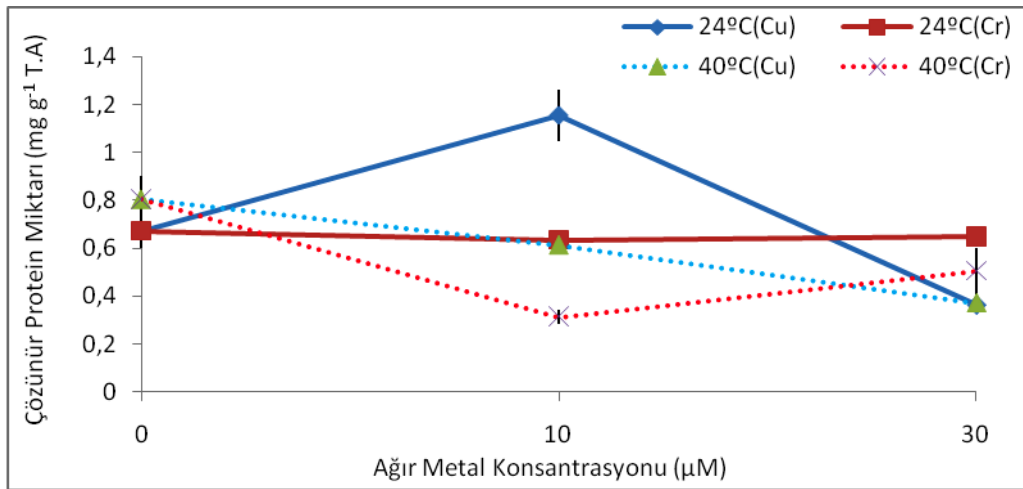
Tatar ve Gevrek (2008), *T. aestivum* fidelerinde su stresinin prolin birikimi ve lipid peroksidasyonu üzerine yaptıkları çalışmalarında, prolin içeriğinin 14. günde kontrole göre önemli ölçüde değişmediğini ancak 21. günde kontrole göre önemli derecede arttığını saptamışlardır.

Ergün (2005), stres koşullarında prolin amino asitinin biriktirilmesinin ağır metal stresi koşullarında da dayanıklılık için geçerli olabileceğini ifade etmiştir. Nitekim bizim çalışmamızda da ağır metal uygulamaları, ağır metallerin konsantrasyonları ve sıcaklık+ağır metal konsantrasyonu ve ağır metal+ ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşimlerde konsantrasyon ve sıcaklık artışına paralel olarak prolin miktarında artış tespit edilmiştir. Bu nedenle prolin miktarındaki artış bakımdan verilerimiz Greenway vd. (1980), Eroğlu ve Öncel (1997), Öncel vd. (2000), Panda vd. (2003), Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2006), Tatar ve Gevrek (2008)'in bulgularına benzetilebilir.

Doku su dengesi üzerinde etkili olan prolin, diğer stres koşulları altında da hücrel dehidratasyonu azaltarak ve hücre içi viskoziteyi arttırarak dayanıklılığa katkı sağladığı ifade edilmiştir (Eroğlu ve Öncel, 1997). Hidrofilik bir aminoasit olan prolinin osmotik düzenlemede (Ahmad ve Hellebust, 1988) ve enzim denatürasyonunu önlemede (Nikolopoulos ve Menetas, 1991) rol oynadığı bilinmektedir. Bassi ve Sharma (1993), buğday fidelerinde Zn ve Cu uygulamalarından sonra meydana gelen prolin birikimini su eksikliği, tuzluluk, düşük veya yüksek sıcaklık stresine karşı oluşturulan prolin birikimi ile karşılaştırıldıklarında, su eksikliği stresi esnasında meydana gelen prolin birikimine benzediğini bildirmişlerdir.

4.7. Çözünür Protein Miktarı Üzerine Etkileri

Buğday fidelerinin çözünür protein miktarları incelendiğinde, sıcaklık ve ağır metal konsantrasyonlarının etkisi ($p < 0,01$) seviyesinde, ağır metallerin etkisi ise ($p < 0,05$) seviyesinde önemli bulunmuştur. Ayrıca interaksiyonlara bakıldığında sıcaklık+ağır metal konsantrasyonları ve ağır metal+ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşimler istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,01$) (Şekil 4.19, Ek 37-38).



Şekil 4.19. Cr ve Cu ağır metalleri ve ağır metal+sıcaklık uygulamalarının buğday fidelerinde çözünür protein miktarı üzerine etkisi (n=9). *P < 0.05 düzeyinde, ** P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Chaoui vd. (1997), Cd ve Zn uygulamalarının *Phaseolus vulgaris* fidelerinin kök, gövde ve yaprak dokularında bazı antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, gövde ve yaprak dokularında çözünür protein miktarının ağır metal stresinden etkilenmese de köklerde Cd uygulaması sonucu % 33, Zn uygulaması sonucu ise % 46 oranında azaldığını ifade etmişlerdir. Araştırmacılar kök dokusundaki bu azalışı, köklerin stres faktörlerinden daha fazla etkilendiği fikriyle açıklamışlardır.

Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2006), *Helianthus annuus* fidelerine uygulanan 0.03, 0.05 ve 0.07 mM HgCl₂' ün etkilerini inceledikleri çalışmalarında, artan Hg konsantrasyonlarına bağlı olarak protein birikiminde kontrole göre sırasıyla % 21.5, % 31.6 ve % 47.1 oranında bir azalmanın olduğunu ifade etmişlerdir.

Singh vd. (2007), *T. aestivum* fidelerinde 5, 25, 50 ve 100 mg L⁻¹ Cu uygulamalarının 14. ve 21. günlerde, tohum çimlenmesi ve gelişimi üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, toplam protein içeriğinin 14. günde kontrol bitkilerinde 80.7 iken artan Cu konsantrasyonlarında sırasıyla 66.8, 60.4, 56.4 ve 48.5 µg mg⁻¹ T.A şeklinde bir azalma gösterdiğini, 21. günde ise kontrol bitkilerinde 81.4 iken artan Cu konsantrasyonlarında sırasıyla 67.1, 62.3, 54.9 ve 46.5 şeklinde bir azalışın olduğunu tespit etmişlerdir.

Gautam vd. (2008), *Vigna radiata* fidelerinde 0, 0.01, 0.1, 1.0 ve 2.0 mM Pb uygulamalarının tohum çimlenmesi ve bitki büyümesi üzerine etkilerini incelediği çalışmalarında, artan Pb konsantrasyonlarına bağlı olarak çözümlü protein miktarının önemli ölçüde değiştiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar 0.01 ve 0.1 mM Pb uygulamalarında kontrole göre çözümlü protein miktarında bir artışın olduğunu ancak 1.0 ve 2.0 gibi yüksek Pb konsantrasyonlarında kontrole göre önemli ölçüde bir azalışın olduğunu ifade etmişlerdir.

Doğan ve Çolak (2009), *T. aestivum* cv. Tosunbey fidelerinde 0, 10 ve 100 mg L⁻¹ konsantrasyonlarındaki Pb uygulamalarının, bitkinin kök ve otsu gövdelerinde çözümlü protein ve fenolik bileşiklerin miktarını azaldığını ifade etmişlerdir.

Pourakbar vd. (2007), *Zea mays* fidelerini 0, 25, 50, 75 ve 100 µM Cu içeren besin solüsyonunda yetiştirilmesi sonucunda artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak kök ve gövde dokularında çözümlü protein miktarının kontrole göre önemli ölçüde azaldığını ifade etmişlerdir.

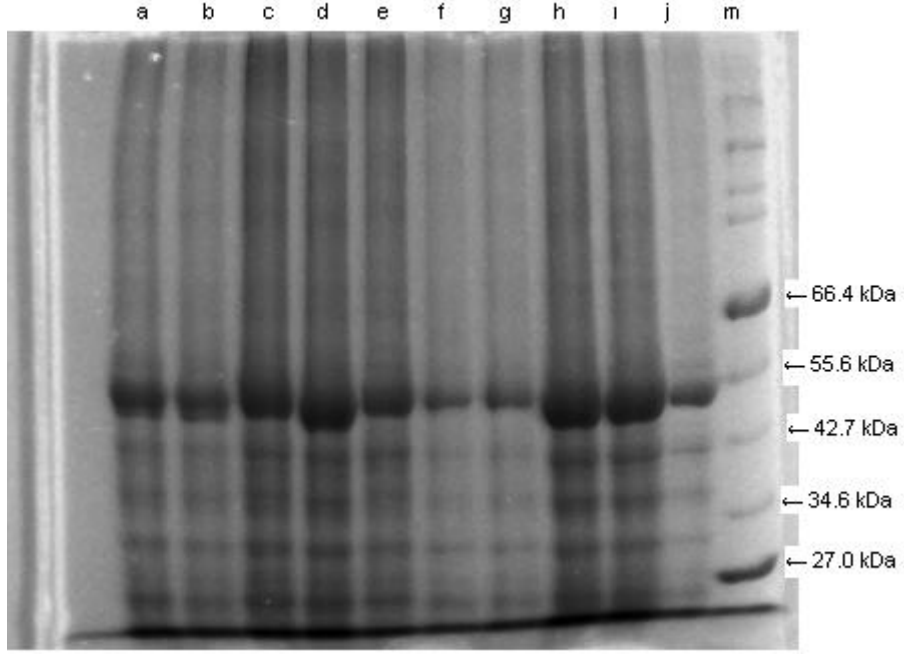
Bitkilerin yüksek sıcaklık (Waters, 1996), ağır metal (Rauser, 1990), tuz (Serrano vd., 1994) ve kuraklık (Bray, 1993) gibi çeşitli abiyotik stres koşulları altında stres tolerans mekanizmaları ile ilişkili proteinler sentezledikleri bilinmektedir. Efeoğlu (2006), bazı buğday çeşitlerinin protein sentezi üzerine farklı yüksek sıcaklık ve uygulama sürelerinin etkisini incelediği çalışmasında, Bezostaya-1 ve Karacadağ çeşitlerinde 8 saat 37 °C ve 45 °C uygulamalarının yeni protein sentezini uyardığını, Sarıçanak ve Fırat çeşitlerinde ise 37 °C 8 saat uygulamasında yeni proteinlerin sentezlendiğini ancak 45 °C' de kontrolde görülen birçok protein sentezinin baskılandığını ifade etmiştir. Stres koşulları altında bitkilerde yeni proteinlerin sentezlenmesi, protein sentezinin azalması veya mevcut proteinlerin parçalanarak amino asitlere yıkılması şeklinde bir savunma mekanizması oluşturabileceği düşünülmektedir

