

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) BİTKİSİNDE KADMIYUM SÜLFAT (CdSO_4)
UYGULAMASININ BAZI METABOLİK OLAYLAR ÜZERİNE ETKİSİ

ZEYNEP BANU DOĞANLAR

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA
MART 2007

Tezin Başlığı :AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) BİTKİSİNDE
KADMIYUM SÜLFAT (CdSO₄) UYGULAMASININ BAZI
METABOLİK OLAYLAR ÜZERİNE ETKİSİ

Tezi Hazırlayan : Zeynep Banu DOĞANLAR

Sınav Tarihi :05. Mart.2007

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri (ilk isim jüri başkanı, ikinci isim tez danışmanı)

Prof. Dr. Serpil ÜNYAYAR (Başkan)

1


Doç.Dr. Füsun YÜREKLİ



Prof. Dr. Ş. Fatih TOPCUOĞLU



Doç. Dr. Sema ERDEMOĞLU



Yrd. Doç.Dr. Emel YİĞİT



İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof.Dr.Ali ŞAHİN
Enstitü Müdürü

Onur Sözü

Doktora Tezi olarak sunduğum “AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) BİTKİSİNDE KADMİYUM SÜLFAT (CdSO_4) UYGULAMASININ BAZI METABOLİK OLAYLAR ÜZERİNE ETKİSİ” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.



Zeynep Banu DOĞANLAR

ÖZET

Doktora Tezi

AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) BİTKİSİNDE KADMIYUM SÜLFAT (CdSO_4) UYGULAMASININ BAZI METABOLİK OLAYLAR ÜZERİNE ETKİSİ

Zeynep Banu DOĞANLAR

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

179+ xi sayfa

2007

Danışman: Doç.Dr. Füsün YÜREKLİ

Bu çalışmada, değişik konsantrasyonlarda kadmiyum sülfat (CdSO_4) uygulamasının ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök doklarında Cd birikimi, fitokelatin ve toplam çözünebilir protein miktarı ve nitrik oksit (NO) düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmada, 11 çeşit ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisine değişik konsantrasyonlarda kadmiyum sülfat (CdSO_4) uygulaması yapılarak Cd'a en dayanıklı ve en duyarlı ayçiçeği bitkileri saptanmıştır. 11 çeşit ayçiçeği bitkisinden Cd uygulamasına en dayanıklı olarak Meriç ve en duyarlı olarak da Tarsan 1018 çeşitlerinin çalışmada kullanılmasına karar verilmiştir. Hoagland kültür çözeltisinde 15 gün yetiştirilen ayçiçeği bitkilerine 2 ve 4 gün süre ile CdSO_4 (150 μM , 200 μM 250 μM ve 300 μM) uygulaması yapılmıştır.

Çalışmanın sonunda, çalışmada kullanılan Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin değişik konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulanmış kültür koşullarında yaprak, gövde ve kök doklarında Cd birikiminin zamana bağlı olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Dayanıklı Meriç çeşidinde Cd birikiminin ve fitokelatin miktarlarının duyarlı Tarsan 1018 çeşidinden daha düşük olduğu bulunmuştur. Toplam çözünebilir protein miktarlarının Cd uygulamasından 2 ve 4 gün sonra her iki çeşitte de azaldığı ve bu azalmanın Tarsan 1018 çeşidinde daha belirgin olduğu saptanmıştır. Nitrik oksit (NO) düzeylerinde ise, Meriç çeşidinde Cd uygulamasına bağlı olarak artış görülürken, Tarsan 1018 çeşidinde 2. günde her üç dokuda da artış ve azalışların olduğu 4. günde ise artışların olduğu bulunmuştur. Tüm konsantrasyonlar ve her iki uygulama zamanında dayanıklı Meriç çeşidinde NO düzeyleri Tarsan 1018 çeşidine göre daha yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak, Meriç çeşidinin Tarsan 1018 çeşidine göre yaprak, gövde ve kök doklarında daha az Cd biriktirmesi ve daha düşük miktarda fitokelatin sentezlemesi, toplam çözünebilir protein miktarındaki azalmanın daha az olması ve yüksek düzeyde NO sentezlemesinden dolayı Cd stresine dayanıklı bir çeşit olabileceğini düşündürmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: *Helianthus annuus*, ayçiçeği, ağır metal stresi, kadmiyum (Cd), fitokelatin, toplam çözünebilir protein, nitrik oksit

