

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI



**AĞIR METAL STRESİNİN SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.)
Moench) BİTKİSİNDE FİDE GELİŞİMİ VE ANTİOKSİDAN
SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ**

Yüksek Lisans Tezi

Büşra ÇEVİK

Danışman
Prof. Dr. Deniz EKİNCİ

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Büşra ÇEVİK tarafından, Prof. Dr. Deniz EKİNCİ danışmanlığında hazırlanan “AĞIR METAL STRESİNİN SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) BİTKİSİNDE FİDE GELİŞİMİ VE ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 2.3.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Deniz EKİNCİ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Hakan ARSLAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Çoşkun GÜÇLÜ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

28 /03/2023
Büşra ÇEVİK

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : AĞIR METAL STRESİNİN SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) BİTKİSİNDE FİDE GELİŞİMİ VE ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 05.12.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 10

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

28 /03/2023
Prof. Dr. Deniz EKİNCİ

ÖZET

AĞIR METAL STRESİNİN SORGUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) BİTKİSİNDE FİDE GELİŞİMİ VE ANTİOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ

Büşra ÇEVİK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

Yüksek Lisans, Mart/2023

Danışman: Prof. Dr. Deniz EKİNCİ

Bitkiler fizyolojik dönemlerini tamamlamak için ihtiyaç duydukları maddeleri topraktan kökleri aracılığıyla alırlar. Bitkiler, bitki besin elementlerini alırken çevresel olumsuzluklar ile karşılaşmaktadır. Bu olumsuzluklar bitkilerin büyüme ve gelişmelerinde sınırlamalara neden olmaktadır. Çevresel veya herhangi bir organizmanın bitkiyle etkileşimi, bitki hücresinde birkaç yolun aktivasyonuna neden olabilir. Aktive olan bu yollar bitkinin strese tepki göstermesine yol açan biyolojik süreçlerdir. Bitkilerin normal büyüme ve gelişimlerini engelleyen etmenler “stres” olarak tanımlanır ve bitkide verim kaybına neden olur. Stres faktörleri biyotik ve abiyotik stres faktörleri olarak iki gruba ayrılabilir. Virüs, böcek, mantar, yabancı ot, nematod ve parazitler bitkinin hasar görmesine neden olan biyotik stres faktörlerindendir. Çevresel değişikliklerin yol açtığı, cansız etmenlerden kaynaklanan stres faktörleri abiyotik stres denir. Yüksek tuzluluk oranı, sıcaklık, kuraklık, ağır metal, fotoperiyottaki değişiklikler, ışık yoğunluğu ve kalitesi, besin bolluğu ve açlık, hava ve toprak kirliliği, abiyotik stres faktörleri grubunda yer alabilirler. Ağır metalde bitkide strese neden olan abiyotik stres faktörlerinden biridir. Ağır metaller ve toksik düzeyleri ROS türlerinin ortaya çıkmasına neden olarak fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri etkileyebilmektedir. Bu amaçla Sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) bitkisine $HgCl_2$ ve $CdNO_3$ ağır metal dozlarını (3, 6, 9, 12 ve 15 ppm) uygulamak suretiyle ağır metallerin Sorgum bitkisinde bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Sorgum bitkisinde enzim aktivitesi (SOD, POX), klorofil içeriği, yaş ağırlık, kuru ağırlık ve prolin içeriğine etkileri araştırılmıştır.

Bu amaçla ticari Öğretmenoğlu 77 çeşidi kullanılmıştır. Saksılara ekilen tohumlar 33 gün boyunca yetiştirildikten sonra ikiye gün arayla ağır metal solüsyonu uygulanmıştır. Yetiştirme süresi sonunda yapraklardan alınan örneklerle analizler yapılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre, civa ve kadmiyum uygulamaları POX ve SOD enzim aktivitelerinde ilk önce artışa daha sonra azalışa neden olmuştur. Ağır metal uygulaması sonucunda klorofil içeriği önce artmış daha sonra azalmıştır. Prolin içeriğine bakıldığında civa ve kadmiyum uygulaması sonucunda prolin içeriğinde azalma gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda yaş ve kuru ağırlıkta azalmalar gözlemlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Ağır Metal, Stres, Kadmiyum, Civa, Enzim Aktivitesi

ABSTRACT

EFFECTS OF HEAVY METAL STRESS ON SEEDLING GROWTH AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN SORGHUM (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)

Büşra ÇEVİK

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Agricultural Biotechnology

Master, March/2023

Supervisor: Prof. Dr. Deniz EKİNCİ

Plants take the substances they need to complete their physiological period from the soil through their roots. Plants encounter environmental negativities while taking plant nutrients. These negativities cause limitations in the growth and development of plants. The interaction of the environment or any organism with the plant can cause the activation of several pathways in the plant cell. These activated pathways are biological processes that cause the plant to react to stress. The factors that prevent the normal growth and development of plants are defined as "stress" and cause yield loss in the plant. Stress factors can be divided into two groups as biotic and abiotic stress factors. Viruses, insects, fungi, weeds, nematodes and parasites are biotic stress factors that cause plant damage. Stress factors caused by environmental changes and caused by non-living factors are called abiotic stress. They can be included in the group of high salinity, temperature, drought, heavy metal, changes in photoperiod, light intensity and quality, nutrient abundance and starvation, air and soil pollution, abiotic stress factors. Heavy metals and their toxic levels can affect physiological and biochemical processes by causing the emergence of ROS species. For this purpose, the effects of heavy metals on some physiological and biochemical properties of Sorghum were investigated by applying HgCl₂ and Cd(NO₃)₂ heavy metal doses (3, 6, 9, 12 and 15 ppm) to Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). The effects of enzyme activity (SOD, POX), chlorophyll content, wet weight, dry weight and proline content of sorghum plant were investigated.

For this purpose, Öğretmenoğlu 77 variety was used. After the seeds sown in the pots were grown for 33 days, heavy metal solution was applied at two-day intervals. At the end of the growing period, analyzes were made with the samples taken from the leaves.

According to the results of the research, mercury and cadmium applications caused first increase and then decrease in POX and SOD enzyme activities. As a result of heavy metal application, chlorophyll content first increased and then decreased. As a result of the study, decreases were observed in fresh and dry weights.

Keywords: Heavy Metal, Stress, Cadmium, Mercury, Enzyme Activity

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi birikimlerini, bilimsel düşünce ve tecrübelerini benden esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Deniz EKİNCİ başta olmak üzere, çalışmanın planlanması ve yürütülmesinde bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen Prof. Dr. Hakan ARSLAN'a ve yüksek lisans eğitimim boyunca emeği geçen bütün hocalarıma teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bu günlere gelmemde her konuda yanımda olan hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, bana yol gösteren, sevgilerini ve desteklerini her zaman hissettiğim en büyük destekçilerim olan aileme sonsuz teşekkür ederim.

Lisans eğitimimde başlayan ve bana arkadaştan çok kardeş olan maddi manevi her konuda yanımda olan Kübra IŞIK'a sonsuz teşekkür ederim.

Her konuda yanımda olan, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, bana yol gösteren, sabırla her koşulda yanımda olan ve en büyük destekçilerimden bir olan Mehmet Can ULUTAŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvar ve sera çalışmalarım sırasında yardımlarını, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Sayın hocalarım Arş. Gör. Ömer TAŞ, Arş. Gör. Dr. Ahmet Can OLCAY, Arş. Gör. Gürkan BİLİR'e sonsuz teşekkür ederim.

Büşra ÇEVİK

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Stres Faktörleri.....	1
1.1.1. Abiyotik Stres Faktörleri.....	2
1.1.2. Biyotik Stres Faktörleri.....	2
1.2. Ağır Metal.....	2
1.3. Ağır Metallerin Bitkiler Tarafından Alınması	5
1.3.1. Ağır Metallerin Kökler ile Alınımı	5
1.3.2. Ağır Metallerin Yapraklar ile Alınımı	5
1.4. Bitkilerin Ağır Metallere Tepkileri.....	5
1.5. Ağır Metallerin Bitkilere Zararı.....	6
1.6. Bitkilerin Ağır Metal Zararlarını Tolere Etme Mekanizmaları.....	7
1.7. Kadmiyumun Bitkilere Etkileri.....	7
1.8. Civanın Bitkilere Etkisi.....	9
1.9. Ağır Metallerle Kirlenmiş Toprakları Temizleme Yöntemleri.....	9
1.10. Enzimler.....	10
1.10.1. Enzimlerin Katalitik Aktiviteleri	11
1.10.2. Enzimlere Etki Eden Faktörler.....	13
1.11. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	15
1.11.1. Reaktif Oksijen Türleri	15
1.11.2. Bitkilerde Başlıca Serbest Radikaller	16
1.12. Antioksidanlar.....	17
1.12.1. Endojen Antioksidanlar	17
1.12.2. Eksojen Antioksidanlar	18
1.13. Sorgum (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench).....	19
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
2.1. Çalışmada Yararlanılan Bitki Materyali	21
2.2. Yöntem.....	21
2.1. Sonuçların İstatistiksel Analizi	26

3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
3.1. HgCl ₂ ve CdN ₂ O ₆ Stresinin Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri	27
3.1.1. Peroksidaz (POX) (EC 1.11.1.7)'a Ait Bulgular.....	27
3.1.2. SOD (Süperoksit dismutaz) (EC 1.15.1.1)'a Ait Bulgular.....	28
3.2. HgCl ₂ ve CdN ₂ O ₆ Stresinin Yaş ve Kuru Ağırlık Üzerine Etkileri	30
3.2.1. Yaş Ağırlığa Ait Bulgular	30
3.2.2. Kuru Ağırlığa Ait Bulgular	32
3.3. HgCl ₂ ve CdN ₂ O ₆ Stresinin Klorofil İçeriği Üzerine Etkileri.....	33
3.3.1. Klorofil'e Ait Bulgular.....	33
3.4. HgCl ₂ ve CdN ₂ O ₆ Stresinin Prolin İçeriği Üzerine Etkileri	35
3.4.1. Prolin'e Ait Bulgular.....	35
4. SONUÇ	38
KAYNAKLAR	41
ÖZ GEÇMİŞ.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

Al	:Aliminyum
CdN ₂ O ₆	:Kadmium nitrat tetrahidrat
HgCl ₂	:Civa klorid
MDA	:Malondialdehit
mM	:Milimolar
NADPH	:Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen
NBT	:p- Nitro Blue Tetrazolium
Ni	:Nikel
nm	:Nanometre
O ₂	:dioksijen
Pb	:Kurşun
POX	:Peroksidaz
ppm	:10 ⁻⁶
PVP	:Polivinylnolipyrrolidone
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
SOD	:Süperoksit dismutaz
TA	:Taze Ağırlık
TBA	:Thiobarbutirik asit
TCA	:Trikloroasetik asit
µl	:Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1. Şematik olarak ağır metallerin doğaya yayılımı.	4
Şekil 1. 2. Bitkilerde kadmiyumun kök alımı. Ortamdaki Cd (sarı) bitkilere bitki kökleri yoluyla girebilir (A); Cd konsantrasyonu düşük olduğunda ATP aktif taşıma için tüketilir ve konsantrasyon yüksek olduğunda pasif emilim için doğrudan hücrelere girer (B); Cd, hücreler arasında apoplast ve semplast yollarıyla taşınır (C)......	8
Şekil 1. 3. Enzimlerin katalitik aktiviteleri	11
Şekil 1. 4. Enzim substrat kompleksinin oluştuğu aktif merkez	12
Şekil 2. 1. Denemenin yapılacağı saksıların hazırlanması	22
Şekil 2. 2. Sorgum bitkisinin saksılara ekilmesi	22
Şekil 2. 3. Sorgum bitkisinden homojenat hazırlama	23
Şekil 2. 4. Bradford yöntemi ile protein tayini yapabilmek için kullanılan standart grafik ...	24
Şekil 2. 5. Protein tayini için kullanılan standart grafik.....	26

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. 1. Temel endüstrilerden atık olarak açığa çıkan metal türleri.....	4
Tablo 3. 1. POX enzimine ait varyans analiz sonuçları	27
Tablo 3. 2. Farklı uygulama ve dozların POX enzimine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları	28
Tablo 3. 3. SOD enzimine ait varyans analiz sonuçları	28
Tablo 3. 4. Farklı uygulama ve dozların SOD enzimine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları	30
Tablo 3. 5. Yaş Ağırlık değerlerine ait varyans analiz sonuçları	31
Tablo 3. 6. Farklı uygulama ve dozların Yaş Ağırlık değerlerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları.....	32
Tablo 3. 7. Kuru Ağırlık değerlerine ait varyans analiz sonuçları	32
Tablo 3. 8. Farklı uygulama ve dozların Kuru Ağırlık değerlerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları	33
Tablo 3. 9. Klorofil içeriğine ait varyans analiz sonuçları	33
Tablo 3. 10. Farklı uygulama ve dozların Klorofil içeriğine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları	35
Tablo 3. 11. Prolin içeriğine ait varyans analiz sonuçları	35
Tablo 3. 12. Farklı uygulama ve dozların Prolin içeriğine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları	37

1. GİRİŞ

İnsanlar hayatları boyunca tabiat ve tabiatta oluşan olaylarla ilgilenmişlerdir. Belirli koşullarda toprakta çimlenen tohumların gövde, yaprak ve kök gibi dokuları meydana getirmesi insanlık tarihi boyunca insanların ilgisini çeken önemli hususlardan biri olmuştur. Çünkü insanların yaşamlarını sürdürebilmeleri için hammadde, besin ve enerji kaynağı olarak bitki yaşamına ihtiyaç duymaktadırlar. Bitkiler fizyolojik dönemlerini tamamlamak için ihtiyaç duydukları maddeleri topraktan kökleri aracılığıyla alırlar. Toprakta bulunan maddeler bitkilerde de bulunmaktadır (Brohi et al., 1994). Bitki besin elementlerinin bitki beslenmesinde rolleri farklıdır. Bu besin elementleri bitkilere dengeli bir şekilde verilmelidir. Tarımsal açıdan büyük bir değere sahip olan bitkiler, bitki besin elementlerini alırken çevresel olumsuzluklar ile karşılaşmaktadır. Bu olumsuzluklar bitkilerin büyüme ve gelişmelerinde sınırlamalara neden olmaktadır. Bitkilerin büyüme ve gelişmeleri için ihtiyacı olan elementler “bitki besin elementleri” olarak adlandırılır. Bitki dokuları analiz edildiğinde tabiatta bulunan bir çok elemente rastlayabiliriz. Bitkiler besin iyonlarının alımında seçici olsa da, yetiştiği ortamın içeriğinde yararlı formda bulunan besin elementlerinin yoğunluğu arttıkça, bitki bünyesine pasif olarak geçen ağır metaller, besin zincirine dahil olabilmektedirler. Bu besin zincirinin içerisinde olmalarının sonucu olarak bitkilerde, bu bitkiler ile beslenen hayvanlarda ve insanlarda zehirli etkilere sebep olabilmektedir. Çünkü bitkiler yetiştirme ortamında var olan elementleri yaşamları için gerekli veya gereksiz olsa da bünyelerine alabilirler. Bu elementlerden sadece 16 tanesi (N, P, H, O, C, K, Ca, S, Fe, Mg, Cu, Cl, Mn, B, ve Mo) bitkiler için gerekli besin elementleridir , diğer 6 element (Al, Na, Co, Ni, V, ve Si) bazı bitkiler ve prosesler için gerekli olan yararlı elementlerdir (Yıldız, 2003). Dünyanın sanayileşmesi ve giderek artan trafik yoğunluğu bir çok kirleticiyle beraber ağır metallerin çevrede yoğunluklarını arttırmaktadır. Bu olumsuz durumlar karşısında savunma yeteneği olmayan bitkilerde ürün ve verim kaybı olarak birçok olumsuz sonucu ortaya çıkarmaktadır (Munzuroğlu ve Geckil, 2002).

1.1. Stres Faktörleri

Çevresel veya herhangi bir organizmanın bitkiyle etkileşimi, bitki hücresinde birkaç yolun aktivasyonuna neden olabilir. Bitki hücresinde aktive olan bu yollar bitkinin strese tepki göstermesine yol açan biyolojik süreçlerdir (Wrzaczek et al., 2011). Bütün canlı organizmalar gibi bitkiler de büyüme ve gelişimlerini ortaya

koymak için optimum çevresel koşullara gereksinim duyarlar. Bitkilerin normal büyüme ve gelişimlerini engelleyen etmenler “stres faktörleri” olarak tanımlanır ve bitkilerde verim kaybına neden olur. Bitkide bu değişikliklere yol açan uyaranlar biyotik ve abiyotik stres faktörleri olarak iki ana gruba ayrılmaktadır (Schulze and Beck, 2005).