(Levitt, 1972). Nitekim bizim çalışmamızda da ağır metal uygulamaları, ağır metallerin konsantrasyonları ve sıcaklık+ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşimlerde konsantrasyon ve sıcaklık artışına paralel olarak çözümler protein miktarında azalma tespit edilmiştir. Bu nedenle çözümler protein miktarındaki azalma bakımından verilerimiz Kırbağ-Zengin ve Munzuroğlu (2006), Pourakbar vd. (2007), Singh vd. (2007), Gautam vd. (2008), Doğan ve Çolak (2009)' in verilerine benzetilebilir. Ancak Chaoui vd. (1997), gövde dokusunda protein miktarında değişimin olmadığını belirttiği çalışmasıyla ile de zıt düşmektedir.

Çalışmamızda 24 °C' de 10 µM Cu uygulamasının yaprak dokularında çözümler protein miktarını artırması literatür bilgileri de göz önüne alındığında, bitkinin ağır metal stresine karşı yeni protein sentezi yaptığı fikri ile açıklanabilir. Hem 24 °C hem de 40 °C 30 µM Cu uygulamalarında çözümler protein miktarındaki bu önemli azalış ise stres koşullarında protein sentezinin yapılamaması ve/veya mevcut proteinlerin amino asitlerine parçalanması şeklinde açıklanabilir.

4.8. Çözümler Proteinlerin SDS-PAGE Analizleri

Bu çalışmada spektrofotometrik olarak belirlenen çözümler protein miktarlarını desteklemek amacıyla SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi yapıldı. Yüksek sıcaklık ve farklı konsantrasyonlarda Cr ve Cu uygulamalarına ait bantlar SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi yapıldıktan sonra Coomassie Brilliant mavisi ile boyanarak görüntülenmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. 16/24 °C ve 30/40 °C’ de kontrol, 10 ve 30 μM Cr ve Cu uygulamaları sonucu yaprak ekstraktlarının SDS-PAGE ile belirlenen protein profilleri (**a**; 24 °C kontrol, **b**; 24 °C 10 μM Cr, **c**; 24 °C 30 μM Cr, **d**; 24 °C 10 μM Cu, **e**; 24 °C 30 μM Cu, **f**; 40 °C kontrol, **g**; 40 °C 10 μM Cr, **h**; 40 °C 30 μM Cr, **i**; 40 °C 10 μM Cu, **j**; 40 °C 30 μM Cu ve **m**; Marker).

Molekül ağırlığı bilinen protein markırı kullanılarak sıcaklık, ağır metal ve sıcaklık+ağır metal etkileşimleri sonucu buğday fidelerinde çözümlü proteinlerin moleküler ağırlıkları incelendiğinde, bantların yaklaşık 55,0 kDa’ luk bölgede yoğunlaştığı belirlenmiştir. 24 °C’ de Cu uygulanmış bitkilerde proteinlerin kontrol gruplarına oranla daha fazla ifade edildiği tespit edilmiştir. Özellikle 24 °C’ de 10 μM Cu uygulaması sonucu ortaya çıkan yaklaşık 50,0 kDa’ luk protein bandının daha belirgin olduğu ancak 30 μM Cu uygulamasında tekrar ifadesinin azaldığı gözlenmiştir. 40 °C’ de 30 μM Cu uygulaması sonucu oluşan protein bandının diğer gruplara oranla daha az ifade edildiği görülmektedir. Ayrıca 40 °C’ de 30 μM Cr uygulaması sonucu kontrol grubuna göre protein ifadesinde önemli bir artış gözlenmiştir. Nitekim çözümlü proteinlerin spektrofotometrik ölçümleri ile elde ettiğimiz sonuçlarla da uygunluk göstermektedir. Örneğin 24 °C’ de 10 μM Cu uygulaması sonucu çözümlü protein miktarının arttığını ancak 30 μM Cu uygulamasında tekrar azaldığı belirlenmiştir. SDS-PAGE analizleri sonrasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. 24 °C’ de hem 10 μM hem de 30 μM Cu uygulaması sonucu çözümlü protein miktarlarının değişmediği

gözenmiştir. 40 °C 10 µM Cr ve 30 µM Cu uygulamalarında ise hem spektrofotometrik olarak ölçülen çözüner protein miktarlarının azaldığı hem de aynı örneklerin SDS-PAGE analizleri sonrası protein ifadelerinin azaldığı tesbit edilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında sıcaklık, ağır metal ve sıcaklık + ağır metal uygulamalarının buğday fidelerinin büyüme, oransal su içeriği, membran dayanıklılık indeksleri, pigment içeriği, AP ve KAT aktiviteleri, prolin ve çözünür protein miktarlarında önemli değişikliklere neden olduğu tesbit edilmiştir.

Kök büyümesi ağır metalin konsantrasyon artışına paralel olarak özellikle Cr uygulamasında Cu' a göre önemli derecede inhibe edilmiştir. Sıcaklık bitki büyüme ve gelişimini etkileyen en önemli çevre faktörlerinden biridir. Gerek Cu ve gerekse de Cr ağır metalleri ile birlikte sıcaklık etkileşimleri de fidelerin kök ve sürgün boy uzunlukları ile taze ve kuru ağırlıklarında azalmaya ve yapraklarda özellikle 30 μ M Cr uygulamalarında klorozis oluşumuna neden olmuştur. İki metal arasında benzer inhibisyonlar gerçekleşmiş olsa da genel olarak yüksek sıcaklık koşulları altında ve artan konsantrasyonlarda Cr' un Cu' a oranla daha toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Kök büyümesinin metal toksisitesine çok fazla duyarlı olduğu bilinmektedir (Foy vd., 1978). Nitekim çalışmamızda gerek ağır metal ve gerekse de ağır metallerin konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak kök/sürgün oranında azalmalar gözlenmiştir.

Yüksek sıcaklık koşulları altında membran fosfolipid tabakasındaki bozulmalara bağlı olarak membran geçirgenliğinin ve elektrolit sızıntısının arttığı bilinmektedir (Chen vd., 1982). Araştırmamızda kök membran dayanıklılık indeksindeki değişimler incelendiğinde; 40 $^{\circ}$ C' de 30 μ M Cu uygulaması sonucu % 1.62 oranında bir azalış meydana gelmişken bu azalış 30 μ M Cr uygulamasında % 1.86 olarak bulunmuştur. Bu durumda yüksek sıcaklık stresi altında, artan Cr konsantrasyonunun kök membran dayanıklılık indeksinde daha toksik bir etki gösterdiği söylenebilir. Ancak gövde membran dayanıklılık indeksindeki değişimler incelendiğinde, 40 $^{\circ}$ C' de 30 μ M Cu uygulamasında kontrole göre meydana gelen azalma % 2.11 iken, 30 μ M Cr uygulamasında % 1.36 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda kullandığımız Cr (VI) diğer Cr bileşiklerine oranla daha toksik bir elementtir. Bitkilerin kök hücre vakuollerinde Cr birikiminin yapılmasından dolayı diğer organlara oranla köklerde daha fazla Cr birikiminin olduğu bilinmektedir. Dokularda ağır metal birikiminin artması ile hücre fonksiyonlar da zayıflamaktadır. Araştırma sonuçlarımıza göre Cr' un kök membran

dayanıklılığında daha belirgin bir hasar oluşturması, fidelerin köklerinde daha fazla Cr birikimi sonucu membran bütünlüğünün zarar gördüğü fikri ile açıklanabilir.

Ağır metal toksisitesi bitkilerde su akımını etkilemektedir. Gerek sıcaklık, gerekse de ağır metallerin konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak buğday fidelerinin oransal su içeriğinde azalmalar meydana gelmiş olsa da bu azalış istatistik olarak önemli bulunmamıştır.