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE EFFECT OF CADMIUM SULPHATE (CdSO₄) TREATMENT ON SOME METABOLIC EVENTS IN SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.) PLANTS

Zeynep Banu DOĞANLAR

İnönü University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

179 + xi pages

2007

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Füsün YÜREKLİ

In this study, effects on Cd accumulations, amount of phytochelatin, total protein and nitric oxide levels in leaves, stem and root tissues were investigated under different cadmium sulphate (CdSO₄) conditions.

Tolerant and sensitive sunflower plants were determined by treatments of different cadmium sulphate (CdSO₄) concentrations on 11 varieties of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Meriç and Tarsan 1018 varieties as the most tolerant and most sensitive to Cd applications were decided to use our experiments. CdSO₄ treatments (150 µM, 200 µM 250 µM ve 300 µM) were applied for 2 and 4 days to sunflower plants grown in Hoagland culture conditions for 15 days.

Accumulation of Cd in leaf, stem and root tissues in both Meriç and Tarsan 1018 varieties treated with different concentrations of Cd, were observed to increase depending on the exposure time. Cd accumulation and amounts of phytochelatin were found to be lower in tolerant Meriç variety compared to sensitive Tarsan 1018 variety. It was observed that the total soluble protein amounts reduced after 2 and 4 days of Cd application in both varieties but in Tarsan 1018 variety this decrease was more obvious. For nitric oxide levels, there was an increase in Meriç variety depending on the concentration of the Cd treatment and in Tarsan 1018 variety there was a variation for all three tissues in the 2nd day and there was an increase in the 4th day. For all concentrations and both exposure times NO levels in tolerant Meriç variety were higher than those of sensitive Tarsan 1018 variety.

In conclusion, Meric variety was considered as tolerant to Cd stress comparing to Tarsan 1018 variety, because it accumulated less Cd in leaves, stem and roots, produced less phytochelatin, decrease of the total protein was less and synthesised high levels of nitric oxide.

KEY WORDS: *Helianthus annuus*, ayçiçeği, heavy metal stress, cadmium (Cd), phytochelatin, total soluble protein, nitric oxide

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince benden yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç.Dr. Füsün YÜREKLİ'ye,

Tez çalışmamın HPLC analizlerinin yapılmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Prof.Dr. Muhittin YÜREKLİ'ye,

Çalışmamın istatistik analizlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen eşim Yrd.Doç.Dr. Oğuzhan DOĞANLAR'a,

Çalışmamda Nitrik Oksit analizlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Arş.Grv. Arzu DOĞRU ve Arş.Grv. İlker DOĞRU'ya,

Tez çalışmalarım sırasında örneklerimin ICP analizlerini yapan Mustafa Kemal Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'na,

Tez izleme komitelerinde tez çalışmasına katkılarından dolayı Doç.Dr. Sema ERDEMOĞLU ve Yrd. Doç.Dr. Emel YİĞİT'e,