1.1.1. Abiyotik Stres Faktörleri

Çevresel değişikliklerin yol açtığı, cansız etmenlerden kaynaklanan stres faktörüne abiyotik stres denir. Sıcaklık, yüksek tuzluluk oranı, kuraklık, ağır metaller, ışık yoğunluğu ve kalitesi, fotoperiyottaki değişiklikler, besin bolluğu ve açlık, donma, hava ve toprak kirliliği olarak sınıflandırılabilir (Wrzaczek et al., 2011). Abiyotik stres koşulları altında bitkilerde oldukça toksik olan reaktif oksijen türleri olarak adlandırılan reaktif moleküller oluşmaktadır. Bu moleküller lipit, karbonhidrat, protein ve DNA hasarına yol açarak oksidatif stresin meydana gelmesine neden olmaktadır. Bu hasarların önlenmesi için bitkiler antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler (Gill and Tuteja, 2010).

1.1.2 Biyotik Stres Faktörleri

Bitkilerin diğer organizmalarla etkileşimleri sonucu ortaya çıkan stres durumu biyotik stres olarak adlandırılmaktadır. Virüs, mantar, böcek, bakteri, nematod, yabancı ot ve parazitler bitkinin bir kısmının hasar görmesine neden olmaktadır. Biyotik stres faktörleri bitkiye büyük ölçüde zarar verdiği için verim kaybına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

1.2. Ağır Metal

Ağır metal tanımı çevresel problemlerle birlikte açığa çıkmakta ve yüksek yoğunluğa sahip, düşük yoğunluklarda zehirleyici olabilen metaller olarak tarif edilir. Fiziksel özellikleri bakımından ağır metaller 5 g/cm^3 'ten daha yüksek yoğunluğa sahip metaller olarak tanımlanabilir. Elementlerin içerisinde 70'den fazla ağır metal bulunmaktadır. Bu ağır metallere demir, kurşun, kadmiyum, krom, civa, bakır, çinko gibi elementler örnek verilebilir. Doğaları gereği bu elementler, yer kürede karbonat, silikat ve sülfür formunda stabil bileşik olarak ya da silikatlar içerisinde bulunmaktadır.

Antik çağlardan itibaren işlenmeye başlanan ağır metaller, insan faaliyetleri ile birlikte atmosfer, hidrosfer ve pedosfere yayılmaya başlamıştır. Asırlardan beri

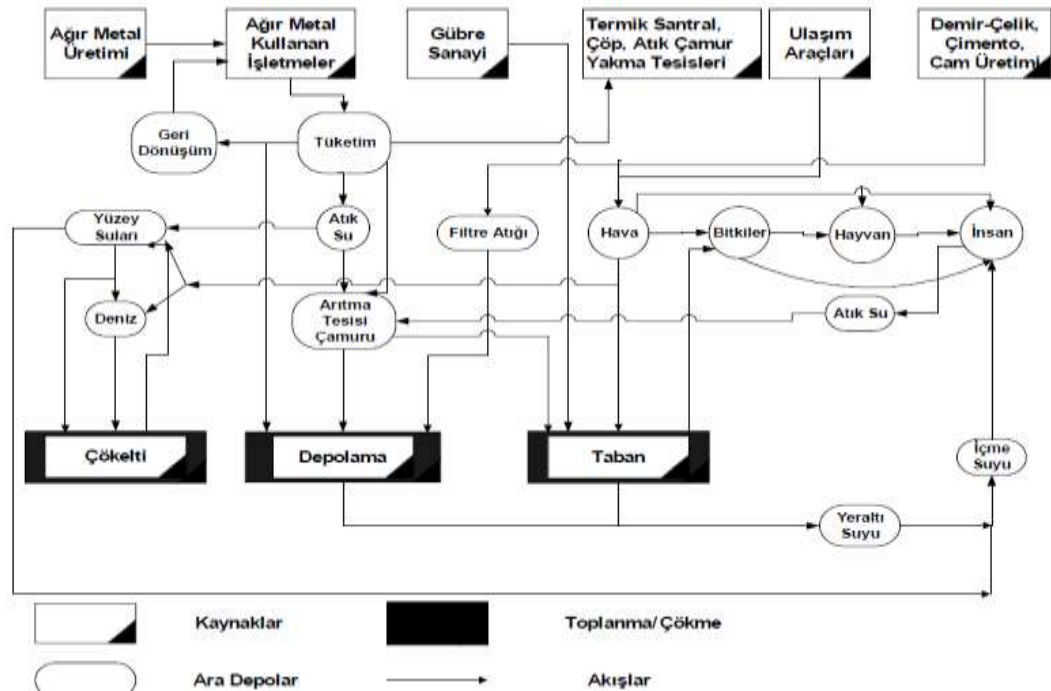
insanlar ağır metallerin zararlı etkilerinin farkında olmadan silah, takı, su borusu vb gibi farklı amaçlarda kullanılan ürünleri üretmek için metallerden faydalanılmıştır. Ağır metallerin çevreye doğal ve antropojenik kaynaklar olmak üzere iki temel kaynaktan yayılmaktadır. Erozyon, minerallerin ayrışması ve volkanik faaliyetler ağır metallerin doğal kaynaklarındandır. Pestisit kullanımı, madencilik, bilinçsiz ve düzensiz tarımsal uygulamalar, endüstriyel ve evsel atıklar, artan nüfusla birlikte taşıt kullanımının artması antropojenik kaynaklardan sayılabilir. Sanayileşmenin başlamasıyla beraber ağır metal bulunduran kömürlerin yakılması ile endüstri bölgelerinde ağır metal kirliliği giderek artmaya başlamıştır (Kahvecioğlu vd., 2003). Kentleşme ve endüstrileşmenin doğaya verdiği en büyük zararlardan biri çevre kirliliğidir (Bayçu, 1997). Maden ocaklarının, kimya sektörünün ve metal fabrikalarının yoğun olarak kullandıkları ahşap koruyucular ve mantar ilaçları ağır metal içermektedir. Sanayilerin yaydığı toz ve gazların bu sebeple toprakları ve bitkileri kirlettiği belirtilmektedir (Peterson, 1993). Özellikle ağır metalle kirlenmiş topraklar üzerinde yaşayan bitkiler için potansiyel bir tehlikedir (Giger et al., 1993). Atmosferde bulunan farklı gaz ve parçacıkların yoğunluğu, fabrikalardan çıkan ve havayı kirleten gazlar ve fabrika atıkları toprak ve bitki verimini olumsuz etkilemektedir. Özellikle bu durum yirminci yüzyılın ikinci yarısıyla başlayan endüstri gelişimiyle ortaya çıkan ve giderek artan hava ve ağır metal kirliliği günümüzde canlıları etkileyen ve potansiyel tehlike oluşturan bir durum haline gelmiştir. Bu potansiyel tehlike ekosistemin primer üretici durumunda ki bitkiler üzerinde daha fazladır. Kirliliğe neden olan ağır metaller bitkilerin vejetatif organlarını olumsuz yönde etkilediği bir çok çalışmada belirtilmiştir. Yalnızca vejetatif organları değil, generatif organları da olumsuz yönde etkilemektedir (Zheljaskov and Nielsen, 1996).

Su kaynaklarına ağır metaller, endüstriyel atıklar ya da asit yağmurları ile toprağın bileşiminde bulunan ağır metallerin çözünmesi sonucunda göl, ırmak ve yeraltı sularına ulaşmasıyla geçer. Suyu geçen ağır metaller seyrelip kısmen karbonat, sülfür ve sülfat olarak katı bileşik oluşturup su tabanına çökerler. Çökme sonucunda bu alanda birikirler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan dolayı sularda bulunan ağır metal yoğunluğu zamanla artar. Atık sularda var olan ağır metallerin bir miktarı arıtma çamurlarında sabit kalırlar, çözünmüş kısımlar yüzey sularına ve denize ulaşarak sediment tabakasında birikirler. Bu bölgelerden ağır metaller tekrardan hareket ederek içilebilen sulara karışırlar ve böylece besin zincirine

katılırlar. Besin ağına giren ağır metaller vücuttan atılamaz ve birikirler. Ağır metallerin çevreye yayılmasına sebep olan endüstriyel faaliyetler, demir çelik sanayi, çimento üretimi, cam üretimi, termik santraller, çöp ve atık çamur yakma tesisleridir (Kahvecioğlu, vd., 2003). Toksik özelliğe sahip ağır metaller farklı kaynaklardan çevreye yayılarak çağımızda yaşadığımız çevre kirliliğinin en önemli sebeplerinden olmaktadır (Goyer, 1991).

Tablo 1. 1. Temel endüstrilerden atık olarak açığa çıkan metal türleri (Rether and Alexander, 2002).

Endüstri	Kadmiyum	Krom	Bakır	Civa	Kurşun	Nikel	Kalay
Kağıt Endüstri	-	+	+	+	+	+	-
Petrokimya	+	+	-	+	+	-	+
Klor-alkali Üretimi	+	+	-	+	+	-	+
Gübre Sanayi	+	+	+	+	+	+	-
Demir-Çelik Sanayi	+	+	+	+	+	+	+
Enerji Üretimi (Termik)	+	+	+	+	+	+	+



Şekil 1. 1. Şematik olarak ağır metallerin doğaya yayılımı (Jhon, et al., 1996; Rathe, 2002).

1.3. Ağır Metallerin Bitkiler Tarafından Alınması

Bitkiler, gübrelerden, atık sulardan, tarımda kullanılan pestisitlerden ve atmosferde bulunan ağır metalleri derişime bağılı olarak bünyelerinde biriktirirler. Ağır metaller bitkiler tarafından, kök ve yapraklar yoluyla alırlar.

1.3.1. Ağır Metallerin Kökler ile Alınımı

Toprakta bulunan metallerin bir miktarı bitkilerin bünyesine alınırken diğeri bir kısmıda toprakta kalmaktadır. Metalleri depolayan bitkiler ilk olarak toprakta bulunan metalleri harekete geçirmektedir. Bunu yapabilmek için bitkiler, toprakta bağılı bulunan metalleri çözerek metal şelatlandırıcı molekülleri (fitosideroforez) rizosfere salarlar. Bu fitosideroforezlere avetik asit ve mugineik asit örnek olarak verilebilir (Kinnerseely, 1993). İkincisi ise spesifik plazma membranına bağılı metal redüktazlarla metal iyonlarını azaltırlar. Son olarak bitki köklerine bıraktıkları protonlarla birlikte toprağı asitleştirerek ağır metalleri çözerler ve düşük pH oluşmasına olanak sağlayarak toprağın içerisinde bağılı olarak bulunan metal iyonlarının serbest kalmasını sağlarlar (Clarkson and Luttge, 1989). Kök içine ekstraselüler ya da intraselüler yollarla girebilen metal iyonları, genel veya spesifik iyon taşıyıcıları ya da kanallar vasıtasıyla bitki hücrelerine alınırlar (Clarkson and Luttge, 1989; Liu et al., 2007). Bitki için gereksiz olan ağır metaller ise aynı transmembran taşıyıcılarını kullandıkları için rekabet içerisinde girerler (Salt et al., 1995).

1.3.2. Ağır Metallerin Yapraklar ile Alınımı

Bitkinin yaprakları da esansiyel ve esansiyel olmayan metal alınımında görev alırlar. Bazı metaller gaz formundadır ve stomalar aracılığı ile alınırlar. Fakat farklı metaller değışik seviyelerde absorbe edilebilir. Örnek olarak çinko, kadmiyuma kıyasla daha fazla yaprağı nüfuz edebilir (Wang et al., 2003).

1.4. Bitkilerin Ağır Metallere Tepkileri

Ağır metalle kirlenmiş toprakları temizlemek ve bu topraklarda gelişmek için biyolojik mekanizmalar geliştiren bitkilere metallofitler denir. metallofit bitkiler büyümek için üç temel strateji geliştirmiştir (Baker and Walker, 1990).

- a. Metal dışlayıcılar; Metallofit taksonların çoğu, yüksek metal konsantrasyonu aralığında, havada ki metallerin taşınmasını ve girişini fizyolojik olarak kısıtlar ve köklerinde biriktirir.
- b. Metal göstergeleri; Metal göstergeleri; Bu bitkiler kendi dokularında metalleri biriktirir ve dokularında biriktirdikleri metal konsantrasyonu ile toprakta ki metal konsantrasyonu aynıdır.
- c. Metal hiperakümülatörler; Bitkilerin büyüme ve gelişmeleri için Mg, Fe, Zn gibi metallere ihtiyaçları vardır. Ancak bazı bitkiler Cd, Hg, Ag gibi biyolojik işlevi olmayan ağır metalleri biriktirme yeteneğine sahiptir. Anormal konsantrasyonlarda ağır metalleri biriktiren bitkiler hiperakümülatör olarak adlandırılırlar. Hiperakümülatör bitkiler metalleri toprak üstü aksamında depolar (Sheoran et al., 2010).

1.5. Ağır Metallerin Bitkilere Zararı

a. Ağır Metallerin Bitkilerin Morfolojik Özelliklerine Verdiği Zararlar

Bitkilerin ağır metallerle ilk karşı karşıya kalan organları kökleridir ve ağır metal hasarları ilk köklerde gözlemlenir (Tester and Leigh, 2001; Verma and Dubey, 2003). Kökte, yan köklerde azalma veya artma, saçak köklerin miktarında azalma ve genel kök boyunda kısalma gibi hasarlar görülebilir. Ağır metal hasarı devam ettikçe bu zarar kök bölgesi dışında bitkinin gövedesine doğru ilerler ve uzamayı etkiler. Ayrıca ağır metal hasarı bitkinin kök ve gövedesinde yaş ve kuru ağırlıkta azalmaya neden olur bu da bitki gelişimini olumsuz etkiler (Barceló and Poschenrieder, 1990).

Ağır metal hasarı yapraklarda işe şekil değişikliklerine, yaprak alanında küçülmeye, renk değişimine ve klorofil kaybına neden olabilir (Bedavides et al., 2005; Lombardi and Sebastiani, 2005).

b. Ağır Metallerin Bitkilerde Biyokimyasal Düzeyde Verdiği Zararları

Ağır metaller, lipid peroksidasyonuna neden olur ve membran yapısının işleyişini bozabilirler (Luna et al., 1994). Lipid peroksidasyonu sonucunda meydana gelen malondialdehit (MDA) iyon alınımını negatif yönde etkiler, bileşiklerin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olur. Sonuç olarak membran yapısı, enzim aktivitesi, iyon taşınımı ve hücre bileşenlerinin stabilitesi bozulabilir (Li et al., 2006). Cd (Kadmiyum) gibi ağır metaller klorofil sentezinde görev alan enzimleri inhibe eder ve enzim aktivitesi negatif etkilenir (Ouzounidou, 1995).