Pigment miktarlarında meydana gelen değişimler incelendiğinde, gerek ağır metal ve gerekse de ağır metallerin konsantrasyonları arasında buğday fidelerinin kl a miktarlarında azalmalar meydana gelmiştir. Kl b miktarında, sıcaklık, ağır metal ve ağır metallerin konsantrasyonlarına bağlı olarak azalmalar gözlenmiştir. Buğday fidelerinin toplam klorofil miktarları incelendiğinde, yüksek sıcaklık uygulamalarında ve farklı ağır metal konsantrasyonları arasındaki azalmalar önemli bulunmuştur. Klorofil a/b oranı, yüksek sıcaklık koşulları altında 10 μ M Cu ve Cr uygulamalarında kontrole göre artış göstermiştir. Karotenoid miktarlarındaki değişimler incelendiğinde, yüksek sıcaklık koşulları altında ağır metal konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak karotenoid miktarlarında meydana gelen artışlar istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Ancak kontrol sıcaklığına göre yüksek sıcaklık uygulamaları altında karotenoid miktarında meydana gelen artışlar önemli bulunmuştur.

Araştırmada enzim aktiviteleri üzerine sıcaklık, ağır metal konsantrasyonları ve sıcaklık+ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşimleri incelendiğinde AP aktivitesinin, kontrol sıcaklığında uygulanan her iki metalinde artan konsantrasyonlarına bağlı olarak kontrole göre önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. Yüksek sıcaklık koşulları altında 10 ve 30 μ M Cr uygulamaları ile 10 μ M Cu uygulamalarında kontrole göre önemli ölçüde bir artış meydana gelmişken, 30 μ M Cu uygulamasında kontrole göre önemli ölçüde bir değişiklik meydana gelmemiştir. KAT aktivitesi incelendiğinde, kontrol sıcaklığı altında her iki metalin de artan konsantrasyonlarında kontrole göre önemli ölçüde bir artış gözlenmiştir. Ancak bu artışın yüksek sıcaklık koşulları altında Cu uygulamalarında daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak artan ağır metal konsantrasyonlarına bağlı olarak hem AP hem de KAT aktivitesi önemli ölçüde artmıştır. Ancak yüksek sıcaklık ile birlikte uygulanan ağır metallerin artan konsantrasyonlarında özellikle AP aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır. Bu durum, oluşan reaktif oksijen türlerinin antioksidant enzim kapasitesinin çok daha

üstünde olması veya sıcaklık ve ağır metal etkileşimi sonucu artan metal konsantrasyonlarında enzimin daha fazla aktivasyon gösterememesi şeklinde yorumlanabilir.

Çalışmamızda hem Cu ve Cr uygulamalarında hem de bu metallerin yüksek sıcaklık etkileşimlerinde buğday fidelerinin prolin miktarında önemli ölçüde artış gözlenmiştir. Özellikle yüksek sıcaklık koşulları altında artan Cr konsantrasyonuna bağlı olarak prolin miktarında önemli ölçüde artış meydana gelmiştir. Yüksek sıcaklıkta 30 μ M Cu uygulaması sonucu prolin miktarında kontrole göre önemli bir artış olmamıştır. Bu durum Cr' un Cu' a göre daha toksik bir etkiye sahip olduğunun bir göstergesi olabilir. Çünkü temelde su ilişkili stres faktörleri altında prolin sentezinin arttığı bilinmektedir. Hücre içi osmotik dengenin bozulması aynı zamanda stres durumunun göstergesidir.

Buğday fidelerinin çözünür protein miktarları incelendiğinde, sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonlarına bağlı olarak azalmalar gözlenmiştir. 24 °C' de 10 μ M Cu uygulaması sonucu çözünür protein miktarında kontrole göre bir artış meydana gelmiş olsa da, 30 μ M Cu uygulamasında kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca sıcaklık+ağır metal konsantrasyonları arasındaki etkileşimler de protein miktarında önemli ölçüde azalmaya neden olmuştur. Özellikle 40 °C' de 10 μ M Cr ve 30 μ M Cu uygulamalarında kontrole göre önemli ölçüde azalma meydana gelmiştir. SDS-PAGE analiz sonuçları ile de buğday fidelerinin, çözünür protein miktarında meydana gelen değişimler görüntülenmiş ve çözünür proteinlerin spektrofotometrik ölçümleriyle uygunluk göstermiştir. Bitkilerin yüksek sıcaklık (Waters, 1996) ve ağır metal (Rausser, 1990) gibi çeşitli abiyotik stres faktörleri altında stres tolerans mekanizmaları ile ilişkili proteinler sentezledikleri bilinmektedir. Bu protein ailesi genel olarak stres proteinleri ve bu aile içerisinde sıcaklık stresi sonucu aktivasyonu artan proteinler de ısı şok proteinleri olarak adlandırılmaktadır. Isı şok protein ailesi içerisinde yer alan küçük ısı şok proteinlerinin, mitokondri ve kloroplastlarda buldukları ve sıcaklık stresi boyunca mitokondrilerdeki elektron transport zincirini korudukları bilinmektedir (Heckathorn vd., 1999; Sun vd., 2002). Ancak stres proteinlerinin sentezi, stres faktörlerinin çeşidi ve süresine bağlı olarak önemli ölçüde değişmektedir. Yapılan araştırmalarda sıcaklık şiddetine ve süresine bağlı olarak birçok yeni proteinin sentezlendiği ve birçok mevcut proteininde sentezinin baskılandığı ifade edilmiştir. Bu değişimler bitkilerin stres faktörlerine karşı savunma mekanizmalarını etkinleştirdiğini göstermektedir. Nitekim

Levitt (1972) stres koşulları altında bitkilerde, yeni proteinlerin sentezlenmesi, protein sentezinin azalması ve/veya mevcut proteinlerin parçalanarak amino asitlere dönüşmesi şeklinde bir savunma mekanizması oluşturabildiğini ileri sürülmüştür. Stres koşulları altında mevcut proteinlerin parçalanarak amino asitlerine yıkılması sonucu prolin gibi amino asitlerin ortamda birikmesi bu savunma mekanizmasının bir devamı niteliğinde olabilir. Çünkü temelde su ilişkili stres faktörleri karşısında hidrofilik karakterli prolin amino asitlerinin sentezinin artması, hücrel osmotik dengenin korunmasında (Ahmad ve Hellebust, 1988) ve enzim denatürasyonunun önlenmesinde (Nilolopulos ve Menetas, 1991) oldukça önemlidir.

Bitkilerin doğal koşullar altında stres faktörlerine karşı gösterdikleri adaptasyonlar bazı ekolojik avantajlar kazandırmasına rağmen, üründe kayıplar nedeniyle tarımsal açıdan bazı sınırlamalar getirmektedir. Bilindiği üzere bitkiler tabiatla çoğunlukla birden fazla stres faktörüyle aynı anda karşılaşabilmektedirler. Çünkü bitkilerin yetiştiği ve geliştiği ortamlarda genellikle bazı faktörler yetersiz ve bazı faktörler de optimum değerlerden oldukça uzaktır (Kadioğlu, 2007). Oysa bitkiler bir veya daha fazla stres faktörüne karşı sınırlı bir rekabet kapasitesine sahiptir. Bu durumda organizmalar mevcut stres faktörlerini ortadan kaldırmak, sakınmak veya aşmak için çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal savunma mekanizmalarını devreye sokarlar (Kadioğlu, 2007). Özellikle 20. yy' dan itibaren çeşitli insan aktiviteleri sonucu oluşan topraklardaki ağır metal kirliliği ve belki de günümüz sorunlarından en önemlisi küresel iklim değişimlerine bağlı gerçekleşen küresel ısınma ile bu problemler giderek etkisini artırmakta ve gerek insan sağlığını gerekse de tarım alanlarını tehdit etmektedir. Bu nedenle, tarımsal bitkilerde sıcaklık+ağır metal stresi gibi çapraz toleransların geliştirilebilmesi için, geleneksel ve moleküler ıslah çalışmalarının birleştirilmesi (Kasuga vd. 1999; Dunwell, 2000; Wang vd., 2001), ürün kaybına neden olan stres faktörlerinin ve bu faktörlerin fizyolojik, moleküler ve genetiksel temellerinin aydınlatılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Akkaya A., 1994. "Buğday Yetiştiriciliği", Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniv., **Ziraat Fak. Genel Yayın** No:1, Ders Kitapları Yayın No:1, s.225.
- Alam S. M. ve Shereen A., 2002. Effect of Different Levels of Zinc and Phosphorus on Growth and Chlorophyll Content of Wheat. **Asian Journal of Plant Sciences** 1(4): 364-366.
- Alia-Saradhi P.P., 1991. Prolin Accumulation Under Heavy Metal Stress. **J. Plant Physiol.** 138, 54-558.
- Allen R., 1995. Dissection of Oxidative Stress Tolerance Using Transgenic Plants. **Plant Physiol.** 107: 1049-1054.
- Alloway B.J. and Ayres D.C., 1993. Chemical Principles of Environmental Pollution. **Chapman & Hall**, s. 291, U.K.
- Apaydın A., Kutsal A. ve Atakan C., 2002. **Uygulamalı İstatistik**. Klavuz Kitabevi. Ankara.
- Arnon D.I., Hoagland D.R. 1940. Crop Production In Artificial Solutions and In Soils with Special Reference to Factors Influencing Yields and Absorbtion of Inorganicnutrients. In F.C. Steward. **Plant Physiol.** A Treatise. 3, Academic Press, New York, London.
- Arnon, D. I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphanoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, 24: 1-15.
- Azooz M.M., Youssef M.M., 2010. Evaluation of Heat Shock and Salicylic Acid Treatments as Inducers of Drought Stress Tolerance in Hassawi Wheat. **American Journal of Plant Physiology** 5 (2): 56-70.
- Badawı G.H., Tahir I.S., Nakata N., Tanaka K., 2007. Induction of Some Antioxidant Enzyzmes in Selected Wheat Genotypes. **African Crop Sciences Conference Proc.** 8: 841-848.
- Baker D.E, Senef J.P., 1995. Copper In: Alloway BJ (ed), Heavy Metals in Soils, pp. 179-205. **Blackie Academic and Professional**, London.
- Barcelo, J. and Poschenrieder C., 1990. Plant Water Relations as Affect by Heavy Metal Stres: A Review, **J. Plant Nutr.**, 13, s.1-37.