Tez çalışması süresince manevi desteklerini esirgemeyen anneme ve babama,

Ayrıca, doktora tez çalışmamı proje halinde destekleyen İnönü Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi'ne (İ.Ü.A.P.B. Proje No: 2004/25) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	ÖZET.....	i
	ABSTRACT.....	ii
	TEŞEKKÜR.....	iii
	İÇİNDEKİLER.....	iv
	ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
	ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
	SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
1	GİRİŞ.....	1
2	KAYNAK ÖZETLERİ.....	18
3.	MATERYAL ve YÖNTEM.....	29
3.1.	Çalışmada Kullanılan Bitkiler.....	29
3.2.	Çalışmada Kullanılan Kültür Çözeltileri.....	29
3.3.	Deneysel Koşullar.....	30
3.4.	Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	30
3.4.1.	Tohum Çimlendirme Yöntemi.....	30
3.4.2.	Bitki Büyütme Yöntemi.....	31
3.4.3.	Cd'a En Dayanıklı ve En Duyarlı Ayçiçeği Çeşidinin Belirlenmesi.....	31
3.4.4.	Çalışmada Kullanılan CdSO ₄ Konsantrasyonlarının Belirlenmesi.....	32
3.5.	Analizler.....	32
3.5.1.	Örnek Alma İşlemleri.....	32
3.5.2.	Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Cd Miktarının Saptanması.....	33
3.5.3.	Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Fitokelatin Miktarının Saptanması..	33
3.5.4.	Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Toplam Çözünabilir Protein Miktarının Saptanması.....	33
3.5.5.	Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Nitrik Oksit (NO) Düzeyinin Saptanması.....	34
3.6.	İstatistik Analiz.....	34
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	36
4.1.	Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO ₄ Uygulanmış Ayçiçeği Bitkilerinin Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Cd Birikimi.....	36
4.1.1.	Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO ₄ Uygulamasının 2. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Cd Miktarları.....	36
4.1.2.	Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO ₄ Uygulamasının 4. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Cd Miktarları	40
4.1.3.	Farklı CdSO ₄ Konsantrasyonlarında Ayçiçeği Bitkisinde Çeşit Farklılığının ve Uygulama Zamanının Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları Üzerine Etkisi.....	44
4.1.4.	Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO ₄ Uygulamasının 2. Gününde Cd Konsantrasyonları ile Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları Arasındaki İlişki.....	47
4.1.5.	Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO ₄ Uygulamasının 4. Gününde Cd Konsantrasyonları ile Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları Arasındaki İlişki.....	50

4.2.	Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO ₄ Uygulanmış Ayçiçeği Bitkilerinin Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Fitokelatin Birikimi.....	53
4.2.1.	Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO ₄ uygulamasının 2. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Fitokelatin Miktarlar.....	53
4.2.2.	Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO ₄ Uygulamasının 4. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Fitokelatin Miktarları.....	57
4.2.3.	Farklı Cd Konsantrasyonlarında Ayçiçeği Bitkisinde Çeşit Farklılığının ve Uygulama Zamanının Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Belirlenen Fitokelatin Miktarları Üzerine Etkisi.....	62
4.2.4.	Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO ₄ Uygulamasının 2. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları ile Aynı Dokularda Belirlenen Fitokelatin Miktarları Arasındaki İlişki.....	64
4.2.5.	Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO ₄ Uygulamasının 4. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları ile Aynı Dokularda Belirlenen Fitokelatin Miktarları Arasındaki İlişki.....	67
4.3.	Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO ₄ Uygulanmış Ayçiçeği Bitkilerinin Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Toplam Çözünebilir Protein Miktarları.....	70
4.3.1.	Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO ₄ Uygulamasının 2. gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Toplam Çözünebilir Protein Miktarları.....	70
4.3.2.	Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO ₄ Uygulamasının 4. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Toplam Çözünebilir Protein Miktarları.....	75
4.3.3.	Farklı CdSO ₄ Konsantrasyonlarında Ayçiçeği Bitkisinde Çeşit Farklılığının ve Uygulama Zamanının Yaprak, Gövde ve Kök Dokularındaki Toplam Çözünebilir Protein Miktarları Üzerine Etkisi.....	81
4.3.4.	Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO ₄ Uygulamasının 2. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Cd Konsantrasyonları ile Aynı Dokularda Belirlenen Toplam Çözünebilir Protein Miktarları Arasındaki İlişki.....	83
4.3.5.	Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO ₄ Uygulamasının 4. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Cd Konsantrasyonları ile Aynı Dokularda Belirlenen Toplam Çözünebilir Protein Miktarları Arasındaki İlişki.....	86
4.4.	Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO ₄ Uygulanmış Ayçiçeği Bitkilerinin Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak NO Düzeyleri.....	90
4.4.1.	Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO ₄ Uygulamasının 2. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki NO Düzeyleri.....	90

4.4.2.	Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO ₄ Uygulamasının 4. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki NO Düzeyleri.....	94
4.4.3.	Farklı CdSO ₄ Konsantrasyonlarında Ayçiçeği Bitkisinde Çeşit Farklılığının ve Uygulama Zamanının Yaprak, Gövde ve Kök Dokularındaki NO Düzeyleri Üzerine Etkisi.....	99
4.4.4.	Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO ₄ Uygulamasının 2. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken CdSO ₄ Miktarları ile Aynı Dokularda Belirlenen NO Düzeyleri Arasındaki İlişki.....	102
4.4.5.	Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO ₄ Uygulamasının 4. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları ile Aynı Dokularda Belirlenen NO Düzeyleri Arasındaki İlişki.....	104
5.	SONUÇ ve TARTIŞMA.....	108
6.	KAYNAKLAR.....	135
	EKLER.....	147
	ÖZGEÇMİŞ.....	179