1.6. Bitkilerin Ağır Metal Zararlarını Tolere Etme Mekanizmaları

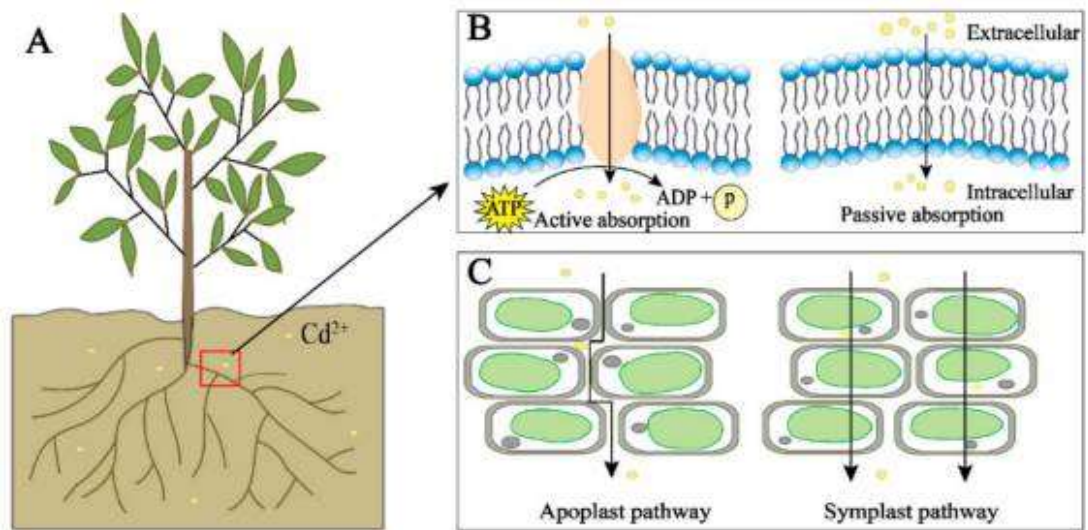
Tarımda yapılan pestisit ve gübreleme uygulanması, endüstriyel atıklar ve gazlar vasıtasıyla ağır metaller toğrağa karışmaktadır. Bu metallerin bitkiler tarafından topraktan uzaklaştırılmasına fitoremedasyon denir. Fitoremedasyonun başarılı olabilmesi için ağır metal bulaşmasının olduğu bölgelerde biyokütle oluştururken büyük miktarlarda metal biriktirebilen hiperakümülatör bitki türleri kullanılmalıdır. Hiperakümülatör bitkilerin ağır metal ihtiyaçları biriktirici olmayan türlere göre daha fazladır. Hiperakümülatör bitkilerin tolerans mekanizmaları;

- a. Hücre membranlarına doğru taşınımın azaltılması; Ağır metal bitki köklerine tutunduğu için gövde ve sürgünlere taşınması önlenir, böylece taşınım azaltılır.
- b. Hücre duvarlarına metal bağlanması; Pb-karbonat olarak tutulurlar.
- c. Şelatlama; Cd'un thiol grupları, Pb glutatyon ve aminoasitlere bağlanması ile fitoşelatları oluşturur.
- d. Vakuollerde depolanma; çinko elementi çinko fitat, oksalat ve malat gibi düşük molekül ağırlığına sahip organik bileşikler yapısında, Cd thiol gruplarına ve Ni histidin'e bağlanması sonucu vakuollerde biriktirilir (Aksu ve Yıldız, 2004).

1.7. Kadmiyumun Bitkilere Etkileri

Kadmiyum, suda ve atmosferde çeşitli formlarda bulunabilen toksik bir ağır metaldir (Shahid et al., 2016; Wang et al., 2015). Abiyotik stres faktörü olarak kadmiyum, bitkilerin büyümesini ve gelişimini değişen derecelerde etkileyebilir (Augustsson et al., 2018). Ortamda ki kadmiyum belirli bir konsantrasyonu aştığında bitkilerde oksidatif stresi uyarır, lipid peroksidasyonunu indükler ve reaktif oksijen türlerinin birikimini artırarak oksidatif hasara yol açar (Singh et al., 2006; Wan et al., 2019; Wang et al., 2015; Zhang and Zhang, 2016). Ek olarak ayrıca kadmiyum daha yavaş bitki büyümesine, azalan klorofil içeriğine, sarı yapraklara ve daha yavaş fotosentez hızına neden olabilir. Bu nedenle bitkilerin büyümesi, gelişmesi, fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri etkilenir ve yüksek kadmiyum konsantrasyonu bitki ölümüne bile neden olabilir (Bora et al., 2020; Huang et al., 2020; Andresen et al., 2016). Cd'nin bitkilere girişinin ana yolu bitkinin kökleri yoluyla topraktan veya sudan alınmasıdır ve bitkinin yaprakları yoluyla da atmosferden alınabilir (Cutler and Rains,

1974; Harrison and Chirgawi, 1989). Cd'nin kökler tarafından alınması temel olarak iki aşamaya ayrılır. İlk olarak, Cd, bitki kök salgıları ve kök hücre duvarındaki negatif yüklü karboksil grupları ile elektrostatik olarak etkileşime girerek bitki köklerine adsorbe olur (Hauser et al., 2005; Meychik et al., 2006). Bu adım kendiliğinden ve hızlıdır. Daha sonra kökler tarafından adsorbe edilen Cd, doğal dirençle ilişkili makrofaj proteini gibi plazma zarı taşıyıcıları tarafından bitki korteksinden geçer ve son olarak bitki kök hücreleri tarafından emilir. Bu adım, Cd'nin yüksek hareketliliği ve suda çözünürlüğü ile elde edilir. Çalışmalar, ortamdaki Cd konsantrasyonu arttıkça bitkilerdeki Cd içeriğinin de arttığını ancak bitki köklerinden sürgünlere Cd taşınım hızının azaldığını göstermiştir (Palusinska et al., 2020). Cd, düşük konsantrasyonlarda aktif taşıma ve yüksek konsantrasyonlarda pasif taşıma yoluyla hücreye girer. Ek olarak, kirli alanlardaki havadaki ağır metal partiküllerinin içeriği, atmosferik birikme ile ilgili olduğu tahmin edilen bitki yapraklarındaki ağır metallerin içeriği ile önemli ölçüde ilişkilidir (De Temmerman et al., 2012; Espinosa and Oliva, 2006). Havadaki ağır metal partikülleri, yağmur ve toz ile bitkilerin yüzeyinde birikebilir ve yaprak epidermisinin stomaları yoluyla doğrudan bitki gövdesine emilir veya bitki tarafından emilmek üzere epidermisin kütikülü ile etkileşime girer (Anda and Soós, 2013; Hui Lu et al., 2020). İki alım yolu olmasına rağmen, kök emilimi, kadmiyum alımının ana yoludur.



Şekil 1. 2. Bitkilerde kadmiyumun kök alımı. Ortamdaki Cd (sarı) bitkilere bitki kökleri yoluyla girebilir (A); Cd konsantrasyonu düşük olduğunda ATP aktif taşıma için tüketilir ve konsantrasyon yüksek olduğunda pasif emilim için doğrudan hücrelere girer (B); Cd, hücreler arasında apoplast ve semplast yollarıyla taşınır (C). (Yang et al., 2021).

1.8. Cıvanın Bitkilere Etkisi

Ekilebilir topraklara yüksek miktarlarda cıva (Hg) girişı, besin zincirinde yaygın cıva kirliliğine yol açmaktadır. Cıva HgS, Hg⁺², HgO ve metil-Hg gibi farklı yapılarla sahip olduğu için benzersiz bir metaldir. Ancak üretim arazilerinde iyonik form (Hg⁺²) hakimdir (Han et al., 2006). Yüksek oranlarda Hg⁺², bitki hücrelerine karşı güçlü bir fitotoksik etki gösterir. Hg⁺²'nin toksik düzeyleri bitkilerde yaralara ve fizyolojik bozuklukların ortaya çıkmasına neden olur. Yüksek düzeyde Hg⁺², mitokondriyal aktiviteyi etkiler ve reaktif oksijen türlerinin üretimini uyarak oksidatif stres yaratır. Bu durum bitkilerde biyomembran lipidlerinin ve hücre metabolizmasının bozulmasına neden olur (Messer et al., 2005; Cargnelutti et al., 2006).

1.9. Ağır Metallerle Kirlenmiş Toprakları Temizleme Yöntemleri

Şimdiye kadar ağır metallerin çevreye verdiği zararları azaltmak için ağır metaller tarafından zarar görmüş toprakların yıkanması, katılaştırma, çukur açılarak atıkların buralarda toplanması ve stabilizasyon gibi kimyasal ve fiziksel temizleme yöntemleri geliştirilmiştir (Sheoran et al., 2010; Wuana and Okieimen, 2011). Bu yaklaşımların yüksek maliyetli olması, iş gücünün fazla olması ve toprağın yapısını geri dönüşümsüz bozulmasından dolayı, toprağın mikroflorasında bozulmalara neden olması gibi kısıtlamaların olduğu belirtilmektedir (Kumar et al., 2014). Kimyasal yöntemler bu kısıtlamaların haricinde ayrı bir kirlilik problemine de yol açabilir. Bu gibi kısıtlamalardan dolayı çevreye uyumlu, düşük maliyet ve iş gücü gerektiren geri kazanım yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. “Yeşil çözüm” olarak adlandırılan, ağır metal kirliliğine karşı düşünülen, bitkilerle iyileştirme bu problemi çözmek için kullanılabilecek bir yaklaşımdır. Fitoremedasyon temel olarak çevredeki kirleticilerin konsantrasyonlarını veya toksik etkilerini azaltmak için bitkilerin ve ilgili toprak mikroorganizmaların kullanımını ifade eder. Bu yöntem ağır metal kirliliğinin yanı sıra, polinükleer aromatik hidrokarbonlar, poliklorlu bifeniller ve pestisitlerin uzaklaştırılması içinde kullanılabilir. Bu yöntem uygun maliyetli, verimli, çevre dostu, yerinde uygulanabilir olması ve güneş kaynaklı bir iyileştirme stratejisi olduğu için uygulanabilirliği yüksektir (Ali et al., 2013).

1.10. Enzimler

Çok eski zamanlardan beri insanlar enzimlerden yararlanmıştır. 1800 yıllarının başlarında şekerin alkole fermantasyonu, sütün ekşimesi gibi olayların canlı organizmalar vasıtası ile oluştuğu düşünülmekteydi. Enzim alanında yapılan ilk çalışmalar 1760 ile 1825 yılları arasında sindirim enzimleri ile ilgili olmuştur. 1825 yılları arasında Jön Jacob BERZELLIUS, buğdaygillerden elde edilen enzimler karışımının nişastayı sülfirik asitten daha hızlı parçaladığını gözlemledikten sonra canlı organizmadaki bütün maddelerin katalizör etkisi altında sentezlendiğini ifade etmesi ve biyolojik reaksiyonlar arasına katması enzimler üzerinde sistematik çalışmaların başlangıcı olmuştur.

1860 yıllarında PASTEUR, fermantasyona enzimlerin sebep olduğunu anlamış ve enzimlerin etkilerini göstermelerinin, maya (yeast) hücrelerinin canlı olması ile bağlantılı olduğu hipotezini iddia etmiştir. Ayrıca enzim için organize olmuş **fermente** deyimini kullanmış ve aktivite göstermesi için hücre içinde bulunmasının şart olduğunu ileri sürmüştür. 1894 yıllarında CHITTENDEN' nin enzimler hakkında ileri sürdüğü üç görüş enzimoloji tarihinde bir devrim olmuştur. Bu görüşler günümüzde geçerliliğini hala devam ettirmektedir. Bu görüşler;

- 1.Enzimler protein yapısından oluşmuştur.
- 2.Katalitik aktiviteleri enzim proteininin özel yapısı ile ilişkili olarak açığa çıkmaktadır.
- 3.Enzimler pasif katalizörler değildir, substratları ile ara kompleksler yaparak çalışan aktif moleküllerdir.

Eduard BUCHNER kardeşler 1897 yıllarında maya (yeast) hücrelerinden alkolik fermentasyonu katalizleyen enzimleri kabaca ayırmayı başarmışlardır. Bu sonuç doğrultusunda enzimlerin aktivite gösterebilmeleri için hücre içerisinde bulunmalarının gerekli olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu gerekçelere rağmen ilk enzimin saflaştırılarak kristal halde elde edilmesi yıllar sonra gerçekleştirilmiştir. James B. SUMNER 1926 yılında fasülye türü olan *Canavalia ensiformis* den üreaz enzimini saf ve kristal formda elde etmiş ve enzimlerin proteinlerden oluştuğunu öne sürmüştür. Dört yıl önce 1922 yılında WILLSTATER enzimleri aktivite göstermeyen fakat taşıyıcılık ödevi yapan proteinlerin yüzeyine bağlı, fakat protein yapısında olmayan aktiviteye sahip bileşikler olarak tanımlamamıştır. NORTHROP 1930 yılında pepsini,

1931 yılında tripsini ve 1936 yılında kimotripsini saf ve kristalize formda elde etmeyi başarmıştır.

Araştıracının, enzimlerin yapılarının proteinlerden oluştuğunu kanıtlaması sonucunda bu durum bilim dünyası tarafından benimsenmiştir. Günümüzde gerçekleştirilen yöntemlerle hücreden arı sistemlerde fakat hücresel organeller ve moleküller kullanılarak enzimlerin hücre dışında sentez edilmesi ve enzimlerin diğer proteinlerden ayırmak ve kromatografi yöntemi ile saf halde elde edilmesi mümkündür (Gözükara, 2011). Enzimler yapısı bozulmadan veya değişikliğe uğramadan kimyasal reaksiyonları katalizleyen proteinden oluşan moleküllerdir. Enzimler bazı RNA (ribozim) molekülleri hariç genellikle protein yapıdadırlar. Enzimler canlılar için çok önemlidir. Canlılar yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmek için enzimlere ihtiyaç duyarlar. Katalizör olarak bir enzimin işlevi, aktivasyon enerjisini düşürerek, reaksiyonun hızını arttırmaktır. Neredeyse tüm biyolojik tepkimeler enzimler aracılığı ile devam eder. Enzimler aktivasyon enerjisini “ara madde katalizi” prensibine göre yaparlar. Enzimler dengeyi değiştirmemesine rağmen reaksiyonu hızlandırıp dengenin çabuk yeleşmesini sağlarlar. Enzimler çok yüksek katalitik aktiviteye sahip moleküllerdir. Örneğin 1 dakika da 36 milyon molekülü değişikliğe uğratabilirler.

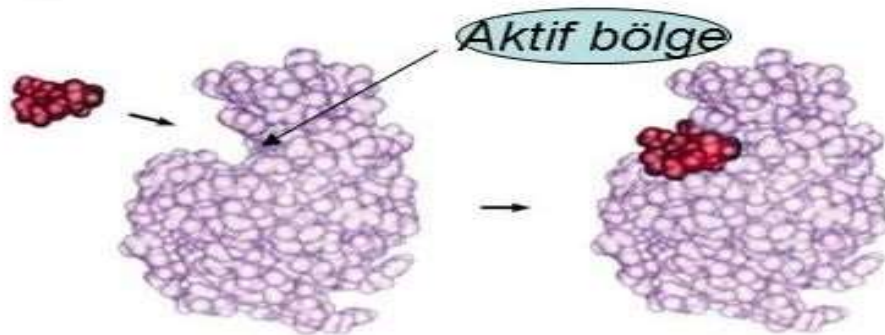


Şekil 1. 3. Enzimlerin katalitik aktiviteleri

1.10.1. Enzimlerin Katalitik Aktiviteleri

Enzimlerin kimyasal katalizörlerden en önemli farkı spesifik olmalarıdır. Enzim substratı ile birleşerek substratı ürüne dönüştürür. Enzimler günümüzde hücreden çıkmış, ekonomik ve günlük hayatımızda yer almaya başlamıştır. Günümüzde bira, ekmek, peynir üretimi gibi ekonomik sahalarda ve deterjan endüstrisi gibi temizlik alanlarında da kullanılarak günlük hayatımıza girmiştir. Enzimleri ekonomik ve

temizlik alanları dışında tıpta hastalıkların teşhisi ve tedavisinde, eczacılık, tekstil, farmakoloji, kimya endüstrisi, gıda prosesleri, ziraat ve biyolojik savaşlarda da kullanılmaya başlanmış ve kullanım alanları giderek artmaktadır. Enzimler canlı hücrelerde biyolojik koşullarda sentezlenirler fakat aktivite göstermeleri için hücre içerisinde bulunmalarına gerek yoktur. Canlıları meydana getiren biyomoleküller kinetik açıdan oldukça kararlılardır ve rastgele reaksiyon vermezler. Biyomoleküllerin bu sayesinde şu önemli sonuç elde edilir. Hücre içinde bir reaksiyon enzim olmadan genellikle kendiliğinden gerçekleşmez. Enzimler özel yapıya sahip olmuş ve genellikle büyük protein moleküllerinden meydana gelmişlerdir. Enzimlerdeki protein moleküllerini oluşturan aminoasitlerin primer dizilişi genler tarafından belirlenmektedir. Yani enzimler protein yapısında ve proteinlerde amino asitlerden meydana gelir. Amino asitlerin dizilişi genler tarafından kontrol edilmektedir. Bu durumda enzimler yalnızca katalizör niteliğinde değil, hücreyi diğerlerinden farklı yapan özelliklere ait bilgilerin DNA'dan aktarılmasını sağlayan önemli araçlardır. Enzim proteininde bulunan amino asitlerin özel dizilişi, enzimlerin belirli konformasyonda ve kuarternet yapıyı kazanmasında önemli rol oynar. Enzim proteinlerinin yapısı enzimin biyolojik aktivitesi dışında, metabolik olayların kontrolünün sağlanması içinde önemlidir. Enzimler hücrenin ara metabolizmasını meydana getiren ve binlerce reaksiyonu idare eden moleküllerdir. Enzimler bir ya da birden fazla substratı etkileyerek aktivite göstermek için bazı durumlarda koenzime bazen de kofaktöre gereksinim duyarlar. Hücre metabolizmasının düzenlenmesi oldukça zor bir olaydır. Bir enzimin ürünü, başka bir enzimin substratı olur ve bu etkileşimler hücre metabolizmasının düzenlenmesinde etkin bir rol oynar.