- Barcelo, J., Poschenrieder, C., Andreu, I., and Gunse, B., 1986. Cadmium Induced Decrease of Water Stress Resistance in Bush Bean Plants (*Phaseolus vulgaris* cv. Contender), **J. Plant. Physiol.**, 125:17-25.
- Barcelo, J., Vazques M.D., and , Poschenrieder C., 1988. Structural and Ultrastructural Disorders in Cadmium Treated Bush Bean Plants (*Phaseolus vulgaris* L.), **New Phytol.**, 108: 37-49.
- Baron M, Lopez-Gerge J, Lachica M, Sadmann G., 1992. Changes in Carotenoids and Fatty Acids in Photosystem II of Cu-Deficient Pea Plants. **Physiology Plant.** 84: 15.
- Baron M, Arellano JB, Lopez-Gorge J., 1995. Copper and Photosystem II: A Controversial Relationship. **Physiol. Plant.** 94: 174-180.
- Bassi, R., Sharma, S.S, 1993. Proline Accumulation in Wheat Seedlings Exposed to Zinc and Copper. **Phytochemistry**, 33, 1339-1342.
- Baszynski T, Ruszkowska M, Krol M, Tukendorf A, Wolinska D., 1978. The Effect of Copper Deficiency on the Photosystem II: A Controversial Relationship. **Physiol. Plant.** 94: 174-180.
- Baszynski T, Tukendorf A, Ruszkowska M, Skorzynska E, Maksymiec W., 1988. Characteristics of the Photosynthetic Apparatus of Copper non-Tolerant Spinach Exposed to Excess Copper. **J. of Plant. Physiology** 132: 708-713.
- Baszynski T, Krupa Z., 1995. Some Aspects of Heavy Metal Toxicity Towards Photosynthetic Apparatus-Direct and Indirect Effects on Light and Dark Reactions. **Acta Physiol. Plant.** 17: 177-191.
- Bergmann W., 1992. **Nutritional Disorders of Plants: Development, Visual and Analytical Diagnosis.**, s. 695, New York.
- Bowler, C., Montagu, M.V. and Inze, D., 1992. Superoxid Dismutase and Stress Tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **Plant Mol. Biol.** 43: 83-116.
- Bowler, C., Van C.W., Van M. M. and Inze D., 1994. Superoxide Dismutase in Plants. *CRC Crit. Ev.*, **Plant Sci.**, 13: 199-218.
- Bray, E.A., Bailey-Serres, J. and Weretilnyk, E., 2000, "Responses to Abiotic Stresses" In: Buchanan B, Gruissem W, Jones R, (eds.), **Biochemistry and molecular biology of Plants.**, pp.1158-1203.

- Candan N., Tarhan L., 2003. Changes in Chlorophyll-Carotenoid Contents, Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation Levels in Zn-Stressed *Mentha pulegium*. **Turk J. Chem.** 27: 21-30.
- Chaoui A., Mazhoudi S., Ghorbal M.H., Ferjani E.E., 1997. Cadmium and Zinc Induction of Lipid Peroxidation and Effects on Antioxidant Enzyme Activities in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Plant Science** 127: 139-147.
- Cui L., Li J., Fan Y., Xu S., Zhang Z., 2006. High Temperature Effects on Photosynthesis, PSII Functionality and Antioxidant Activity of Two *Festuca arundinacea* Cultivars With Different Heat Susceptibility. **Botanical Studies** 47: 61-69.
- Çakmak I., Marschner H., 1992. Magnesium Deficiency and High-Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase in Bean Leaves. **Plant Physiol.**, 98: 1222-1227.
- Çakmak I., 1994. Activity of Ascorbate-Dependent H₂O₂ Scavenging Enzymes and Leaf Chlorosis are Enhanced in Magnesium- and Potassium-Deficient Leaves, But not in Phosphorus-Deficient Leaves. **J. Exp. Bot.**, 45: 1259-1266.
- Dash, S. and Mohanty N., 2001, "Evaluation of Assay for The Analysis of Thermo Tolerance and Recovery Potentials of Seedlings of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars", **J. Plant Physiol.**, Vol.158, pp.1153-1165.
- Dat, J., Vandenberghe S., Vranova E., Van Montagu M., Inze, D. and Van Breusegem F., 2000. Dual Action of the Active Oxygen Species During Plant Stress Responses. **Cell. Mol. Life. Sci.** 57: 779-795.
- Demming B. Adams and W.W. Adams, 1992. Photoprotection and Other Response of Plants to High Light Stress. *Annu. Rev. Plant Physiol. Moleculer Biology*, 43, 599-626.
- Droppa M, Masojidek J, Rozsa Z, Wolak A, Horvath LI, Farkas T, Horvath G., 1987. Characteristics of Cu Deficiency-Induced Inhibition of Photosynthetic Electron Transport in Spinach Chloroplasts. **Biochim. Biophys. Acta** 891: 75-84.
- Droppa M, Horvath G., 1990. The Role of Copper in Photosynthesis. *Plant Science* 9:11-123.
- Dunwell, J.M., 2000, "Transgenic Approaches to Crop Improvement", **J. Exp. Botanic** Vol. 51, pp.487-496.

- Efeoğlu B., 2006. *Triticum*’ un Bazı Çeşitleri ve *Aegilops* ‘un Bazı Türlerinde Yüksek Sıcaklık Şok Proteinlerinin Belirlenmesi. **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi**, Ankara.
- Ergün N., Öncel I., 2009. Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) İlk Gelişme Döneminde Kök ve Gövde Büyümesi Üzerine Bazı Ağır Metal – Hormon Uygulamalarının Etkileri. **YYÜ. Tar. Bil. Derg.** 19 (1): 11-17.
- Ergün N., Öncel I., 2010. Effects of Cadmium and Zinc on Growth and Some Biochemical Parameters of Lentil Seedlings (*Lens esculenta* L.). **C.Ü. Fen - Edebiyat Fak. Fen Bilimleri Dergisi** Cilt 31, Sayı 2.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2003. FAO Statistical Databases, <http://apps.fao.org>.
- Foyer, C.H., Descourvieres, P. and Kumar, K.J., 1994. “Protection Against Oxygen Radicals: an Important Defense Mechanism Studied in Transgenic Plants” **Plant Cell Environ.**, Vol.17, pp.507-523.
- Greger, M. Brammer E., Linberg S., Larsson C., Idestam-Almgist J., 1991. Uptake and Physiological Effects of Cadmium in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) Related to Mineral Provision. **J. Exp. Bot.** 42 (239): 729-737.
- Gülen H., Eris A., 2004. Effects of Heat Stress on Peroxidase Activity and Total Protein Content İn Strawberry Plants. **Plants Science** 166: 739-744.
- Halliwell B, Gutteridge JMC., 1984. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. **Biochem. J.** 219:1-14.
- Heckathorn, S.A., Downs, C.A. and Coleman, J.S., 1999. Small Heat Shock Proteins Protect Electron Transport in Chloroplast and Mitochondria During Stress, **American Zoologist**, 39 (6), 865-8876.
- Henriques F.S., 1989. Effects of Copper Deficiency on the Photosynthetic Apparatus of Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) **J. Plant. Physiol.** 135: 453-458.
- Hopkins G.W., 1995. **Introduction to Plant Physiology**, Inc,140p.
- Ibrahim, A.M.H. and Quick, J.S., 2001. “Heritability of Heat Tolerance in Winter and Spring Wheat”. **Crop Sci.**, Vol.41, pp.1401-1405.
- Ishag, H.M. and Mohamed, A.B., 1996. “Phasic Development of Spring Wheat and Stability of Yield and Its Components in Hot Environments”, **Field Crop Research**, Vol.46, pp.169-176.

- Jamal S.N., Iqbal M.Z., Athar M., 2006. Phytotoxic Effect of Aluminum and Chromium on the Germination and Early Growth of Wheat (*T. aestivum* L.) Varieties Anmol and Kiran. **Int. J. Environ. Sci. Tech.**, 3 (4): 411-416.
- Jordan B.R., J. He, Chow W. S., Anderson., 1992. **Plant Cell and Environ.**, 15,91-98.
- Kadıoğlu, A., 2007. **Bitki Fizyolojisi**. Esen Ofset Matbaacılık, 432 s. Trabzon.
- Kastori R., Petrovic M., Petrovic N., 1992. **J. Plant Nutr.**, 15(11), 2427-2439.
- Kasuga, M., Liu, Q., Setsuko, M., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K., 1999. “Improving Plant Drought, Salt, and Freezing Tolerance by Gene Transfer of a Single Stress Inducible Transcription Factor”, **Nat. Biotechnol.**, Vol.17, pp. 287- 291.
- Kırbağ-Zengin F., Munzuroğlu Ö., 2005. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Bazı Ağır Metallerin (Ni^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Zn^{+2}) Etkileri 2005. **F.Ü. Fen ve Müh. Bilimleri Dergisi**, 17 (1):164-172.
- Kırbağ-Zengin, 2006. (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Nikel (Ni^{+2}) ve Krom’un (Cr^{+3}) un Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniv., Ziraat Fakültesi, **Tarım Bilimleri Derg. (J. Agric. Sci.)**, 16(1):49-56.
- Kün, E., 1988. “Serin İklim Tahılları”, **Ankara Üniv., Ziraat Fak. Yayınları**: 1032, Ders Kitabı: 299, s.322.
- Laemmler, U.K., 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, **Nature**, 227, 680-685.
- Levitt, J., 1980. “Responses of Plant to Environmental Stresses”, Vol.II, Water Radiation, Salt and Other Stresses, **Academic Press**, Inc., 2nd. Edition, pp.607.
- Levitt J., 1972. Responses of plants to environmental stresses. **Academic Press**. NewYork.
- Lidon F.C., Ramalho J., Henriques F.S., 1993. **Plant Physiol.**, 142, 12-17.
- Lidon FC, Henriques FS., 1991. Limiting Step in Photosynthesis of Rice Plants Treated with Varying Copper Levels. **J. Plants. Physiol.** 138: 115-118.
- Lidon FC, Henriques FS .,1993. Changes in the Thylakoid Membrane Polypeptide Patterns Triggered by Excess Cu in Rice. **Photosynthetica** 28: 109-117.
- Lowry O.H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J., 1951. **J. Bio. Chem**, 193, 265-275.

- Luna CM, Gonzalez CA, Trippi VS., 1994. Oxidative Damage Caused by Excess of Copper In Oat Leaves. **Plant Cell Physiol.** 35: 11-15.
- Maestri, E., Klueva, N., Perrotta, C., Gulli, M., Nguyen, H.T. and Marmioli, N., 2001. “Molecular Genetics of Heat Tolerance and Heat Shock Proteins in Cereals”, **Plant Molecular Biology**, Vol.48, pp.667-681.
- Maksymiec W, Russa R, Urbanik-Sypriewska T, Baszynski T., 1994. Effects of Excess Cu on the Photosynthetic Apparatus of Runner Bean Leaves Treated at Two Different Growth Stages. **Physiol. Plant.** 91: 715-721.
- Marschner H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. **Academic Press**, London.
- McCain, D.C., Croxdale, J. and Markley, J.L., 1989. “Thermal Damage of Chloroplasts Envelope Membranes”, **Plant Physiol.**, Vol.90, pp.606-609.
- Meharg AA., 1994. Integrated Tolerance Mechanisms – Constitutive and Adaptive Plant Responses to Elevated Metal Concentrations in The Environment. **Plant Cell Env.** 17: 989– 993.
- Mishra, R.K. and Singhal, G.S., 1992. “Function of Photosynthetic Apparatus of Intact Wheat Leaves Under High Light and Heat Stress and Its Relationship With Peroxidation of Thylakoid Lipids”, **Plant Physiol.**, Vol.98, pp.1-6.
- Niyogi K.K., 1999. Photoprotection Revisited: Genetic and Molecular Approach, **Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.**, 50, 333-359.
- O’Mahony, P, Burke, J.J. and Oliver, M.J., 2000. “Identification of Acquired Thermotolerance Deficiency within Ditelosomic Series of ‘Chinee Spring’ Wheat”, **Plant Physiol. Biochem.**, Vol.38, pp.243-252.
- Ouzounidou G, Eleftheriou EP, Karataglis S.,1992. Ecophysiological and Ultrastructural Effects of Copper in *Thlaspi ochroleucum* (Cruciferae). **Can. J. Bot.** 70: 947-957.
- Ouzounidou G.,1994. Copper Induced Changes on Growth Metal Content and Photosynthetic Functions of *Alyssum montanum* L. Plant, **Environmental Exp.Bot.**,34, 165-172.
- Ouzounidou G, Moustakas M, Strasser RJ., 1997. Sites of Action of Copper in the Photosynthetic Apparatus of Maize Leaves: Kinetic Analysis of Chlorophyll Fluorescence, Oxygen Evolution, Absorption Changes and Thermal Dissipation As Monitored by Photoacoustic Signals. **Aust. J.Plant Physiol.** 24:81-90.

- Öncel I., Keleş Y., Üstün A.S., 2000. Interactive Effects of Temperature and Heavy Metal Stress on the Growth and Some Biochemical Compounds in Wheat Seedlings. **Environmental Pollution** 107: 315-320.
- Öncel. I., Keleş Y., 2002. Tuz Stresi Altındaki Buğday Genotiplerinde Büyüme, Pigment İçeriği ve Çözünür Madde Kompozisyonunda Değişmeler. **C.Ü. Fen Edebiyat Fak. Derg.** Cilt 23, Sayı 2.
- Özcan D., 2003. Doku Kültüründe Yetiştirilen Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Fidelerinin Gelişimi ve Perokidaz Enzimi Üzerine Bakırın (Cu) Etkilerinin İncelenmesi. **İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, İstanbul.
- Panda S.K., Chaudhury I., Khan M.H., 2003. Heavy Metals Induce Lipid Peroxidation and Effect Antioxidants in Wheat Leaves. **Biologia Plantarum** 46 (2):289-294
- Paulsen, G.M., 1994. "High Temperature Responses of Crop Plants", In: Boote et al. (eds.), Physiology and Determination of Crop Yield, ASA, CSSA, and SSSA, pp.365-389. Madison
- Patsikka E, Aro E-M, Tyystjarvi E., 1998. Increase in the Quantum Yield of Photoinhibition Contributes to Copper Toxicity in Vivo. **Plant Physiol.** 117: 619-627.
- Poschenrieder, C., Gunse, B., Barcelo, J., 1989. Influence of Cadmium on Water Relations Stomatal Resistance and Abscisic Acid Content in Expanding Bean Leaves. **Plant Physiol.** 90, 1365-1371.
- Poschenrieder C.H., Gunse B., Barcelo J., 1989. **Plant Physiol.**, 190, 1365-1371.
- Pourakbar L., Khayami M., Khara J., Farbodnia T.,2007. Physiological Effects of Copper on Some Biochemical Parameters in *Zea mays* L. Seedlings. **Pakistan Journal of Biological Sciences** 10 (22): 4092-4096.
- Prasad M.N., Strzalka K., 1999. Impact of Heavy Metals on Photosynthesis. In: Prasad M.N., Hagemeyer J (eds), Heavy Metal Stress in Plants, pp. 117-138. **Springer Publishers**, Berlin.
- Prasil, I. and Zamecnik, J., 1998. The Use of A Conductivity Measurement Method for Assessing Freezing Injury, **Environmental and Experimental Botany**, 40, 1-10.