Şekil 1. 4. Enzim substrat kompleksinin oluştuğu aktif merkez

Enzim-substrat kompleksinin oluşmasını sağlayan bölgeye **aktif merkez** denir. Enzimler büyük moleküllerdir substratlar ise enzimlere göre oldukça küçük moleküllerdir. Dolayısıyla enzim-substrat kompleksinin oluşmasını sağlayan aktif merkez enzimin dar bir bölgesini oluşturmaktadır. Aktif merkez kofaktör ve koenzimin bağlandığı substratın, enzimin değişikliğe uğratıldığı bir bölgedir. Aktif merkezde en az bir aminoasit'in özel bir rolü vardır. Aktif merkezde katalizden sorumlu amino asitin tayin edilmesi enzim katalizinin daha iyi anlaşılmasında önemli bir noktadır.

1.10.2. Enzimlere Etki Eden Faktörler

Enzim reaksiyonlarının hızı üzerine;

- ✓ Enzim ve substrat konsantrasyonu
- ✓ Sıcaklık
- ✓ Zaman
- ✓ pH
- ✓ Reaksiyon ürünlerinin etkisi vardır.

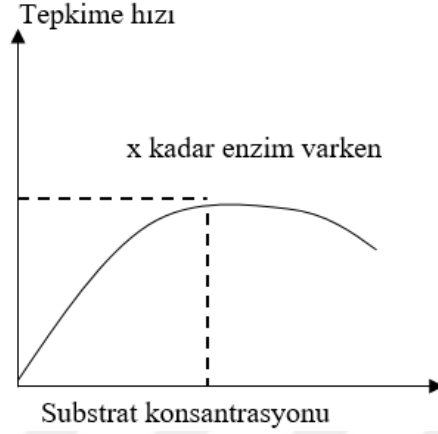
a) Enzim Konsantrasyonunun Etkisi

Genel olarak enzim konsantrasyonunun hızı, konsantrasyonu ile doğru orantılı olmaktadır. Substrat konsantrasyonu stabil tutulduğu zaman enzim konsantrasyonu artırılırsa substratın bütünü enzim-substrat kompleksi oluşturana kadar reaksiyon hızı artmaya devam eder. Ortamda substrat bittiği zaman reaksiyon sabitlenir.



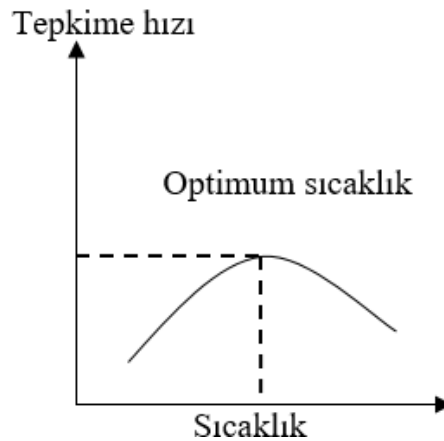
b) Substrat Konsantrasyonunun Etkisi

Sabit bir enzim konsantrasyonunda, substrat konsantrasyonu arttırıldığı zaman enzim reaksiyonunun hızı bir noktaya kadar artar. Substrat konsantrasyonunun arttırılması bu noktadan sonra reaksiyon hızını değiştirmez.



c) Sıcaklığın Etkisi

Sıcaklığın artmasıyla birlikte enzimle katalizlenen reaksiyonun hızı da artmaktadır. Başlangıçta reaksiyon hızı sıcaklık ile doğru orantılı olarak artar. Bu artışın nedeni reaksiyona katılan moleküllerin kinetik enerjilerindeki artıştan dolayıdır. Sıcaklığın arttırılması moleküllerin kinetik ve çarpışma sıcaklığında artışa neden olur, böylece tepkimeye giren molekül sayısında artmış olur. Sıcaklık ile orantılı olarak tepkime hızındaki bu artış sürekli olarak devam etmez çünkü sıcaklık, substratların kararlı durumda bulunamayacakları bir sınıra ulaşır. Sıcaklık belli bir noktayı aştıktan sonra enzim denatüre olur. Her enzimin özelinde belirli sürede substratını en fazla değişikliğe uğrattığı sıcaklık vardır ve bu sınır ilgili enzimin optimum sıcaklığı olarak adlandırılır.



d) Zamanın Etkisi

Enzimle katalizlenen reaksiyon hızı zaman geçtikçe azalır, bunun sebebi; reaksiyon sonucu oluşan ürünlerin kendi aralarında birleşerek ters yöndeki reaksiyonu oluşturması, enzimin zamanla aktifliğini kaybetmesi, reaksiyonu engelleyen maddelerin meydana gelmesi ve sonunda substratın bitmesidir.

e) Reaksiyon Sonucu Oluşan Ürünlerinin Etkisi

İn vitro enzim reaksiyonu devam ettiği sürece reaksiyon sonucu oluşan ürünler enzimi inhibe eder ve enzim reaksiyonu yavaşlar. inhibisyonun nedeni, reaksiyon ürünlerinin moleküler yapısının substrata benzemesi ve enzime substrattan daha çok bağlanmalarıdır. Reaksiyon ürünü, enzim ile substratın birleştiği aktif bölgenin dışında bir yerden birleşebilmektedir. Allosterik bölgeye bağlanan efektör molekül, enzimin aktif bölgesinde bir değişikliğe neden olabilir. Bunun sonucunda enzim proteininin şeklinde bozulmalar meydana gelir. Enzimin substrat ile birleşmesi sonucunda substratın yapısında, konsantrasyonunda değişiklik olur ve diğer faktörlere bağlı olarak inhibisyon gerçekleşir. Buna allosterik etki denilmektedir.

1.11. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Biyolojik sistemlerde serbest radikallerle bunların etkilerini ortadan kaldıran antioksidanlar arasında ki stabilitenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanabilir. Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron bulunduran bileşiklerdir. Kısa ömürlü ve reaktiftirler. Serbest radikaller hücrede enerji üretimi için gerekli olan reaksiyonlar tarafından ya da normal bir metabolizmanın devamında üretilebilir (Kilinc ve Kilinc, 2002). Üretilen serbest radikaller, membran lipidlerine, nükleik asit ve hücre içi proteinlere etki eder ve bu makromoleküllerin yapısını ve fonksiyonunu değiştirdiği, hücre hasar oluşturduğu bilinmektedir.

1.11.1. Reaktif Oksijen Türleri

Atmosferde var olan normal oksijen molekülü O_2 ya da moleküler oksijen olarak isimlendirilir. Oksijen molekülünün bir kısmı öncelikle mitokondri olmak üzere, hücresel bölümlerdeki metabolizma esnasında indirgenerek ROS'a dönüşür. Başlıca reaktif oksijen türleri;

a) O_2^- (Süperoksit) radikali

Aerobik hücrelerde dioksijenin bir elektron alması ile indirgenmesi sonucunda oluşur.

b) H₂O₂ (Hidrojen peroksit)

Hidrojen peroksit serbest radikal olmadığı halde reaktif oksijen türlerinin arasına girer. Hidrojen peroksit serbest radikal oluşumunda önemli role sahiptir.

c) OH (Hidroksil radikali)

OH oldukça reaktif bir radikaldir. Yarılanma ömrü 9-10 saniye kadardır, yarılanma ömrü son derece kısadır. Reaktif oksijen türlerinin en güçlüsüdür

1.11.2. Bitkilerde Başlıca Serbest Radikaller

Bitkiler enerji üretimi için oksijen kullanırlar ve oksijenin suya indirgenmesi reaktif oksijen türleri (ROS) olarak isimlendirilir (Foyer and Harbinson, 1994). Bitkinin tamamında, farklı organ veya dokularında yaşlanma ile birlikte hız kazanan, hastalık ve zararlı faktörlerden kaynaklanan biyotik veya abiyotik stres organizmada indirgenmiş oksijen türlerinin birikimini teşvik eder. Bitkilerde meydana gelen serbest elektronlar temel olarak, O₂⁻ (süperoksit), OH (hidroksil), ROO (peroksi), HO₂ (perhidroksil), C₆H₄O (fenoksi), RO (alkoksi) ve ¹O₂ (tekil oksijen) formlarıdır (McKersie and Leshem, 1994). Bu formlar reaktif oksijen olarak adlandırılır. Gereğinden fazla alınan enerji, oksijeni daha çok reaktif olan tekil oksijene (¹O₂) dönüştürür (Foyer and Harbinson, 1994). Tekil oksijen diğer biyolojik moleküller ile reaksiyona girerek endoperoksit ya da hidroperoksit türevlerine dönüştürür (Halliwell, 1989). O₂⁻ fazlasıyla reaktiftir; yarılanma ömrü 2-4 µsn kadardır bu sebeple biyolojik membranları geçmeden H₂O₂'ye süperoksit dismutaz (SOD) ile dismutasyona uğratılır. O₂⁻ metal içeren enzimlerdeki Fe⁺³ ve Cu⁺²'yi ve quinonları indirgeyerek aktivitelerini sonlandırır. O₂⁻'den oluşan hidroperoksil radikalleri de biyolojik membranların sulu fazından geçerek, poliansatüre yağ asitlerinden ve lipid hidroperoksitlerden hidrojen atomu çıkarır ve oto-oksidasyona sebep olurlar (Halliwell and Gutteridge, 1989). Hidrojen peroksit ise orta düzeyde reaktif ve daha uzun ömürlü (1msn) serbest radikaldir. En reaktif ROS molekülü olan OH (hidroksil radikali) ise H₂O₂'den metal katalizörlerin kullanıldığı Haber-Weiss veya Fenton reaksiyonları ile meydana gelir. OH⁻, hücrelerin atılmasında kullanılabilecekleri enzim sistemi olmadığı için kolaylıkla bütün biyolojik moleküller ile reaksiyona girebilir. Fazla miktarda üretildiklerinde ise hücrelerin ölümüne sebep olur (Halliwell and Gutteridge, 1989).

1.12. Antioksidanlar

Düşük yoğunluklarda okside edilen ve diğer substratın oksidasyonunu azaltan ya da önleyen maddelere antioksidanlar denir.

Antioksidanların etki mekanizması şu şekilde özetlenebilir;

- Moleküler oksijeni uzaklaştırır ya da bölgesel olarak bulunduğu yerde konsantrasyonunu azaltabilir,
- O_2^- (süperoksit) veya H_2O_2 (hidrojen peroksit) gibi reaktif oksijen türlerini ortamdan uzaklaştırır ya da adaha zayıf moleküllere dönüştürür.
- Katalitik metal iyonlarını ortamdan uzaklaştırır.
- ROT'dan kaynaklı hasarın onarımını sağlar
- ROT'ların hasarına neden olan zincirleme reaksiyonların başlamasını önler (Özcan vd., 2015).

Antioksidanlar endojen ve eksojen olarak iki grupta toplanabilirler. Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan-antioksidan stabilitesini korumak için serbest radikallerden organizmayı korur (Sen and Chakraborty, 2011). Bu antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılabilir (Çaylak, 2011).

1.12.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayanlar olarak ikiye ayrılır.

a) Enzimatik Antioksidanlar

CAT (katalaz), SOD (süperoksit dismutaz), GR (glutasyon redüktaz), GPx (glutasyon peroksidaz) enzimatik antioksidan savunma hattını oluşturur.

➤ Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, reaktif oksijen türlerine karşı ilk savunma hattını meydana getirir. Süperoksit dismutaz, O_2^- (süperoksit radikalini)'yi hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene (O_2) dönüştüren enzimatik antioksidandır. Hidrojen peroksiti (H_2O_2) katalaz veya glutasyon peroksidaz ile ortamdan uzaklaştırılır (Young and Woodside, 2001).

➤ **CAT (Katalaz)**

Dört protein alt biriminden oluşan katalaz, her bir alt birim ise, bir hem grup, bir NADPH molekülünden oluşur (Young, 2001; Kirkman, 1987). H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü katalizler (Limón-Pacheco and Gonsebatt, 2009).

➤ **Glutasyon Redüktaz (GR)**

Glutasyon redüktaz, flavin adenin dinükleotid (FAD) bulunduran bir flavoprotein enzimdir. GR, NADPH'ın bir elektron alarak okside glutasyonu GSH'ye dönüştürür. NADPH bir elektronunu GSSG (okside glutasyonun) disülfid bağlarına bağlayarak GSH'a dönüştürmesinden dolayı, NADPH serbest radikal hasarını engellemek için gereklidir (Sen and Chakraborty, 2011; Özkan, 2004).

➤ **GPx (Glutasyon Peroksidaz)**

GPx, hücrelerin sitoplazmasında bulunur. Hidrojen peroksitin (H_2O_2) neden olduğu oksidatif hasara karşı hücreleri korur. Hidrojen peroksitten hidroksil oluşumunu engeller. GPX'in iki anan tipi belirlenmiştir. Birincisi aktif bölgesinde selenyum bulunduran Se-GPX'dir. Se-GPX hidrojen peroksit ve organik hiperoksitlere karşı etkilidir. GST, selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidazdır. GST organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde görev yapar (Cnubben et al., 2001; Özkan, 2004).

b) Enzimatik olmayanlar

- Glutasyon
- Ürik Asit
- Melatonin
- Albumin
- Bilirubin
- α -Lipoik Asit
- Koenzim Q10

1.12.2. Eksojen Antoksidanlar

- Vitamin C
- Vitamin E
- Folik Asit

1.13. Sorgum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)



Sorghum bicolor (L.) Moench, Poaceae (Gramineae) familyasından bir bitkidir. Tek yıllık sıcak iklim bitkisi. 50-240 cm'ye kadar boylanabilir. 5-100 cm Yaprak uzunluğu uzunluğunda, 5-100 mm genişliğinde, salkımlar 3-30 mm genişliğinde, 5-60 cm uzunluğunda olabilir. Sorgumun anavatanı kuzeydoğu Afrika'dır (Kökten vd., 2022). Sorgum bitkisi, çok eski zamanlarda kültüre alınmış olup dünyada uygun iklime sahip bölgelerde kolayca yetişebilmektedir. Tane sorgum çok sıcak ve kurak alanlarda mısıra alternatif bir şekilde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Sorgum bitkisi, tuzlu ve bitki besin maddeleri bakımından fakir topraklarda, su basmalarının olduğu alanlarda mısıra göre daha toleranslı olabilir. Sorgum dünyada en önemli tahıl bitkileri arasında beşinci sırada yer alır. Sorgumun protein oranı mısıra göre daha yüksektir fakat sindirilebilir proteim oranı mısıra göre daha düşüktür (Kaplan ve Kızılsimşek, 2012). Amerika da sorgum bitkisi mısırdan sonra hayvan beslemede en çok kullanılan bitkidir (Yılmaz ve Kökten, 2019). Ülkemiz iklim ve toprak koşulları açısından sorgum üretimine elverişli olmasına rağmen henüz arzu edilen düzeye ulaşamamıştır. Sorgum türleri kendileri

arasında kolay bir şekilde melezlenerek verimli d  ller elde edilebilmektedir. Bu yüzden sorgumun t  r ve   e  itleri arasında büyük bir genetik varyasyon görülmektedir (Ayan, 2008).

Bilimsel Sınıflandırma

- Alem: Plantae
- Bölüm: Tracheophyta
- Sınıf: Magnoliopsida
- Takım: Poales
- Familya: Poaceae
- Cins: *Sorghum*
- T  r: *S. bicolor*

Tez çalışmasındaki amaçlardan birisi sorgum bitkisi'nin kuraklıktan kaynaklı kıtlık sorununa çözüm olarak gösterilen bir bitki olmasıdır. Çok sıcak ve kurak alanlarda, tuzlu ve besin elementlerinden yoksun topraklarda kolaylıkla yetişebilen bir bitkidir. Dünya da tahıl bitkileri içerisinde 5. sırada yer almaktadır. Ağır metaller tarım arazilerini kirletmektedir, bu kirlilik canlı organizmalar için potansiyel tehlike oluşturmaktadır. Ağır metaller insanlarda alzheimer, parkinson hastalığı, akciğer ve pankreas vb. kanser türlerine neden olmaktadır. Ağır metallerle kirl   tarım arazilerinde yetişen bitkiler aracılığıyla ağır metaller besin zincirine katılıp insan ve hayvanları negatif yönde etkilemektedir. Çalışmamızda sorgum bitkisini olumsuz koşullara dirençli olma özelliği açısından seçilmiş olup, abiyotik stres faktörlerinden olan ağır metal kirliliğine karşı verdiği tepkilerin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Çalışmada Yararlanılan Bitki Materyali

Çalışmamızda kullandığımız bitki materyali tescil edilmiş ticari Öğretmenoğlu 77 sorgum çeşiti kullanılmıştır.

Öğretmenoğlu 77

- ✓ *Sorghum bicolor* (L.) Moench, Poaceae familyasından bir bitkidir.
- ✓ Tek yıllık sıcak iklim bitkisidir.
- ✓ 50-240 cm'ye kadar boylanabilir.
- ✓ 5-100 cm yaprak uzunluğu uzunluğunda, 5-100 mm genişliğinde, salkımlar 3-30 mm genişliğinde, 5-60 cm uzunluğunda olabilir.

2.2. Yöntem

Planlanan bu tez çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesine ait B2 serasında gerçekleştirilmiştir. Deneme tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre planlanmış olup 2 farklı uygulama, her uygulama için 5 farklı doz olacak şekilde planlanmıştır. Denemede bir buçuk litrelik saksılar kullanılmıştır. Tohumlar ekilmenden önce yüzey strelizasyonu yapılmıştır. Sterilizasyon işlemi için önce musluk suyu altında yıkama, daha sonra %70'lik etil alkol içerisine 10-30 saniye daldırma, sonrasında %5'lik sodyum hipoklorit solüsyonunda 10-20 dk bekletme ve steril saf su ile 5'er dk 3 kez çalkalama yapılmıştır. Daha sonra tohumlara 1 gece karanlık ortamda ön çimlendirme işlemi yapılmıştır. Her saksıya 10 adet tohum olacak şekilde ekim yapılmıştır. Bitkiler V1 dönemine kadar sadece su ile sulanmıştır. V1 döneminden sonra, her saksıda 5 bitki kalacak şekilde seyreltme işlemi yapılmıştır. Bitkilerin ilk çıkış tarihinden 33 gün sonra bitkilere 3, 6, 9, 12 ve 15 ppm'lik hazırlanan civa ve kadmiyum solüsyonlarından 200 ml olacak şekilde 15 gün boyunca 2 günde bir uygulanmıştır. V3 dönemine kadar bu solüsyon uygulanmıştır ve V3 dönemine gelen bitkiler hasat edilip laboratuvar işlemleri için hazır hale getirilmiştir. Hasat edilen bitkiler diğer işlemler için -80°'de bekletilmiştir.



Şekil 2. 1. Denemenin yapılacağı saksıların hazırlanması



Şekil 2. 2. Sorgum bitkisinin saksılara ekilmesi

Bitkisel Örnekler için Homojenat Hazırlama

- Polivinilpirolidon (PVP)
- Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)
- Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)

Homojenat hazırlamak için hasat edilen bitki örneklerinden 1 gram taze yaprak örneği tartılıp sıvı azot yardımıyla toz haline gelene kadar öğütülür. Daha sonra hazırlanan örnekler 5 mL %1 (w/v) PVP içeren 100 mM KH_2PO_4 /0.5 mM EDTA pH (7.7) tamponu eklenir. Örnekler 20 saniye boyunca vortekslenmiştir. Daha sonra örnekler, soğutmalı santrifüjde 15.000xg'de 20 dk boyunca 4°C'de santrifüj işlemi yapılmıştır. Santrifüj işleminden sonra çökelek ve süpernatant kısmı ayrılmış, süpernatant farklı analizler için 500 µL'lik eppendorf tüplere aktarılmıştır. Eppendorf tüplere aktarılan süpernatantlar analizlerde kullanılıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.



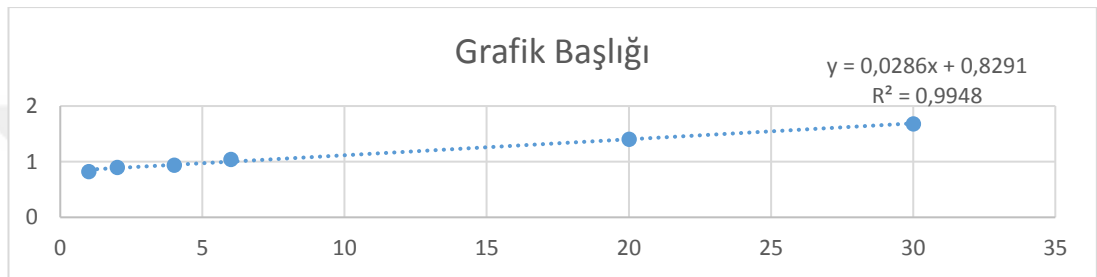
Şekil 2. 3. Sorgum bitkisinden homojenat hazırlama

Bradford Yöntemi ile Protein Tayini

- Sığır serum albümini
- Coomassie brilliant blue G-250
- Fosforik asit

Örnekleri analiz ederken Coomassie brilliant blue G-250 çözeltisi ve hazırlanan homejenat sonucunda elde edilen süpernatant numunelerinden 4 µL küvete konularak 595 nm'de absorbans değerleri köre karşı okunmuştur. Her numuneden elde edilen sonuçlara göre standart grafikten faydalanılarak protein miktarları belirlenmiştir.

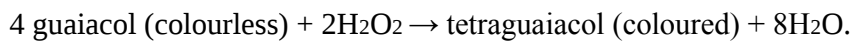
Bradford yöntemi ile protein tayini yapmak için standart grafiğe ihtiyaç duyulmaktadır. Standart grafiği elde etmek amacıyla 1 mL içerisinde 1 mg protein içeren BSA (sığır serum albümin) çözeltisinden eppendorf tüplere 1, 2, 4, 6, 20 ve 30 µL koyulmuştur. Saf su ile tüm tüplerin hacimleri 0.1 ml olacak şekilde ayarlanmıştır ve 0.9 ml Coomassie brilliant blue G-250 çözeltisi eklenerek vorteksle karıştırma işlemi yapılmıştır. 10 dakika boyunca inkübasyon yapıldıktan sonra 596 nm’ de 1 mL’lik kuvvetler içerisinde köre karşı absorbans değerlerinin okunması yapılmıştır. Elde edilen veriler sonucunda, absorbans sonuçlarına karşılık gelen µg protein miktarı standart grafik haline getirilmiştir (Bradford, 1976).



Şekil 2. 4. Bradford yöntemi ile protein tayini yapabilmek için kullanılan standart grafik

Peroksidaz (EC 1. 11. 1. 7, POX) Enzimi Aktivite Ölçümü

POX (peroksidaz) enziminin aktivite ölçümü Shimadzu UV-1800 spektrofotometrede 470 nm’de ölçülmüştür. Hidrojen peroksit (H₂O₂) aracılığı ile guaiakol kromojenik substratın yükseltgenmesi ve meydana gelen renk değişikliğinin (tetraguaiacol) oluşturduğu absorbans değer artışının 470 nm’de izlenmesi ile belirlenir (Melda, et al., 2010; Cakmak, et al., 1993; Uarrota, et al., 2016). Reaksiyon karışımı 200 mM KH₂PO₄ (pH 7), 50 mM H₂O₂, 100 mM guaiakol ve homojenat sonucu elde edilen süpernatant’tan oluşmaktadır. POX aktivitesi, ekstinksiyon katsayısı (470 nm’de 26.6 mM⁻¹ cm⁻¹) kullanılarak hesaplandı. Bir ünite peroksidaz, dakikada 1 µM tetraguaiacol oluşumuna neden olan enzim miktarı olarak tanımlandı.



SOD (Süperoksit Dismutaz) (EC 1. 15. 1. 1.) Enzimi Aktivite Ölçümü

- Potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄)
- Sodyum karbonat (Na₂CO₃)
- Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)
- L-Metiyonin

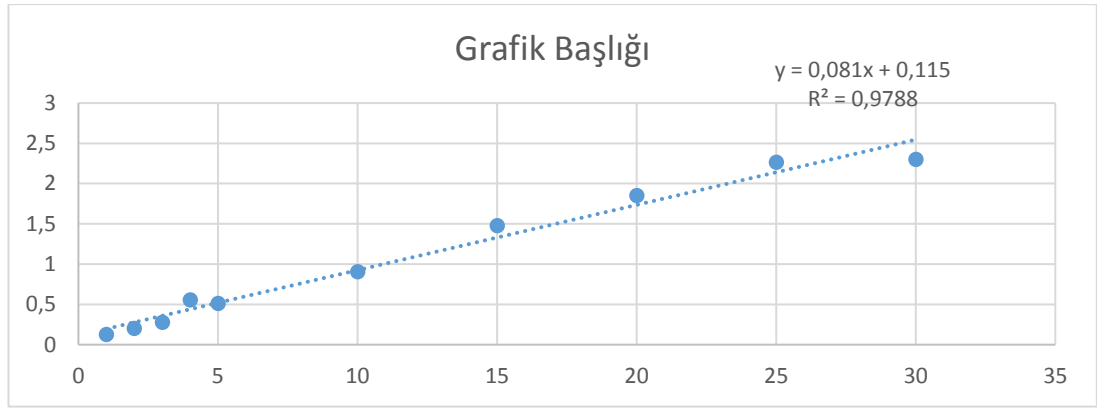
- Nitro Mavi Tetrazolyum Klorür (NBT)
- Riboflavin

Toplam SOD aktivitesi, fitokimyasal olarak üretilen süperoksit radikalleri tarafından nitro mavi tetrazolyumun (NBT) indirgenmesini SOD'un inhibe etme kabiliyetine göre ölçüm yapılmıştır. NBT'nin süperoksit radikalleriyle mavi renkli formazona fitokimyasal olarak indirgenme reaksiyonunun süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından engellenmesinin spektrofotometrik olarak 560 nm'de ölçüm esasına dayanarak yapılmıştır (Giannopolitis and Reis, 1977). Aktivite ölçümü için toplam hacim 1 ml olmak şartı ile yukarıda verilen küvet içeriği cam deney tüplerinde hazırlanmıştır. Reaksiyona riboflavin eklenmiştir ve tüpler floresan lamba altında 25 °C'de 30 dakika bekletilerek reaksiyon başlatılmıştır. Numune ve kontrol reaksiyon karışımlarını içeren tüpler ayrıca kör ölçümleri için karanlıkta bekletilmiştir. SOD aktivitesinin bir ünitesi (EU), NBT'nin indirgenme oranının %50 oranında inhibe etmek için gereken enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Spesifik süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, mg toplam protein başına SOD ünitesi (EU/mg protein) olarak ifade edilmiştir.

Prolin Miktarının Belirlenmesi

- Sülfosalisilik asit
- Ninhidrin
- Glasiyal asetik asit
- Orto-Fosforik asit
- Toluen
- Prolin

Protein miktarını belirlemek için standart bir grafiğe ihtiyaç vardır. Grafiği elde etmek için 20, 40, 60, 80, 100, 200, 300, 400, 500 ve 600 µl alınarak bütün tüplerin üzerine saf su ile 2 ml'ye tamamlanmıştır. Sonrasında ise tüplere 2 ml % 96'lık glasiyal asetik asit ve 2 ml asit-ninhidrin çözeltisi eklenmiştir. Standart çözeltiler 100 °C'de su banyosunda 1 saat inkübe edilmiştir. 1 saat sonra su banyosundan çıkarılan örnekler 10 dakika buz içerisinde tutulmuştur. Daha sonra tüplere 4 ml tolueen eklenmiştir. Tolueen eklenen örnekler 20-30 sn vorteksle karıştırılmıştır. Daha sonrasında ise tüplerin üstünde kalan faz otomatik pipet yardımı ile alınarak 520 nm'de absorbanları ölçülmüştür. Tolueen kör olarak kullanılmıştır.



Şekil 2. 5. Protein tayini için kullanılan standart grafik

2.1. Sonuçların İstatistiksel Analizi

HgCl₂ ve CdN₂O₆ elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinde JMP Pro 14.0 (SAS Institute Inc.), SPSS 22.0 (IBM Corp.) ve Excel 2016 (Microsoft Corp.) yazılımlarından yararlanılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. HgCl₂ ve CdN₂O₆ Stresinin Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri

3.1.1. Peroksidaz (POX) (EC 1.11.1.7)'a Ait Bulgular

Peroksidaz (POX) enzimine ait varyans analizden elde edilen sonuçlar Tablo 3.1 'de gösterilmiştir. Çalışma kapsamında, doz ve uygulama x doz interaksyonu sorgum bitkisinde POX enzimini istatistiksel olarak çok önemli ($p < 0.01$) derecede etki etmiştir.

Tablo 3. 1. POX enzimine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F değeri	Prob >F
Uygulama	1	0.02092	2.81690	0,1074
Doz	5	015485	20.85280	<,0001**
Uygulama × Doz İnteraksyonu	5	0.12081	16.26880	<,0001**

Farklı uygulama ve dozların POX enzimine etkileri Tablo 3.2.'de gösterilmiştir. Tablo 3.2. incelendiğinde, dozlara göre POX enziminin en yüksek değeri 12 ppm'de 0.65 Ü mg⁻¹ P olarak belirlenmiştir. En düşük değer 15 ppm'de 0.25 Ü mg⁻¹ P olarak belirlenmiştir. POX enzimi üzerine 6, 9, 12 ppm dozları arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. En yüksek aktivitenin olduğu 12 ppm konusundaki POX enzim aktivitesinin, en düşük aktivitenin olduğu 15 ppm e göre %270 oranında arttığı belirlenmiştir.

Deneme sonucunda HgCl₂ ve CdN₂O₆ değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamazken, HgCl₂ göre CdN₂O₆ konusunda %10.4'luk bir artış gözlemlenmiştir.

Uygulama ve doz interaksyonu incelendiğinde en yüksek aktivite CdN₂O₆ konusunda 3 ppm'de 0.93 Ü mg⁻¹ P olarak belirlenirken, en düşük POX aktivitesi HgCl₂ konusunda 15 ppm'de 0.19 Ü mg⁻¹ P olarak belirlenmiştir. HgCl₂ ve CdN₂O₆ uygulanan sorgum bitkisinin POX enziminin içeriği Tablo 3.2.'de gösterilmiştir. Tablo 3.2. incelendiğinde HgCl₂ dozu artışıyla POX enzim içeriği ilk önce artmış sonrasında ise azalmıştır. En yüksek POX içeriği 9 ppm'de 0.78 Ü mg⁻¹ P olarak belirlenirken, en düşük POX içeriği 15 ppm'de 0.19 Ü mg⁻¹ P olarak belirlenmiştir. CdN₂O₆ uygulanan sorgum bitkisinde ise POX içeriği artmış sonra azalmıştır. En yüksek POX içeriği 12ppm'de 0.93 Ü mg⁻¹ P olarak belirlenirken, en düşük POX içeriği 15 ppm'de

0.29 $\bar{U}$ mg⁻¹ P olarak belirlenmiştir. Uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur.

POX, H₂O₂'in toksik düzeylerinin giderilmesinde görev alan enzimlerden biridir (Bhardwaj, et al., 2017). Kabakcı 2018'de yaptığı çalışmada 7 gün süreyle Cd (100 ve 200 μ M) uygulaması yapılmıştır. Cd uygulaması sonucunda POX aktivitesinde azalma gözlemlenmiştir. POX aktivitesinde bu azalma sırasıyla %7 ve %6 olarak belirlenmiştir (Kabakcı, 2018).

Ulus 2007'de yaptığı bir çalışmada maydanoz bitkisini 15 gün süreyle 75, 150 ve 300 μ M CdCl₂ uygulaması yapmıştır. Yapılan çalışma sonucunda kadmiyum konsantrasyonlarına bağlı olarak POX enzim aktivitesin 75 ve 300 μ M CdCl₂ uygulanan grupta kontrole göre önemli (P<0.05) ölçüde azalma gözlemlenmiştir. 150 μ M uygulanan grupta POC aktivitesi yaklaşık olarak kontrolün iki katına çıktığı belirlenmiştir (Ulus, 2007).