- Quartacci MF, Pinzino C, Sgherri CLM, Dalla Vecchia F, Navari- Izzo F., 2000. Growth in Excess Copper Induces Changes in the Lipid Composition and Fluidity of PSII Enriched Membranes in Wheat. **Physiol. Plant.** 108: 87-93.
- Raison J.K., Berry, J.A., Armond, P.A. and Pike, C.S., 1980. "Membrane Properties in Relation to The Adaptation of Plants to High and Low Temperature Stress" In: Turner, N.C. and Kramer, P.J., (eds.), *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*, pp. 261-273, New York, USA.
- Rauser W. E., 1990, içinde H. Mahboobi, M. Yücel, H. A. Öktem, 2000. **J. Plant Nutr.** 23 (3), 391-399.
- Reynolds, M.P., Singh, R.P., Ibrahim, A., Ageeb, O.A.A., Larqué-Saavedra, A. and Quick, J.S., 1998. "Evaluating Physiological Traits to Complement Empirical Selection for Wheat in Warm Environments", **Euphytica**, Vol.100, pp. 84-95.
- Ristic Z., Bukovnik U., Prasad P.V.V., 2007. Correlation Between Heat Stability of Thylakoid Membranes and Loss of Chlorophyll in Winter Wheat Under Heat Stress. **Published in Crop. Sci.** 47: 2067-2073.
- Rubio M.I., Escring I., Martiner-Cortina C., Lopez-Benet F.J., Sanz A., 1994. Cadmium and Nickel Accumulation in Rice Plants. Effects on Mineral Nutrition and Possible Interactions of Absisic and Gibberellic Acids. **Plant Growth Regul.** 14: 151-157.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. and Shucla, D.S., 1997. Tolerance of Drought and Temperature Stress in Relation to Increased Antioxidant Enzyme Activity in Wheat, **J. Agronomy and Crop Science**, (178): 171-178.
- Sairam R. K., Rao, K. V. and Srivastava G. C., 2002. Differential Response of Wheat Genotypes to Long Term Salinity Stress in Relation to Oxidative Stress, Antioxidant Activity and Osmolyte Concentration. **Plant Science**, 163: 1037 - 1046.
- Salisbury F.B. and Ross C.W., 1992. **Plant Physiology**, 4th Edn. Wadsworth, Belmont, , 210-213 pp., Canada.
- Sandmann G, Böger P., 1980. Copper - Mediated Lipid Peroxidation Processes in Photosynthetic Membranes. **Plant Physiol.** 66: 797-800.
- Serrano R., Gaxiola R., 1994, içinde H. Mahboobi, M. Yücel, H. A. Öktem, 2000. **J. Plant Nutr.**, 23(3), 391-399.

- Subrahmanyam D., 2008. Effects of Chromium Toxicity on Leaf Photosynthetic and Oxidative Changes in Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Photosynthetica** 46 (3): 339-345.
- Srivastava S., Mishra S., Tripathi R. D., Dwivedi S., Gupta D. K., 2006. Copper Induced Oxidative Stress and Responses of Antioxidants and Phytochelatins in *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle. **Aquatic Toxicology** 80: 405-415.
- Singh D., Nath k., Sharma Y. K., 2007. Response of Wheat Seed Germination and Seedling Growth Under Copper Stress. **Journal of Environmental Biology** 28 (2): 409-414.
- Stobrawa K., Lorenc-Plucińska G., 2008. Thresholds of Heavy Metal Toxicity in Cuttings of European Black Poplar (*Populus nigra* L.) Determined According to Antioxidant Status of Fine Roots and Morphometrical Disorders **Sci. of the Total Environ.**390: 86-96.
- Sun, W., Montagu, M.V. and V, N., 2002. Small Heat Shock Proteins and Stress Tolerance in Plants, **Biochimica et Biophysica Acta.**, 1577, 1-9.
- Tatar Ö., Gevrek M. N., 2008. Influence of Water Stress on Proline Accumulation, Lipid Peroxidation and Water Content of Wheat. **Asian Journal of Plant Sciences** 7 (4): 409-412.
- Terzi H., 2006. *Triticum aestivum* L. ve *Triticum durum* Desf.' un Bazı Çeşitlerinde Fotosentetik Pigment Birikimi, Hücre Canlılığı ve Yüksek Sıcaklık Şoku Proteinlerinin Sentezi Üzerine Yüksek Sıcaklığın Etkisi. **Afyon Kocatepe Üniv. Fen Bilimleri Enst. Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi**, Afyon.
- Treshow, M., 1970. Environment and Plant Response, **Mcgraw-Hill Company**, 421p.
- Van Assche, F., Cardinaels, C., Clijsters, H., 1988. Induction of Enzyme Capacity in Plants as A Result of Heavy Metal Toxicity: Dose Response Relation in *Phaseolus vulgaris* L. Treated with Zinc and Cadmium. **Environmental Pollution** 52: 103-115.
- Van Assche ve F, Clijsters H., 1990. Effects of Metals on Enzyme Activity in Plants. **Plants Cell Environ.** 13: 195-206.
- Vasil, V., Castillo, A.M., Fromm, M.A. and Vasil, I.K., 1991. "Herbicide Resistant Fertile Transgenic Wheat Plants Obtained by Microprojectile Bombardment of Regenerable Embryogenic Callus", **Bio. Technology**, Vol.10, pp.667-675.

- Vazques M.D., Poschenrieder CH., Barcelo J., 1987. Chromium VI Induced Structural and Ultrastructural Changes in Bush Bean Plants (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annals of Botany** 59, 427-438.
- Vierling, E., 1991. "The Roles of Heat Shock Proteins in Plants", **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, Vol.42, pp.579-620.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., Beyersmann, D., 2003. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. **Toxicology** 192: 95–117.
- Wang, W.X, Vinocur, B. and Altman, A., 2003. "Plant Responses to Drought, Salinity And Extreme Temperatures: Towards Genetic Engineering for Stress Tolerance ", **Planta**, Vol. 218, pp.1-14.
- Waters E. R., Lee G. J., Vierling E., 1996, içinde H. Mahboobi, M. Yücel, H. A.Öktem. 2000. **J.Plant Nutr**, 23(3), 391-399.
- Xu, Q., Chitnis, V.P., Ke, A. and Chitnis, P.R., 1995. "Structural Organization of Photosystem I", In: P. Mathis (ed.), *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, **Kluwer Academic Publishers**, pp.87-90. Dordrecht, The Netherlands.
- Zou J.H, Wang M., Jiang W.S., Liu D.H., 2006. Effects of Hexavalent Chromium (VI) on Root Growth and Cell Division in Root Tip Cells of *Amaranthus viridis* L. **Pak. J. Bot.**,38: 673-81.

TEŞEKKÜRLER

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca bana yol gösteren, tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarında maddi-manevi yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen çok saygıdeğer ve sevgili danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Nuray ERGÜN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Elektroforez çalışmaları sırasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Suat ERDOĞAN' a, biyokimyasal analizlerin yapılması sırasında yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Deniz YILDIZ' a, istatistiksel analizlerim ve deneylerim sırasında yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Suat ŞAHİNLER'e, çalışmalarında her türlü bilgi ve laboratuvar imkanlarını sağlayan Araş. Gör. Hasan YILDIZ' a ve Uzm. Biyolog Hüseyin DOĞRU' ya, laboratuvar çalışmalarına yardımcı olan değerli arkadaşlarım yüksek lisans öğrencisi Serhat ÖZÇUBUKCU ve Başak YAVUZ' a ve çalışmalarım boyunca yardımını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tüm hayatım ve öğrenimim boyunca maddi-manevi olarak her zaman yanımda olan çok değerli babam Mehmet MUŞLU' ya, annem Salime MUŞLU'ya ve ablam Emel MUŞLU' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Gaziantep’de doğdum. İlköğrenimimi İskenderun Kurtuluş ilköğretim okulunda, lise öğrenimimi de Gaziantep İnci Konukoğlu Lisesinde tamamladım. 2004 yılında girdiğim Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi’nden, 2008 yılında mezun oldum. Aynı yıl, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde yüksek lisans eğitimime başladım.

EKLER

Ek 1. Buğday fidelelerinin kök boyları üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|------------------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 170,772 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 33,511 | 1 | 33,511 | 52,870 | P< 0.01 |
| Ağır metal | 23,684 | 1 | 23,684 | 37,366 | P< 0.01 |
| Konsantrasyon | 87,740 | 2 | 43,870 | 69,213 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 4,457 | 2 | 2,229 | 3,516 | P< 0.05 |
| Ağır metal*konsantrasyon | 11,843 | 2 | 5,921 | 9,342 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal* konsantrasyon | 8,623 | 2 | 4,312 | 6,802 | P< 0.01 |
| Hata | 15,212 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 2. Buğday fidelerinde sıcaklık+ağır metal uygulamalarının ortalama kök boyuna (cm bitki⁻¹) etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|---------|----|--|-------------------------------------|--------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 15,01±0,36 a | 14,07±0,19 a |
| Cr (µM) | 10 | | 12,63±1,01 ab | 9,64±0,19 b |
| | 30 | | 9,97±0,43 b* | 9,07±0,20 b* |
| Cu (µM) | 10 | | 14,39±0,25 a | 12,77±0,45 c |
| | 30 | | 14,03±0,28 a | 9,840±0,21 b |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=9).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 3. Buğday fidelelerinin kök taze ağırlığı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|---------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|----------|
| Genel | 0,0053 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 0,00024 | 1 | 0,00024 | 4,421 | P < 0.05 |
| Ağır metal | 0,00067 | 1 | 0,00067 | 12,235 | P < 0.01 |
| Konsantrasyon | 0,00335 | 2 | 0,00167 | 30,608 | P < 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal | 0,00031 | 1 | 0,00031 | 5,695 | P < 0.05 |
| Hata | 0,00131 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 4. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama kök taze ağırlığına (mg bitki^{-1}) etkisi.

| | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|----------------------|----|-------------------------------------|-------------|
| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | 82,0±1,6 a | 89,0±4,4 a |
| Cr (μM) | 10 | 69,6±1,0 a | 74,3±2,0 bc |
| | 30 | 44,6±3,4 b* | 66,0±0,2 c* |
| Cu (μM) | 10 | 85,4±0,7 a | 82,0±5,5 ab |
| | 30 | 72,4±1,0 a | 66,5±2,0 c* |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=9).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 5. Buğday fidelelerinin kök kuru ağırlığı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|---------------------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 0,00067 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 0,00003 | 1 | 0,00003 | 5,535 | P< 0.05 |
| Konsantrasyon | 0,0005 | 2 | 0,00025 | 41,603 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal | 0,00004 | 1 | 0,00004 | 6,518 | P< 0.05 |
| Sıcaklık*ağır metal* Konsantrasyon | 0,00005 | 2 | 0,000025 | 4,144 | P< 0.05 |
| Hata | 0,00014 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 6. Buğday fidelelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama kök kuru ağırlığına (mg bitki⁻¹) etkisi.