Tablo 3. 2. Farklı uygulama ve dozların POX enzime etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları

Doz	Uygulama		Ortalama
	HgCl ₂	CdN ₂ O ₆	
Kontrol	0.46 de	0.46 de	0.46 b
3 ppm	0.4 ef	0.45 de	0.43 b
6 ppm	0.68 bc	0.56 cd	0.62 a
9 ppm	0.78 ab	0.49 de	0.63 a
12 ppm	0.37 ef	0.93 a	0.65 a
15 ppm	0.19 g	0.29 fg	0.24 c
Ortalama	0.48	0.53	

3.1.2. SOD (Süperoksit dismutaz) (EC 1.15.1.1)'a Ait Bulgular

Çalışma kapsamında, uygulama konuları, doz ve uygulama x doz interaksyonu sorgum bitkisinde SOD enzim içeriğini çok önemli (P<0,01) derecede etki etmiştir.

Tablo 3. 3. SOD enzime ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F değeri	Prob >F
Uygulama	1	2260.62	28.44	<,0001**
Doz	5	5822.48	73.25	<,0001**
Uygulama $\times$ Doz İnteraksyonu	5	540.86	6.80	0,0006**

Farklı uygulama ve dozların SOD enzime etkileri Tablo 3.4.'de gösterilmiştir. Tablo 3.4. incelendiğinde, dozlara göre SOD enziminin en yüksek değeri 6 ppm'de 159.48 $\bar{U}$ mg⁻¹ P olarak belirlenmiştir, en düşük aktivite ise 15 ppm'de 84.95 $\bar{U}$ mg⁻¹ P

olarak belirlenmiştir. SOD enzimi üzerine 3, 9, 12 ppm dozları arasında istatistiksel olarak fark gözlemlenmemiş, kontrol ve 15 ppm arasında da istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir. En düşük aktivitenin olduğu 15 ppm konusundaki SOD enzim aktivitesinin, en yüksek aktivitenin olduğu 6 ppm'e göre %52 azaldığı belirlenmiştir.

Deneme sonucunda HgCl_2 ve CdN_2O_6 değerleri arasında istatistiksel olarak fark gözlenmiştir. CdN_2O_6 göre HgCl_2 konusunda %118'lik artış gözlemlenmiştir.

Uygulama ve doz interaksyonu incelendiğinde en yüksek aktivite CdN_2O_6 konusunda 6 ppm'de $174.01 \text{ Ü mg}^{-1} \text{ P}$ olarak belirlenirken, en düşük aktivite HgCl_2 konusunda 15 ppm'de $78.64 \text{ Ü mg}^{-1} \text{ P}$ olarak belirlenmiştir. HgCl_2 ve CdN_2O_6 uygulanan sorgum bitkisinin SOD enzim içeriklerine ait Tablo 3.4. incelendiğinde HgCl_2 dozu artışıyla beraber SOD içeriği artmış sonrasında azalma görülmüştür. En yüksek SOD içeriği 6 ppm'de $144.95 \text{ Ü mg}^{-1} \text{ P}$ olarak belirlenirken, en düşük SOD içeriği 15 ppm'de $78.64 \text{ mg}^{-1} \text{ P}$ olarak belirlenmiştir. CdN_2O_6 uygulanan sorgum bitkisinde ise Süperoksit dismutaz (SOD) içeriği artmış fakat daha sonra azalma görülmüştür. En yüksek süperoksit dismutaz enzim içeriği 6 ppm'de 174.01 olarak belirlenirken, en düşük SOD içeriği 15ppm'de $91.25 \text{ Ü mg}^{-1} \text{ P}$ olarak belirlenmiştir. Uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır.

Yılmaz 2015'de yaptığı bir çalışmada Al, Pb ve Cr ağır metal dozlarının (0, 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 ppm) Sorgum bitkisinde enzim aktivitesine olan etkileri incelemiştir. Yapılan çalışmada sorgum bitkisine uygulanan Al, Cr ve Pb dozları kökte SOD içeriğine etkisi %1 seviyede önemli ($P \leq 0.01$) olarak belirlenmiştir. Alüminyum (Al) dozu artışıyla birlikte, süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinde yaprak dokusunda ilk artış sonrasında ise azalış, kök dokusunda da artış göstermiştir. En yüksek süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi yaprak dokusunda 8 ppm'de $0.386 \text{ Ünite/mg protein}$ olarak belirlenirken, kökte 64 ppm'de Al uygulamasında $0.889 \text{ Ünite/mg Protein}$ olarak belirlenmiştir. En düşük süperoksit dismutaz enzim aktivitesi yaprak ve kök dokularında sırasıyla 0.042 ve $0.060 \text{ Ünite/mg Protein}$ ile kontrol grubunda belirlenmiştir. Cr dozu artışı ile Sorgum bitkisinde süperoksit dismutaz enzim (SOD) içeriği yaprakta öncelikle artmış sonrasında ise azalmıştır, kökte ise SOD içeriği artış göstermeye devam etmiştir. Yaprakta en yüksek süperoksit dismutaz enzim (SOD) aktivitesi 8 ppm Cr uygulamasında $1.446 \text{ Ünite/mg Protein}$ olarak belirlenirken kökte 64 ppm Cr uygulamasında $1.478 \text{ Ünite/mg Protein}$ olarak belirlenmiştir. Yaprakta ve

kökte en düşük SOD içerikleri sırasıyla 0.042 ve 0.060 Ünite/mg Protein ile kontrol grubunda belirlenmiştir (Yılmaz, 2015).

Ak ve Yücel 2011’de yaptıkları bir çalışmada Buğday’a farklı konsantrasyonlarda (100, 200 ve 300 µM) kadmiyum+kurşun, kadmiyum ve kurşun uygulamışlardır. Yapılan bu uygulama sonucunda SOD aktivitesi incelenmiştir. 100, 200 ve 300 µM konsantrasyonlarda Cd, Pb ve Cd+Pb uygulaması sonucunda SOD enzim aktivitesi bakımından ağır metal uygulamaları ve enzim aktivitesi arasında istatistiksel açıdan anlamlı ($P<0.012$) bir fark olduğu belirlenmiştir. Kadmiyum uygulaması kontrol grubu ile karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonlarda SOD enzim aktivitesini düşürdüğü, konsantrasyon artışı ile kontrol grubunda geçerek aktivitenin arttığı belirlenmiştir. Cd+Pb uygulamasında ise kontrole göre SOD aktivitesinde düşüş gözlemlenmiştir. Cd+Pb uygulamaları kendi aralarında karşılaştırıldığında konsantrasyon artışı ile enzim aktivitesinde arttığı belirlenmiştir (Ak ve Yücel, 2011).

Tablo 3. 4. Farklı uygulama ve dozların SOD enzimine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları

Doz	Uygulama		Ortalama
	HgCl ₂	CdN ₂ O ₆	
Kontrol	78.71 e	78.71 e	78.71 d
3 ppm	117.31 c	132.18 bc	124.75 c
6 ppm	144.95 b	174.01 a	159.48 a
9 ppm	97.43 d	142.62 b	120.03 c
12 ppm	142.43 b	135.8 b	139.12 b
15 ppm	78.64 e	91.25 de	84.95 d
Ortalama	109.91 b	125.76 a	

3.2. HgCl₂ ve CdN₂O₆ Stresinin Yaş ve Kuru Ağırlık Üzerine Etkileri

3.2.1. Yaş Ağırlığa Ait Bulgular

Sorgum bitkisinin yaş ağırlık varyans analiz sonuçları Tablo 3.5.’de belirtilmiştir. Çalışma kapsamında doz ve uygulama x doz interaksyonu sorgum bitkisinde yaş ağırlık üzerine istatistiksel açıdan çok önemli ($P<0.01$) derecede etkili olmuştur.

Tablo 3. 5. Yaş Ağırlık değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F değeri	<i>Prob >F</i>
Uygulama	1	3.90E-01	3.29	0.0832
Doz	5	6.56E+00	55.48	<,0001**
Uygulama × Doz İnteraksiyonu	5	1.61E+00	13.62	<,0001**

Farklı uygulama ve dozların yaş ağırlık üzerine etkileri Tablo 3.6.'de gösterilmiştir. Tablo 3.6. incelendiğinde dozlar arasında kontrole göre bir artış gözlenmiştir. En yüksek yaş ağırlık 3 ppm'de 10.19 g olarak belirlenirken, en düşük yaş ağırlık 15 ppm'de 8.75 g olarak belirlenmiştir. En yüksek değer olan 3 ppm konusundaki yaş ağırlığının en düşük değerinin olduğu 15 ppm'e göre %16.5 oranında arttığı belirlenmiştir.

Yapılan deneme sonucunda $HgCl_2$ ve CdN_2O_6 değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir. Bununla birlikte $HgCl_2$ göre CdN_2O_6 konusunda %2.3'lük bir azalış belirlenmiştir.

Yapılan çalışma sonucunda uygulama ve doz interaksiyonu incelendiğinde en yüksek yaş ağırlık CdN_2O_6 konusunda 3 ppm'de 10.96 g belirlenirken, en düşük yaş ağırlık yine CdN_2O_6 konusunda 15 ppm'de 8.11 g olarak belirlenmiştir. $HgCl_2$ ve CdN_2O_6 uygulanan sorgum bitkisinin yaş ağırlıkları Tablo 3.6.'da gösterilmiştir. Tablo 3.6. incelendiğinde $HgCl_2$ dozu artışıyla birlikte yaş ağırlık önce artmış sonrasında ise azalmıştır. En yüksek yaş ağırlık 6 ppm'de 10.6 g olarak belirlenirken, en düşük yaş ağırlık 15 ppm'de 8.64 g olarak belirlenmiştir. CdN_2O_6 dozu artışı ile yaş ağırlık ilk olarak artmış sonra azalmıştır. En yüksek yaş ağırlık 3 ppm'de 10.96 g olarak belirlenirken, en düşük yaş ağırlık 15 ppm'de 8.11 g olarak belirlenmiştir.

Kabakcı 2018 de Buğdayda yaptığı bir çalışmada Cd uygulaması sonucu ile oluşan oksidatif stresini dışardan galik asit (GLA) uygulaması ile ağır metal stresinin etkilerini iyileştirmede etkili olup olmadığı incelenmiştir. Bu çalışmada 100 ve 200 μM dozları kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda yaş ağırlık değerleri incelendiğinde, ağır metal stresi uygulaması ile sürgün yaş ağırlıklarının konsantrasyona bağlı olarak azalma belirlenmiştir ve bu durumun GLA uygulaması ile önlendiği belirlenmiştir (Kabakcı, 2018).

Tablo 3. 6. Farklı uygulama ve dozların Yaş Ağırlık değerlerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları

Doz	Uygulama		Ortalama
	HgCl ₂	CdN ₂ O ₆	
Kontrol	7.29 g	7.29 g	6.87 c
3 ppm	9.41 b	10.96 a	10.19 a
6 ppm	10.6 a	9.1 bcd	9.85 a
9 ppm	8.69 de	8.76 cde	9.06 b
12 ppm	9.27 bc	8.44 ef	8.86 b
15 ppm	8.64 def	8.11 f	8.75 b
Ortalama	8.98	8.78	

3.2.2. Kuru Ağırlığa Ait Bulgular

Sorgum bitkisinde kuru ağırlık değerlerine ait varyans analizinden elde edilen sonuçları çizelge 3.4.'de gösterilmiştir. Tablo 3.7. incelendiği zaman çalışma kapsamında doz ve uygulama x doz interaksyonu sorgum bitkisinde kuru ağırlık üzerine istatistiksel açıdan çok önemli ($P<0.01$) derecede etkili olmuştur.

Tablo 3. 7. Kuru Ağırlık değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F değeri	Prob >F
Uygulama	1	2.41E-03	0.2853	0.5986
Doz	5	5.49E-01	65.0355	<,0001**
Uygulama × Doz İnteraksyonu	5	1.02E-01	12.1007	<,0001**

Farklı uygulama ve dozların kuru ağırlık üzerine etkileri Tablo 3.8.'de gösterilmiştir. Tablo 3.8. incelendiği zaman en yüksek kuru ağırlık 6 ppm'de 1.87 g olarak belirlenirken, en düşük kuru ağırlık 9 ppm'de 1.48 g olarak belirlenmiştir. Sorgum bitkisinin kuru ağırlığına bakıldığı zaman 3, 6 ve 15 ppm ve 9,12 ppm dozlarında istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir.

Deneme sonucunda HgCl₂ ve CdN₂O₆ değerleri arasında istatistiksel olarak bir fark gözlemlenmemiştir.

Yapılan çalışma sonucunda uygulama doz interaksyonu incelendiğinde en yüksek kuru ağırlık CdN₂O₆ konusunda 15 ppm'de 1.98 g olarak belirlenirken en düşük kuru ağırlık HgCl₂ konusunda 9 ppm'de 1.45 g olarak belirlenmiştir.

Kabakcı 2018'de yaptığı çalışmada (100 ve 200 µM Cd uygulaması ve dışardan verilen GLA uygulaması) stresle birlikte buğday sürgün kuru ağırlığında azalma gözlemlenmiştir. Stres ve GLA birlikte uygulanan gruplarda kuru ağırlık parametresinin istatistiksel olarak arttığı belirlenmiştir (Kabakcı, 2018).

Tablo 3. 8. Farklı uygulama ve dozların Kuru Ağırlık değerlerine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları

Doz	Uygulama		Ortalama
	HgCl ₂	CdN ₂ O ₆	
Kontrol	1.06 f	1.06 f	1.06 c
3 ppm	1.71 c	1.89 b	1.8 a
6 ppm	2.08 a	1.66 cd	1.87 a
9 ppm	1.45 e	1.5 e	1.48 b
12 ppm	1.55 de	1.48 e	1.52 b
15 ppm	1.6 cde	1.96 ab	1.78 a
Ortalama	1.58	1.59	

3.3. HgCl₂ ve CdN₂O₆ Stresinin Klorofil İçeriği Üzerine Etkileri

3.3.1. Klorofil'e Ait Bulgular

Sorgum bitkisinin klorofil içeriğine ait varyans analizinden elde edilen sonuçları Tablo 3.9.'da gösterilmiştir. Çalışma kapsamında doz ve uygulama x doz interaksyonu sorgum bitkisinde klorofil içeriğine çok önemli ($P<0.01$) derecede etkili olmuştur.

Tablo 3. 9. Klorofil içeriğine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F değeri	Prob >F
Uygulama	1	3.93E+00	3.73	0.0665
Doz	5	8.83E+01	83.79	<,0001**
Uygulama × Doz İnteraksyonu	5	3.94E+00	3.74	0.0133**

Farklı uygulama ve dozların klorofil içeriğine etkileri Tablo 3.10.'de verilmiştir. Tablo 3.10. incelendiğinde dozlar arasında kontrole göre bir azalış gözlemlenmiştir. En yüksek klorofil içeriği kontrolden sonra 6 ppm'de 19.86 SPAD olarak belirlenirken, en düşük klorofil içeriği 15 ppm'de 16.76 SPAD olarak belirlenmiştir. Sorgum bitkisinde klorofil içeriğine bakıldığında 3 ve 6 ppm'de istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir.

Yapılan deneme sonucunda HgCl₂ ve CdN₂O₆ değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır.

Yapılan çalışma sonucunda en yüksek klorofil içeriği kontrol grubunda 27.18 SPAD olarak belirlenmiştir. Uygulama ve doz interaksyonu incelendiğinde en yüksek klorofil içeriği CdN₂O₆ konusunda 6 ppm'de 19.93 SPAD olarak belirlenirken, en düşük klorofil içeriği yine CdN₂O₆ konusunda 12 ppm'de 15.34 SPAD olarak belirlenmiştir. Tablo 3.10. incelendiğinde HgCl₂ dozu artışıyla beraber klorofil içeriği

il önce artmış sonrasında ise azalmıştır. En yüksek ve en düşük klorofil içeriği sırasıyla 6 ppm’ de 19.79 ve 15 ppm’de 17.31 SPAD olarak belirlenmiştir. CdN₂O₆ dozları artışı ile önce klorofil içeriği artmış sonra azalmıştır. En yüksek klorofil içeriği 6 ppm’de 19.93 SPAD olarak belirlenirken, en düşük klorofil içeriği 12 ppm’de 15.34 SPAD olarak belirlenmiştir.