Triticum aestivum cv. Dağdaş

| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
|---------|----|-------------|--------------|
| | 0 | 25,21±0,7 a | 28,78±1,5 a |
| Cr (µM) | 10 | 21,8±3,2 a | 24,48±0,6 b |
| | 30 | 14,1±1,1 b* | 20,13±1,1 c |
| Cu (µM) | 10 | 24,48±0,9 a | 25,31±0,3 ab |
| | 30 | 21,23±0,2 a | 16,27±1,1 c* |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=9).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 7. Buğday fidelelerinin sürgün boyu üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|--------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 172,064 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 39,202 | 1 | 39,202 | 61,134 | P< 0.01 |
| Ağır metal | 8,801 | 1 | 8,801 | 13,725 | P< 0.01 |
| Konsantrasyon | 107,240 | 2 | 53,620 | 83,620 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal | 2,928 | 1 | 2,928 | 4,566 | P< 0.05 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 7,261 | 2 | 3,630 | 5,662 | P≤ 0.01 |
| Ağır metal*konsantrasyon | 5,159 | 2 | 2,580 | 4,023 | P< 0.05 |
| Hata | 15,390 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 8. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama sürgün boyuna (cm bitki⁻¹) etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|---------|----|--|-------------------------------------|---------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 20,1±0,12 a | 16,90±0,16 a |
| Cr (µM) | 10 | | 16,16±1,0 b* | 14,27±0,11 b |
| | 30 | | 14,87±0,32 b* | 11,98±0,87 c* |
| Cu (µM) | 10 | | 16,39±0,51 b* | 16,28±0,40 a |
| | 30 | | 15,89±0,09 b* | 14,63±0,50 b |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=9).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir

Ek 9. Buğday fidelelerinin sürgün taze ağırlığı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 0,0083 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 0,00068 | 1 | 0,00068 | 15,436 | P< 0.01 |
| Ağır metal | 0,00019 | 1 | 0,00019 | 4,313 | P< 0.05 |
| Konsantrasyon | 0,0068 | 2 | 0,0034 | 76,817 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 0,00032 | 2 | 0,00016 | 3,617 | P< 0.05 |
| Hata | 0,00106 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 10. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama sürgün taze ağırlığına (mg bitki⁻¹) etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|---------|----|--|-------------------------------------|--------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 179,6±3,0 a | 163,2±1,0 a |
| Cr (µM) | 10 | | 153,0±6,0 b* | 143,1±3,0 bc |
| | 30 | | 136,8±3,0 c* | 128,7±0,8 d* |
| Cu (µM) | 10 | | 148,3±1,0 bc* | 153,1±0,5 ab |
| | 30 | | 147,0±1,0 bc* | 141,5±2,0 b |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=9).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 11. Buğday fidelelerinin sürgün kuru ağırlığı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 0,00082 | 11 | | | |
| Konsantrasyon | 0,0007 | 2 | 0,00035 | 89,508 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal | 0,00004 | 1 | 0,00004 | 10,776 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 0,00003 | 2 | 0,000017 | 4,355 | P< 0.05 |
| Hata | 0,00009 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 12. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama sürgün kuru miktarına (mg bitki^{-1}) etkisi.

| | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|----------------------|----|-------------------------------------|-------------|
| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | 55,36±0,9 a | 53,35±0,4 a |
| Cr (μM) | 10 | 48,8± 2,2 b* | 47,3±1,8 bc |
| | 30 | 43,6±0,7 c* | 42,4±1,4 c* |
| Cu (μM) | 10 | 42,9±0,1 c* | 49,7±0,2 ab |
| | 30 | 42,6±0,3 c* | 46,3±1,0 bc |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=9).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 13. Buğday fidelelerinin kök/sürgün oranı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|---------------------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 0,183 | 11 | | | |
| Konsantrasyon | 0,07 | 2 | 0,035 | 16,066 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal | 0,046 | 1 | 0,046 | 20,978 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal* Konsantrasyon | 0,032 | 2 | 0,016 | 7,386 | P< 0.01 |
| Hata | 0,053 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 14. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının ortalama kök/sürgün oranına (mg bitki^{-1}) etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|----------------------|----|--|-------------------------------------|---------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 456,6±5,0 a | 542,7±34,0 a |
| Cr (μM) | 10 | | 444,3±40,0 a | 519,9±26,0 a |
| | 30 | | 324,7±22,0 b* | 473,2±11,0 a |
| Cu (μM) | 10 | | 569,7±20,0 c* | 509,9±9,0 a |
| | 30 | | 497,5±6,0 ac | 352,3±12,0 b* |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=9).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 15. Buğday fidelelerinin kök membran dayanıklılık indeksi üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|---------------------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|---------|---------|
| Genel | 3560,90 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 3534,228 | 1 | 3534,228 | 11231,6 | P< 0.01 |
| Ağır metal | 1,514 | 1 | 1,514 | 4,812 | P< 0.05 |
| Konsantrasyon | 11,587 | 2 | 5,794 | 18,412 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal | 7,582 | 1 | 7,582 | 24,094 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*ağır metal* Konsantrasyon | 4,276 | 2 | 2,138 | 6,795 | P< 0.01 |
| Hata | 7,552 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 16. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının % kök membran dayanıklılık indeksi (% MDİ) üzerine etkisi.

| <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | | | |
|-------------------------------------|----|--------------|--------------|
| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | 66,81±0,27 a | 47,34±0,11 a |
| Cr (µM) | 10 | 67,16±0,20 a | 45,76±0,48 b |
| | 30 | 66,68±0,66 a | 45,34±0,19 b |
| Cu (µM) | 10 | 64,84±0,19 b | 46,76±0,29 a |
| | 30 | 65,01±0,25 b | 45,86±0,08 b |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 17. Buğday fidelelerinin gövde membran dayanıklılık indeksi üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|--------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|---------|---------|
| Genel | 1972,49 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 1932,438 | 1 | 1932,438 | 5127,95 | P< 0.01 |
| Ağır metal | 14,178 | 1 | 14,178 | 37,623 | P< 0.01 |
| Konsantrasyon | 18,15 | 2 | 9,075 | 24,082 | P< 0.01 |
| Ağır metal*konsantrasyon | 7,114 | 2 | 3,557 | 9,439 | P< 0.01 |
| Hata | 9,044 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 18. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının % gövde membran dayanıklılık indeksi (% MDİ) üzerine etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|---------|----|--|-------------------------------------|---------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 82,93±0,21 a | 68,30±0,14 a |
| Cr (µM) | 10 | | 83,24±0,59 a | 68,09±0,11 a |
| | 30 | | 82,21±0,36 ab | 67,48±0,28 ab |
| Cu (µM) | 10 | | 80,98±0,48 bc | 66,71±0,25 b |
| | 30 | | 80,15±0,45 c | 65,65±0,45 c |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 19. Buğday fidelelerinin oransal su içeriği üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|-----------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 619,739 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 379,785 | 1 | 379,785 | 29,957 | P< 0.01 |
| Konsantrasyon | 213,447 | 2 | 106,723 | 8,418 | P< 0.01 |
| Hata | 304,261 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 20. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının oransal su içeriğine (OSİ) etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|---------|----|--|-------------------------------------|------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 74,94±0,48 | 66,31±0,08 |
| Cr (µM) | 10 | | 70,21±3,23 | 64,54±2,58 |
| | 30 | | 68,46±1,47 | 62,07±0,89 |
| Cu (µM) | 10 | | 74,35±2,29 | 66,33±1,58 |
| | 30 | | 71,25±0,69 | 65,55±1,11 |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=9).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 21. Buğday fidelelerinin klorofil a miktarı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|-----------------|-----------------|---------------------|--------------------|-------|---------------|
| Genel | 0,0224 | 11 | | | |
| Ağır metal | 0,0055 | 1 | 0,0055 | 7,829 | $P \leq 0.01$ |
| Konsantrasyon | 0,0043 | 2 | 0,0043 | 6,124 | $P < 0.01$ |
| Hata | 0,0169 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 22. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının klorofil a miktarı üzerine ($\mu\text{g g}^{-1}$ T.A) etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|----------------------|----|--|-------------------------------------|---------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 0,97±0,005 ab | 0,94±0,012 ab |
| Cr (μM) | 10 | | 0,94±0,023 a | 0,95±0,008 b |
| | 30 | | 0,92±0,002 a | 0,90± 0,009 a |
| Cu (μM) | 10 | | 0,98±0,026 b | 0,98±0,018 b |
| | 30 | | 0,93±0,004 a | 0,96±0,020 b |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi $P < 0.05$ düzeyinde farkı ifade etmektedir. * $P < 0.01$ düzeyinde önemlidir.

Ek 23. Buğday fidelelerinin klorofil b miktarı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|-----------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 0,018 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 0,00062 | 1 | 0,00062 | 14,992 | P< 0.01 |
| Ağır metal | 0,00347 | 1 | 0,00347 | 6,244 | P< 0.05 |
| Konsantrasyon | 0,0034 | 2 | 0,0017 | 4,160 | P< 0.05 |
| Hata | 0,010 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 24. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının klorofil b miktarı üzerine ($\mu\text{g g}^{-1}$ T.A) etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|----------------------|----|--|-------------------------------------|---------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 0,68±0,008 | 0,67±0,005 a |
| Cr (μM) | 10 | | 0,67±0,019 | 0,62±0,01 b* |
| | 30 | | 0,67±0,010 | 0,62±0,007 b* |
| Cu (μM) | 10 | | 0,68±0,014 | 0,64±0,008 b |
| | 30 | | 0,68±0,011 | 0,68±0,004 a |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 25. Buğday fidelelerinin toplam klorofil miktarı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyansi Analiz sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|-----------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 0,046 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 0,008 | 1 | 0,008 | 6,146 | P< 0.05 |
| Ağır metal | 0,014 | 1 | 0,014 | 11,113 | P< 0.01 |
| Konsantrasyon | 0,0089 | 2 | 0,00445 | 3,529 | P< 0.05 |
| Hata | 0,030 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 26. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının toplam klorofil miktarı üzerine (mg g^{-1} T.A) etkisi.

Triticum aestivum cv. Dağdaş

| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
|----------------------|----|---------------|---------------|
| | 0 | 1,53±0,012 ab | 1,49±0,013 a |
| Cr (μM) | 10 | 1,48±0,012 a | 1,46±0,016 ab |
| | 30 | 1,47±0,008 a | 1,41±0,013 b |
| Cu (μM) | 10 | 1,55±0,036 b | 1,50±0,034 a |
| | 30 | 1,49±0,004 a | 1,52±0,024 a |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 27. Buğday fidelelerinin klorofil a/b oranı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|-----------------|-----------------|---------------------|--------------------|---------|---------|
| Genel | 7,462 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 0,029 | 1 | 0,029 | 12,624 | P< 0.01 |
| Konsantrasyon | 7,417 | 2 | 3,709 | 1610,38 | P< 0.01 |
| Hata | 0,055 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 28. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının klorofil a/b oranına (mg g^{-1} T.A) etkisi.

| | | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|----------------------|----|--|-------------------------------------|---------------|
| | | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | | 1,43±0,011 | 1,41±0,021 a |
| Cr (μM) | 10 | | 1,42±0,076 | 1,54±0,011 b |
| | 30 | | 1,38±0,021 | 1,46±0,018 ab |
| Cu (μM) | 10 | | 1,48±0,029 | 1,53±0,015 b |
| | 30 | | 1,36±0,028 | 1,42±0,020 a |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 29. Buğday fidelelerinin karotenoid miktarı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|--------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 0,0044 | 11 | | | |
| Ağır metal | 0,002 | 1 | 0,002 | 41,812 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 0,00084 | 2 | 0,00042 | 7,849 | P< 0.01 |
| Ağır metal*konsantrasyon | 0,00104 | 2 | 0,00052 | 10,641 | P< 0.01 |
| Hata | 0,00128 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 30. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının karotenoid miktarı üzerine ($\mu\text{g g}^{-1}$ T.A) etkisi.

| <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | | | |
|-------------------------------------|----|-----------|-----------|
| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | 482 ± 3,0 | 496 ± 1,0 |
| Cr (μM) | 10 | 484 ± 5,0 | 499 ± 7,0 |
| | 30 | 481 ± 2,0 | 501 ± 6,0 |
| Cu (μM) | 10 | 470 ± 2,0 | 499 ± 4,0 |
| | 30 | 470 ± 4,0 | 500 ± 2,0 |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 31. Buğday fidelelerinin askorbat peroksidaz miktarı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 0,192 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 0,013 | 1 | 0,013 | 6,715 | P< 0.05 |
| Konsantrasyon | 0,0845 | 2 | 0,422 | 22,219 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 0,086 | 2 | 0,43 | 22,670 | P< 0.01 |
| Hata | 0,046 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 32. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının askorbat peroksidaz (AP) aktivitesi üzerine ($U \text{ mg}^{-1} \text{ T.A}$) etkisi.

Triticum aestivum cv. Dağdaş

| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
|----------------------|----|----------------|---------------|
| | 0 | 164,29±0,001 a | 198,8±0,004 a |
| Cr (μM) | 10 | 257,0±0,01 b | 309,5±0,01 b* |
| | 30 | 290,0±0,05 c | 126,2±0,03 a |
| Cu (μM) | 10 | 311,0±0,02 c* | 316,7±0,04 b* |
| | 30 | 333,0±0,03 c* | 145,2±0,01 a |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 33. Buğday fidelelerinin katalaz miktarı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 110321,71 | 11 | | | |
| Konsantrasyon | 76244,331 | 2 | 38122,17 | 78,423 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 27162,698 | 2 | 13581,35 | 27,939 | P< 0.01 |
| Hata | 11666,667 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 34. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının katalaz aktivitesi (KAT) üzerine ($U\ g^{-1}\ T.A$) etkisi.

Triticum aestivum cv. Dağdaş

| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
|---------------|----|----------------|-----------------|
| | 0 | 69,05±2,23 a | 130,95±2,22 a |
| Cr (μ M) | 10 | 152,38±11,9 b | 211,91±12,59 b* |
| | 30 | 238,09±18,5 c* | 147,61±16,67 a |
| Cu (μ M) | 10 | 180,95±16,6 b | 200,0±10,91 b* |
| | 30 | 238,09±24,8 c* | 200,0±12,59 b* |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 35. Buğday fidelelerinin serbest prolin miktarı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|--------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 12,903 | 11 | | | |
| Ağır metal | 5,546 | 1 | 5,546 | 69,648 | P< 0.01 |
| Konsantrasyon | 3,142 | 2 | 1,571 | 19,731 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 1,284 | 2 | 0,642 | 8,06 | P< 0.01 |
| Ağır metal*konsantrasyon | 2,896 | 2 | 1,448 | 18,184 | P< 0.01 |
| Hata | 1,911 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 36. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının serbest prolin miktarına (mg g^{-1} bitki) etkisi.

Triticum aestivum cv. Dağdaş

| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
|----------------------|----|--------------|---------------|
| | 0 | 1,63±0,12 a | 1,15± 0,03 a |
| Cr (μM) | 10 | 2,27±0,05 b* | 2,68± 0,18 b* |
| | 30 | 2,75±0,15 b* | 2,68± 0,29 b* |
| Cu (μM) | 10 | 1,20± 0,32 a | 1,68± 0,04 c |
| | 30 | 1,33± 0,06 a | 1,46± 0,06 ac |

Değerler aritmetik ortalama ± standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.

Ek 37. Buğday fidelelerinin çözümlü protein miktarı üzerine sıcaklık, ağır metal ve ağır metal konsantrasyonları ile bunların etkileşimlerini gösteren Varyans Analizi sonuçları.

| Varyans Kaynağı | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Kareler Ortalaması | F | P |
|--------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|--------|---------|
| Genel | 1,529 | 11 | | | |
| Sıcaklık | 0,294 | 1 | 0,294 | 38,478 | P< 0.01 |
| Ağır metal | 0,041 | 1 | 0,041 | 5,296 | P< 0.05 |
| Konsantrasyon | 0,259 | 2 | 0,130 | 16,939 | P< 0.01 |
| Sıcaklık*konsantrasyon | 0,285 | 2 | 0,142 | 18,601 | P< 0.05 |
| Ağır metal*konsantrasyon | 0,597 | 2 | 0,298 | 38,994 | P< 0.01 |
| Hata | 0,184 | 24 | | | |

*Sadece istatistik olarak önemli bulunan değerler verilmiştir.

Ek 38. Buğday fidelerinde sıcaklık + ağır metal uygulamalarının çözümlü protein miktarına (mg g^{-1} bitki) etkisi.

| | | <i>Triticum aestivum</i> cv. Dağdaş | |
|----------------------|----|-------------------------------------|---------------|
| | | 16/24 °C | 30/40 °C |
| | 0 | 0,61±0,02 a | 0,57± 0,04 a |
| Cr (μM) | 10 | 0,64± 0,01 a | 0,31± 0,03 b* |
| | 30 | 0,65± 0,02 a | 0,50± 0,10 ac |
| Cu (μM) | 10 | 1,16± 0,07 b* | 0,61± 0,01 a |
| | 30 | 0,36± 0,03 c* | 0,37± 0,03 bc |

Değerler aritmetik ortalama \pm standart hata (SH) olarak verilmiştir (n=3).

Harflendirmeler grup içi P < 0.05 düzeyinde farkı ifade etmektedir. * P < 0.01 düzeyinde önemlidir.