Yılmaz 2015’de yaptığı bir çalışmada Al, Pb ve Cr dozlarının (0, 2, 4, 8, 16, 32 ve 64 ppm) Sorgum (Sugar Grazer II) çeşitinde klorofil miktarına etkilerini incelemişlerdir. Sorgum bitkisine uygulanan Cr ve Al dozlarının klorofil içeriğine etkisi %1 seviyede önemli ($P \leq 0.0.1$) olurken Pb dozlarının klorofil a içeriğine etkisinin %1, toplam klorofil içeriğine %5 seviyede önemli ($P \leq 0.05$) olduğu, klorofil b içeriğine etkisinin istatistiksel açıdan önemsiz olduğu belirlenmiştir. Al dozu artışıyla klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içeriğinde azalmalar olduğunu tespit etmişlerdir. Al uygulamasında en yüksek klorofil b ve toplam klorofil içeriği 2 ppm’de sırasıyla 2.601- 4.353 ve 5.551- 9.625 mg/g TA arasında değiştiğini belirlemişlerdir. En yüksek klorofil a içeriği 2 ppm Al uygulamasında 2.951- 5.418 mg/g taze ağırlık arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir. Cr dozu artışıyla beraber klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içeriğinde ilk olarak artış daha sonra azalış olduğunu gözlemlemişlerdir. En yüksek klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içerikleri 8 ppm’de sırasıyla 4.988- 8.781, 2.787- 3.895 ve 7.889- 12.676 mg/g TA arasında değişimler belirlenmiştir. Pb dozu artışı ile klorofil b içeriği istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. En yüksek klorofil a ve total klorofil içerikleri kontrol grubunda belirlenmiştir. Klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içerikleri sırasıyla 3.000- 5.418 ve 5.386- 8.205 mg/g TA arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir (Yılmaz, 2015).

Ulus 2007’de yaptığı çalışmada Maydanoz bitkilerine 15 gün boyunca 75, 150 ve 300 μ M CdCl₂ uygulamalarının klorofil içeriğine etkileri belirlenmiştir kadmiyum uygulaması sonucunda artan kadmiyum konsantrasyonuna bağlı olarak total klorofil içeriğinde düşüş gözlemlenmiştir ($P < 0.05$). En düşük ($P < 0.05$) toplam klorofil içeriği 300 μ M kadmiyum uygulamasında belirlenmiştir (Ulus, 2007).

Tablo 3. 10. Farklı uygulama ve dozların Klorofil içeriğine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları

Doz	Uygulama		Ortalama
	HgCl ₂	CdN ₂ O ₆	
Kontrol	27.18 a	27.18 a	27.18 a
3 ppm	18.99 bcde	19.82 bc	19.41 b
6 ppm	19.79 bc	19.93 b	19.86 b
9 ppm	18.13 cde	18.03 de	18.08 c
12 ppm	19.06 bcd	15.34 g	17.2 cd
15 ppm	17.31 ef	16.2 fg	16.76 d
Ortalama	20.08	19.42	

3.4. HgCl₂ ve CdN₂O₆ Stresinin Prolin İçeriği Üzerine Etkileri

3.4.1. Prolin'e Ait Bulgular

Sorgum bitkisinin prolin içeriğine ait varyans analizinden elde edilen sonuçları Tablo 3.11.'de verilmiştir. Yapılan çalışma kapsamında, doz ve doz x uygulama interaksyonu sorgum bitkisinde prolin içeriğinde istatistiksel olarak çok önemli ($P<0,01$) derecede etki etmiştir.

Tablo 3. 11. Prolin içeriğine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F değeri	Prob >F
Uygulama	1	6.42E-03	0.21	0.6545
Doz	5	3.97E+00	127.08	<,0001**
Uygulama × Doz İnteraksyonu	5	2.07E+00	66.46	<,0001**

Dozlara göre sorgum bitkisinin prolin içeriğine bakıldığında kontrolde 2.7 nmol/g taze ağırlıkta elde edilmiştir. Kontrole göre kıyaslandığında en yüksek prolin içeriği 1.31 nmol/g taze ağırlık ile 3 ppm'de belirlenirken, en düşük prolin içeriği 0.56 nmol/g taze ağırlık ile 12 ppm'de belirlenmiştir. Sorgum bitkisinin prolin içeriklerine bakıldığında 9, 12, 15 ppm'de istatistiksel bir fark gözlenmemiştir.

Yapılan deneme sonucunda HgCl₂ ve CdN₂O₆ değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

Uygulama ve Doz interaksyonu incelendiğinde en yüksek prolin içeriği değeri kontrol konusundan 2. 7 nmol/ g taze ağırlıkta elde edilmiştir. Bununla birlikte en düşük prolin içeriği değeri ise 0.25 nmol/g taze ağırlık ile 3 ppm dozun uygulandığı CdN₂O₆ konusundan elde edilmiştir. HgCl₂ ve CdN₂O₆ uygulanan sorgum bitkisinin prolin içerikleri Tablo 3.12.'de gösterilmiştir. Tablo 3.12. incelendiğinde HgCl₂ doz artışıyla birlikte prolin içeriği ilk olarak artmış sonrasında ise azalmıştır. En yüksek

prolin içeriđi 3 ppm'de 2.38 nmol/g taze ađırlıkta belirlenirken, en dūşük prolin içeriđi 0.27 nmol/g taze ađırlık ile 6 ppm' de belirlenmiřtir. CdN₂O₆ uygulanan sorgum bitkisinde ise prolin içeriđi artmıř daha sonra azalmıřtır. En yūksek prolin içeriđi 6ppm 1.78 nmol/g taze ađırlıkta belirlenirken, en dūşük prolin içeriđi 3ppm'de 0.25 nmol/g taze ađırlıkta belirlenmiřtir. Buna gōre hem HgCl₂ hemde CdN₂O₆ uygulaması sorgum bitkilerindeki prolin içeriđinde ōnemli derecede azalmaya neden olmuřtur.

Kabakcı 2018'de yaptığı bir çalışmada 7 gūn sūreyle kadmiyum stresi (100 ve 200 μM) uygulaması sonucunda, Buđday yapraklarında prolin içerikleri değerlendirilmiştir. Cd uygulaması sonucunda, buğday yapraklarında prolin içerikleri sırasıya %34,8 ve %29.9 azalış gōstermiřtir (Kabakcı, 2018).

Maydanozda yapılan bir çalışmada kadmiyum (75, 150 ve 300 μM) uygulaması sonucunda prolin içeriğine bakılmıştır. Bu uygulama sonucunda kadmiyum uygulanan gruplarda artan kadmiyum konsantrasyonuyla birlikte prolin içeriğinde ōnemli (P<0.05) derecede artış gōstermiřtir. Prolin içeriği 300 μM kadmiyum uygulanan grupta en yūksek seviyede olduğu belirlenmiştir (Ulus, 2007).

Yılmaz 2015'de yaptığı çalışmada Sorgum bitkisinde yaptığı çalışmada Cr, Al ve Pb dozlarının yaprakta ve kōkte prolin içeriğine etkisi %1 seviyede ōnemli (P≤0.01) olarak belirlenmiştir. Al dozu artışıyla birlikte prolin içeriği yaprakta artış, kōk dokusunda ōnce artış gōzlemlendikten sonra azalış olmuştur. Sorgum bitkisinde en yūksek prolin içeriği yaprakta 64 ppm'de 248.758 nmol/g taze ağırlıkta belirlenirken kōkte 64 ppm Al dozunda 91.239 nmol/g taze ağırlıkta belirlenmiştir. Al uygulaması sonucunda en dūşük prolin içeriği yaprakta ve kōk dokularında sırasıyla 54.827 ve 35.715 nmol/g TA ile kontrol grubunda belirlenmiştir. Cr uygulamasında ise doz artışı ile prolin içeriği kōkte artmış daha sonra azalmış, yaprakta ise artış belirlenmiştir. Cr uygulamasında en yūksek prolin içeriği yaprakta 64 ppm uygulamasında 1137.36 nmol/g taze ağırlıkta belirlenirken kōkte ise 16 ppm Cr uygulamasında 163.069 nmol/g taze ağırlıkta belirlenmiştir. Pb uygulamasında en yūksek prolin içeriği 64 ppm uygulamasında yaprakta 2190.900 nmol/g taze ağırlıkta kōkte ise 64 ppm'de 98.344 nmol/g taze ağırlıkta belirlenmiştir. Sorgum bitkisinde Pb uygulaması ile en dūşük prolin içeriği yaprakta ve kōk dokularında sırasıyla 54.830 ve 35.715 nmol/g TA ile kontrol grubunda belirlenmiştir (Yılmaz, 2015).

Tablo 3. 12. Farklı uygulama ve dozların Prolin içeriğine etkilerinin istatistiksel analiz sonuçları

Doz	Uygulama		
	HgCl ₂	CdN ₂ O ₆	Ortalama
Kontrol	2.7 a	2.7 a	2.7 a
3 ppm	2.38 b	0.25 f	1.31 b
6 ppm	0.27 f	1.78 c	1.02 c
9 ppm	0.61 de	0.83 d	0.72 d
12 ppm	0.42 ef	0.69 de	0.56 d
15 ppm	0.6 de	0.57 de	0.59 d
Ortalama	1.16	1.14	

4. SONUÇ

Bu çalışmada , klorofil içeriği, lipidperoksidasyonu ve POX , SOD enzim aktiviteleri, kuru ağırlık, yaş ağırlık üzerine etkilerini belirleyebilmek için farklı saksılara ekilen sorgum bitkilerine (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) kontrollü şartlar altında beş farklı yoğunluklarda (3, 6, 9, 12 ve 15 ppm) HgCl₂ ve CdN₂O₆ dozları uygulanmıştır.

Çalışma sonucunda doz ve uygulama x doz interkasiyonu Sorgum bitkisinde POX aktivitesini istatiksel olarak çok önemli (P<0.01) derecede etki ettiği belirlenmiştir. Dozlara göre en yüksek POX enzim aktivitesi 12 ppm'de (0.65 Ü mg⁻¹ P) belirlenmiştir. En düşük değer 15 ppm'de (0.25 Ü mg⁻¹ P) belirlenmiştir. En yüksek POX enzim aktivitesinin, en düşük aktivitenin olduğu 15 ppm'e göre %270 oranında arttığı belirlenmiştir. Deneme sonucunda Civa ve kadmiyum değerleri arasında istatiksel bir fark belirlenmemiştir. Civa uygulamasında en yüksek POX içeriği 9 ppm'de (0.78 Ü mg⁻¹ P) belirlenmiştir. En düşük POX aktivitesi 15 ppm'de (0.19 Ü mg⁻¹ P) belirlenmiştir. Kadmiyum uygulaması Sorgum bitkisinde POX aktivitesi önce artmış daha sonra azalmıştır. En yüksek ve en düşük POX aktivitesi sırasıyla 12 ppm'de (0.93 Ü mg⁻¹ P) ve 15 ppm'de (0.29 Ü mg⁻¹ P) belirlenmiştir. Uygulamalar arasında istatiksel olarak önemli farklılık belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda, uygulama konuları, doz ve uygulama x doz interaksiyonu Sorgum bitkisinde SOD enzim aktivitesi çok önemli (P<0.01) derecede etkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek SOD enzim aktivitesi 6 ppm'de (159.48 Ü mg⁻¹ P) belirlenirken, en düşük SOD aktivitesi 15 ppm'de (84.95 Ü mg⁻¹ P) belirlenmiştir. HgCl₂ uygulaması sonucunda civa doz artışıyla birlikte süperoksit dismutaz (SOD) içeriği artmış sonrasında ise azalmıştır. En yüksek ve en düşük SOD aktivitesi sırasıyla 6 ppm'de (144.95 Ü mg⁻¹ P) ve 15 ppm'de (78.64 Ü mg⁻¹ P) belirlenmiştir. CdN₂O₆ uygulamasına bakıldığında SOD aktivitesinde en yüksek SOD içeriği 6 ppm'de (174.01 Ü mg⁻¹ P) belirlenirken, en düşük aktivite 15 ppm'de (91.25 Ü mg⁻¹ P) belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda doz ve uygulama x doz interaksiyonu Sorgum bitkisinde yaş ağırlık üzerine istatiksel açıdan çok önemli (P<0.01) derecede etkili olduğu belirlenmiştir. Farklı uygulama ve dozların yaş ağırlık üzerine etkileri Tablo 3.6.'de verilmiştir. En yüksek ve en düşük yaş ağırlık sırasıyla 3 ppm'de (10.19 g) ve 15

ppm'de (8.75 g) olarak belirlenmiştir. Deneme sonucunda civa ve kadmiyum değerleri arasında istatistiksel bir fark gözlemlenmemiştir. Civa dozu artışı ile yaş ağırlık önce artmış daha sonra azalmıştır. En yüksek yaş ağırlık 6 ppm'de (10.6 g) olarak belirlenmiştir. En düşük yaş ağırlık 15 ppm'de (8.64 g) belirlenmiştir. Kadmiyum dozu artışı ile yaş ağırlık ilk olarak artmış daha sonrasında ise azalmıştır. En yüksek yaş ağırlık 3 ppm'de 10.96 g olarak belirlenirken, en düşük yaş ağırlık 15 ppm'de 8.11 g olarak belirlenmiştir.

Sorgum bitkisinin kuru ağırlık değerlerine ait varyans analiz sonuçları Tablo 3.7.'de verilmiştir. Çalışma kapsamında doz ve uygulama x doz interaksyonu Sorgum bitkisinde kuru ağırlık üzerine etkisi istatistiksel açıdan çok önemli ($P<0.01$) derecede etkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek kuru ağırlık 6 ppm'de (1.87 g) belirlenirken en düşük kuru ağırlık 9 ppm'de (1.48 g) olarak belirlenmiştir. Deneme sonucunda civa ve kadmiyum değerleri arasında istatistiksel bir fark belirlenmemiştir. Civa uygulaması sonucunda en yüksek ve en düşük kuru ağırlık sırasıyla 6 ppm'de (2.08 g) ve 9 ppm'de (1.45 g) belirlenmiştir. Kadmiyum uygulamasında en yüksek kuru ağırlık 15 ppm'de (1.96 g), en düşük kuru ağırlık ise 12 ppm'de (1.48 g) olarak belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda doz ve uygulama x doz interaksyonu Sorgum bitkisinde klorofil içeriğine çok önemli ($P<0.01$) derecede etkili olmuştur. Farklı uygulama ve dozların klorofil içeriğine etkileri Tablo 3.10.'da verilmiştir. Dozlar arasında kontrole göre bir azalış gözlemlenmiştir. En yüksek klorofil içeriği 6 ppm'de (19.86 SPAD) belirlenirken, en düşük klorofil içeriği 15 ppm'de (16.765 SPAD) belirlenmiştir. Yapılan çalışma kapsamında civa ve kadmiyum değerleri arasında istatistiksel bir fark belirlenmemiştir. Civa dozu artışıyla birlikte klorofil içeriği ilk olarak artmış sonrasında ise azalmıştır. en yüksek klorofil içeriği 6 ppm'de (19.79 SPAD) belirlenirken en düşük klorofil içeriği 15 ppm'de (17.31 SPAD) belirlenmiştir. Kadmiyum uygulamasında ise doz artışı ile klorofil içeriği önce artmış sonra azalmıştır. En yüksek ve en düşük klorofil içeriği sırasıyla 6 ppm'de (19.93 SPAD) ve 12 ppm'de (15.34 SPAD) belirlenmiştir.

Farklı uygulama ve dozların prolin içeriğine etkileri Tablo 3.12'de verilmiştir. En yüksek prolin içeriği kontrol grubunda (2.7 nmol/g TA) belirlenmiştir. Deneme sonucunda civa ve kadmiyum değerleri arasında istatistiksel bir fark belirlenmemiştir. Civa dozu artışıyla beraber prolin içeriği artmış sonra azalmıştır. En yüksek prolin içeriği 3 ppm'de (2.38 nmol/g TA) belirlenmiştir. En düşük prolin içeriği 6 ppm'de

(0.27 nmol/g TA) belirlenmiştir. Kadmiyum uygulamasında prolin içeriği önce artmış daha sonra azalmıştır.

Sonuç olarak civa ve kadmiyum uygulamaları POX ve SOD enzim aktivitelerinde ilk önce artışa daha sonra azalışa neden olmuştur. Ağır metal uygulaması sonucunda klorofil içeriği önce artmış daha sonra azalmıştır Prolin içeriğine bakıldığında civa ve kadmiyum uygulaması sonucunda prolin içeriğinde azalma gözlemlenmiştir. Bu durum ağır metallerin biyokimyasal olarak lipid peroksidasyonuna neden olması ve membran yapısını bozmasıyla açıklanabilir lipid peroksidasyonu sonucunda MDA ortaya çıkar ve iyon alınımını olumsuz etkiler, bileşiklerin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olur. Böylece membran yapısı, enzim aktivitesi ve hücre bileşenlerinin stabilitesi bozulur. Ayrıca ağır metaller klorofil sentezinde yer alan enzimleride inhibe eder (Li et al., 2006; Ouzounidou, 1995). Çalışma sonucunda yaş ve kuru ağırlıkta azalmalar gözlemlenmiştir. Bunun nedeni ağır metal hasarı bitkinin büyümesini olumsuz yönde etkileyerek yaş ve kuru ağırlık kaybına neden olmasıyla açıklanabilir (Barceló and Poschenrieder, 1990).

Ülkemizde ve dünyada ağır metal konsantrasyonları artan endüstrileşme ve insan faaliyetleri sonucunda havada ve topraklarda birikimi artmaktadır. Ağır metallerin insan sağlığına ve bitkiler üzerine etkileri düşünüldüğü zaman bu olumsuz etkilerle başa çıkma önemli hale gelmektedir.

Sorgum bitkisi tuzlu ve bitki besin elementleri bakımından fakir topraklarda, su basmalarının olduğu bölgelerde kolay yetişebilen bir bitkidir. Ülkemiz iklim ve toprak koşulları açısından Sorgum üretimine elverişlidir. Hayvan beslenmesinde mısıra alternatif bir bitkidir. Bu özellikler düşünüldüğü zaman çalışmada kullandığımız materyali oluşturan Sorgum bitkisinin kadmiyum ve civa gibi ağır metallerin etkilerinden korumak için bitkilerin geliştirdikleri savunma mekanizmalarını anlamak önemlidir. Söz konusu bulguların geçerliliğinin ispat etmek ve bitkilerin ağır metallerden korunma mekanizmalarını anlamak için daha ileri düzeyde çalışmalara gereksinim vardır. Bu ileri düzey çalışmalar içerisinde fide dönemi çalışmalar için 15 ppm üstü dozlar kullanılabilir veya 3, 6, 9, 12 ve 15 ppm dozları kullanılarak tohum verimine kadar gidilebilir.

KAYNAKLAR

- Ak, A., & Yücel, E. (2011). Ecotoxicological effects of heavy metal stress on antioxidant enzyme levels of *Triticum aestivum* cv. Alpu.
- Aksu, E., & Yıldız, N. (2004). *Heavy metal stress and tolerance of plants*. Paper presented at the International Soil Congress on Natural Resource Management for Sustainable Development. Erzurum.
- Ali, H., Khan, E., & Sajad, M. A. (2013). Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881.
- Anda, A., Illés, B., & Soós, G. (2013). Effect of cadmium pollution of atmospheric origin on field-grown maize in two consecutive years with diverse weather conditions. *Acta Biologica Hungarica*, 64(4), 476-489.
- Andresen, E., Kappel, S., Stärk, H. J., Riegger, U., Borovec, J., Mattusch, J., Dickinson, B. (2016). Cadmium toxicity investigated at the physiological and biophysical levels under environmentally relevant conditions using the aquatic model plant *Ceratophyllum demersum*. *New Phytologist*, 210(4), 1244-1258.
- Augustsson, A., Uddh-Söderberg, T., Filipsson, M., Helmfrid, I., Berglund, M., Karlsson, H., Alriksson, S. (2018). Challenges in assessing the health risks of consuming vegetables in metal-contaminated environments. *Environment international*, 113, 269-280.
- Baker, A. J., & Walker, P. L. (1990). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects.*, 155-177.
- Barceló, J., & Poschenrieder, C. (1990). Plant water relations as affected by heavy metal stress: a review. *Journal of plant nutrition*, 13(1), 1-37.
- Bayçu, G. "Picea abies' te Kadmiyum Toksisitesi ve Köklerde Kadmiyum Birikimi." *XIII. Ulusal Biyoloji Kongresi*, 1997, 17(20), ss. 433-442.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M., & Tomaro, M. L. (2005). Cadmium toxicity in plants. *Brazilian journal of plant physiology*, 17, 21-34.
- Bora, M. S., Gogoi, N., & Sarma, K. P. (2020). Tolerance mechanism of cadmium in *Ceratopteris pteridoides*: Translocation and subcellular distribution. *Ecotoxicology and environmental safety*, 197, 110599.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Cakmak, I., Strbac, D., & Marschner, H. (1993). Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds. *Journal of Experimental Botany*, 44(1), 127-132.
- Cargnelutti, D., Tabaldi, L. A., Spanevello, R. M., de Oliveira Jucoski, G., Battisti, V., Redin, M., . . . Nicoloso, F. T. (2006). Mercury toxicity induces oxidative stress in growing cucumber seedlings. *Chemosphere*, 65(6), 999-1006.
- Clarkson, D. T., & Lüttge, U. (1989). Mineral nutrition: divalent cations, transport and compartmentation. *Progress in botany*, 93-112.
- Cnubben, N. H., Rietjens, I. M., Wortelboer, H., van Zanden, J., & van Bladeren, P. J. (2001). The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental toxicology and pharmacology*, 10(4), 141-152.

- Cutler, J. M., & Rains, D. W. (1974). Characterization of cadmium uptake by plant tissue. *Plant Physiology*, 54(1), 67-71.
- Çaylak, E. (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 73-83.
- De Temmerman, L., Ruttens, A., & Waegeneers, N. (2012). Impact of atmospheric deposition of As, Cd and Pb on their concentration in carrot and celeriac. *Environmental Pollution*, 166, 187-195.
- Espinosa, A. F., & Oliva, S. R. (2006). The composition and relationships between trace element levels in inhalable atmospheric particles (PM10) and in leaves of Nerium oleander L. and Lantana camara L. *Chemosphere*, 62(10), 1665-1672.
- Foyer, C. H., & Harbinson, J. (2019). Oxygen metabolism and the regulation of photosynthetic electron transport. In *Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants* (pp. 1-42): CRC press.
- Geiger, G., Federer, P., & Sticher, H. (1993). *Reclamation of heavy metal—contaminated soils: Field studies and germination experiments* (0047-2425). Retrieved from
- Gezer, E. (2011). Arpa (hordeum vulgare l.) bitkisinin bazı çeşitlerinde ağır metal stresi etkilerinin fizyolojik olarak araştırılması.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Goyer, R. (1991). Toxic effects of metals In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. Amdur MO, Doull J and Klaassen CD, eds. In: Pergamon Press, Oxford, GB.
- Gözükara, E. (2011). BİYOKİMYA (Beşinci baskı). Nobel Tıp Kitapevi, Türkiye
- Halliwel, B., & Gutteridge, J. M. (1990). [1] Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods in enzymology*, 186, 1-85.
- Han, F. X., Su, Y., Monts, D. L., Waggoner, C. A., & Plodinec, M. J. (2006). Binding, distribution, and plant uptake of mercury in a soil from Oak Ridge, Tennessee, USA. *Science of the total Environment*, 368(2-3), 753-768.
- Harrison, R. M., & Chirgawi, M. (1989). The assessment of air and soil as contributors of some trace metals to vegetable plants II. Translocation of atmospheric and laboratory-generated cadmium aerosols to and within vegetable plants. *Science of the total environment*, 83(1-2), 35-45.
- Hauser, L., Tandy, S., Schulin, R., & Nowack, B. (2005). Column extraction of heavy metals from soils using the biodegradable chelating agent EDDS. *Environmental Science & Technology*, 39(17), 6819-6824.
- Huang, S., Song, Q., Li, Q., Zhang, H., Luo, X., & Zheng, Z. (2020). Damage of heavy metals to Vallisneria natans (V. natans) and characterization of microbial community in biofilm. *Aquatic Toxicology*, 225, 105515.
- Hui, L., Yinlong, Z., & Yongbo, W. (2020). Research progress on foliar absorption mechanism of pollutants. *Environmental Chemistry*(12), 3371-3383.
- Kabakçı, M. (2018). *Kadmiyum stresine maruz bırakılan buğday (Triticum aestivum) fidelerinde antioksidan enzim aktiviteleri üzerine dışarıdan uygulanan gallik asitin etkileri*. Necmettin Erbakan University (Turkey),
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., & Timur, S. (2003). Metallerin çevresel etkileri-I. *Metallurji dergisi*, 136, 47-53.

- Kaplan, M., & Kızılışımşek, M. (2012). Farklı tane sorgum (*Sorghum bicolor* L.) hat ve çeşitlerinin besleme değerlerinin belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 28(1), 11-14.
- Kilinc, K., & Kilinc, A. (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2), 110-118.
- Kinnersley, A. (1993). The role of phytochelates in plant growth and productivity. *Plant growth regulation*, 12(3), 207-218.
- Kökten, Yılmaz, Kaplan, Çağan, Çağlayan, "Bazı Ağır Metallerin (Cd, Cr, N,) Farklı Tane Sorgum (*Sorghum bicolor* L.) Çeşitlerinin Kök Ağırlıklarına Etkisinin Araştırılması." Uluslararası Tarım ve Kalkınma Kongresi, Siirt, 10-12 Haziran 2019, ss. 557-873.
- Kumar, A., Prasad, M., & Sytar, O. (2012). Lead toxicity, defense strategies and associated indicative biomarkers in *Talinum triangulare* grown hydroponically. *Chemosphere*, 89(9), 1056-1065.
- Li, M., Hu, C., Zhu, Q., Chen, L., Kong, Z., & Liu, Z. (2006). Copper and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in the microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae). *Chemosphere*, 62(4), 565-572.
- Limón-Pacheco, J., & Gonsébat, M. E. (2009). The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), 137-147.
- Liu, X., Zhang, S., Shan, X.-q., & Christie, P. (2007). Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination. *Ecotoxicology and environmental safety*, 68(2), 305-313.
- Lombardi, L., & Sebastiani, L. (2005). Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. *Plant science*, 168(3), 797-802.
- Luna, C. M., González, C. A., & Trippi, V. S. (1994). Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant and Cell Physiology*, 35(1), 11-15.
- Mckersie, B. D., & Leshem, Y. a. Y. (1994). Chilling stress. In *Stress and stress coping in cultivated plants* (pp. 79-103): Springer.
- Messer, R. L., Lockwood, P. E., Tseng, W. Y., Edwards, K., Shaw, M., Caughman, G. B., Wataha, J. C. (2005). Mercury (II) alters mitochondrial activity of monocytes at sublethal doses via oxidative stress mechanisms. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 75(2), 257-263.
- Meychik, N., Nikolaeva, Y. I., & Yermakov, I. (2006). Ion-exchange properties of cell walls of *Spinacia oleracea* L. roots under different environmental salt conditions. *Biochemistry (Moscow)*, 71(7), 781-789.
- Munzuroglu, O., & Geckil, H. (2002). Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(2), 203-213.
- Ouzounidou, G. (1995). Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion contents in a Cu-tolerant *Koeleria splendens*. *Biologia plantarum*, 37(1), 71-78.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *J Clin Exp Invest*, 6(3), 331-336.

- Özkan, A. (2004). Fışkın K. Serbest oksijen radikalleri ve Karsinogenez ve antioksidan enzimler. *International Journal of Hematology and Oncology*, 14(1), 52-60.
- Palusińska, M., Barabasz, A., Kozak, K., Papierniak, A., Maślińska, K., & Antosiewicz, D. M. (2020). Zn/Cd status-dependent accumulation of Zn and Cd in root parts in tobacco is accompanied by specific expression of ZIP genes. *BMC plant biology*, 20(1), 1-19.
- Peterson, P. (1993). Plant adaptation to environmental stress: metal pollution tolerance. *Fowden, L., Mansfield, T., Stoddart, J., Chapman&Hall*, 171-188.
- Rether, A. (2002). *Entwicklung und Charaktisierung wasserlöslicher Benzoylthioharnstofffunktionalisierter Polymere zur selektiven Abtrennung von Schwermetallionen aus Abwässern und Prozesslösungen*. Technische Universität München,
- Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, N. P., Dushenkov, V., Ensley, B. D., Chet, I., & Raskin, I. (1995). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio/technology*, 13(5), 468-474.
- Schulze, E., Beck, E., Müller-Hohenstein, K., Schulze, E., Beck, E., & Müller-Hohenstein, K. (2005). Stress physiology. *Plant Ecology. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag*, 5-250.
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy* (pp. 1-37): ACS Publications.
- Shahid, M., Dumat, C., Khalid, S., Niazi, N. K., & Antunes, P. (2016). Cadmium bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 241*, 73-137.
- Sheoran, V., Sheoran, A., & Poonia, P. (2010). Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 41(2), 168-214.
- Sheoran, V., Sheoran, A., & Poonia, P. (2010). Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 41(2), 168-214.
- Singh, S., Eapen, S., & D'souza, S. (2006). Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and antioxidative system in an aquatic plant, *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere*, 62(2), 233-246.
- Tester, M., & Leigh, R. A. (2001). Partitioning of nutrient transport processes in roots. *Journal of Experimental Botany*, 52(suppl_1), 445-457.
- Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S., & Cakmak, I. (2006). Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(3), 181-189.
- Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S., & Cakmak, I. (2006). Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(3), 181-189.
- Ulusu, Y. (2007). *Farklı dozlardaki kadmiyumun maydanoz (Petroselinum hotense hoffm) bitkisinde fotosentetik pigmentler ve oksidatif enzim aktiviterine etkisi*. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Verma, S., & Dubey, R. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant science*, 164(4), 645-655.
- Wan, Y., Wang, K., Liu, Z., Yu, Y., Wang, Q., & Li, H. (2019). Effect of selenium on the subcellular distribution of cadmium and oxidative stress induced by cadmium in rice

- (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(16), 16220-16228.
- Wang, C., Mo, Z., Wang, H., Wang, Z., & Cao, Z. (2003). The transportation, time-dependent distribution of heavy metals in paddy crops. *Chemosphere*, 50(6), 717-723.
- Wang, P., Deng, X., Huang, Y., Fang, X., Zhang, J., Wan, H., & Yang, C. (2015). Comparison of subcellular distribution and chemical forms of cadmium among four soybean cultivars at young seedlings. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(24), 19584-19595.
- Wrzaczek, M., Vainonen, J. P., Gauthier, A., Overmyer, K., & Kangasjärvi, J. (2011). Reactive oxygen in abiotic stress perception-from genes to proteins. *Abiotic Stress Response in Plants*, eds A. Shanker and B. Venkateswarlu (Rijeka: InTech), 27-55.
- Wuana, R., & Okieimen, F. (2011). *ISRN Ecology*, 2011, vol. 2011. DOI, 10, 402647.
- Yang, G.-L., Zheng, M.-M., Tan, A.-J., Liu, Y.-T., Feng, D., & Lv, S.-M. (2021). Research on the mechanisms of plant enrichment and detoxification of cadmium. *Biology*, 10(6), 544.
- Yıldız, N. (2003). Toprak kirleticisi ağır metaller ve toprak bitki ilişkileri. I. *Ulusal Çevre Sempozyumu. Atatürk Üniversitesi Çevre Sorunları Araştırma Merkezi Müdürlüğü Erzurum*.
- Yılmaz, H. Ş., & Kökten, K. (2019). Kadmiyum (Cd) uygulamasının tane sorgumda (*Sorghum bicolor* L.) bazı morfolojik özellikler üzerine etkisinin belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(3), 447-456.
- Yılmaz, H. Ş. (2015). *Bazı ağır metal uygulamalarının sorgum (Sorghum bicolor L.) bitkisinin enzim aktivitesi üzerine etkisi*. Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Young, I., & Woodside, J. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.
- Zhang, R. R., & Zhang, P. (2016). Oxidative stress-related signals and their regulation under Cd stress: A review. *Ying Yong Sheng tai xue bao= The Journal of Applied Ecology*, 27(3), 981-992.
- Zheljaskov, V. D., & Nielsen, N. E. (1996). Effect of heavy metals on peppermint and cornmint. *Plant and soil*, 178(1), 59-66.

ÖZ GEÇMİŞ

Büşra ÇEVİK, K.K.T.C Namık Kemal Lisesi'ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji bölümünden 10.06.2019 tarihinde mezun oldu. 2020 yılında OMÜ LEE Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-3683-5240

Yayınlar:

1. ÇEVİK, B., BAHADIR, S., & EKİNCİ, D. (2023). Partial Purification of Catalase Enzyme from Muscle Tissue of Dusky Spinefoot (*Siganus luridus*). *Black Sea Journal of Agriculture*, 5-6.
2. Bilir, G., B. Çevik., A. C. Olcay., Ö. Taş., M. Yalçın ve D. Ekinici (2019, Aralık). "Purification Of The Catalase Enzyme From Jute Mallow (*Corchorus Olitorius L.*) Seeds And Inhibition Effects Of Some Metal Ions On Enzymeactivity". 48th Annual Food Science and Technology Conference. University of Limerick. Ireland.