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Periyodik Tablo.....	2
Şekil 1.2.	Bulundukları topraklardaki ağır metallere karşı gösterdikleri tepkilere göre bitki grupları.....	4
Şekil 1.3.	Hücre içinde Cd bağlayan kompleksler ve ilgili taşınma mekanizmaları.....	8
Şekil 1.4.	Fitokelatinlerin yapısı.....	12
Şekil 1.5.	Bitkilerde fitokelatin sentezi.....	13
Şekil 1.6.	Bitkilerde Nitrik Oksit sentezi.....	14
Şekil 1.7.	Bitkilerde Nitrik oksit'in kimyasal reaksiyonları.....	16
Şekil 4.1.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen Cd miktarı	38
Şekil 4.2.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen Cd miktarı.....	41
Şekil 4.3.	Meriç çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları arasındaki ilişki.....	47
Şekil 4.4.	Tarsan 1018 çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları arasındaki ilişki.....	49
Şekil 4.5.	Meriç çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları arasındaki ilişki.....	51
Şekil 4.6.	Tarsan 1018 çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları arasındaki ilişki.....	52
Şekil 4.7.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularında belirlenen fitokelatin ve Cd miktarı.....	54
Şekil 4.8.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularında belirlenen fitokelatin ve Cd miktarı.....	56
Şekil 4.9.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularında belirlenen fitokelatin ve Cd miktarı.....	59
Şekil 4.10.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularında belirlenen fitokelatin ve Cd miktarı.....	61
Şekil 4.11.	Meriç çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd birikimleri ile aynı dokularda belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki ilişki.....	64
Şekil 4.12.	Tarsan 1018 çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd birikimleri ile aynı dokularda belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki ilişki.....	66
Şekil 4.13.	Meriç çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd birikimleri ile aynı dokularda belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki ilişki.....	67

Şekil 4.14.	Tarsan 1018 çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd birikimleri ile aynı dokulardaki fitokelatin miktarları arasındaki ilişki.....	69
Şekil 4.15.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularındaki toplam çözünabilir protein ve Cd miktarı.....	72
Şekil 4.16.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularındaki toplam çözünabilir protein ve Cd miktarı.....	74
Şekil 4.17.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularındaki toplam çözünabilir protein ve Cd miktarı.....	77
Şekil 4.18.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularındaki toplam çözünabilir protein ve Cd miktarı.....	79
Şekil 4.19.	Meriç çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında Cd konsantrasyonları ile aynı dokularda belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları arasındaki ilişki.....	83
Şekil 4.20.	Tarsan 1018 çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında Cd konsantrasyonları ile aynı dokularda belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları arasındaki ilişki.....	85
Şekil 4.21.	Meriç çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında Cd konsantrasyonları ile aynı dokularda belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları arasındaki ilişki.....	86
Şekil 4.22.	Tarsan 1018 çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında Cd konsantrasyonları ile aynı dokularda belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları arasındaki ilişki.....	88
Şekil 4.23.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularındaki NO düzeyi ve Cd miktarı.....	91
Şekil 4.24.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularındaki NO düzeyi ve Cd miktarı.....	93
Şekil 4.25.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularındaki NO düzeyi ve Cd miktarı.....	96
Şekil 4.26.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularındaki NO düzeyi ve Cd miktarı.....	98
Şekil 4.27.	Meriç çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları ile aynı dokularda belirlenen NO düzeyleri arasındaki ilişki.....	102
Şekil 4.28.	Tarsan 1018 çeşidinde CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları ile aynı dokularda belirlenen NO miktarları arasındaki ilişki.....	103

Şekil 4.29.	Meriç çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları ile aynı dokularda belirlenen NO düzeyleri arasındaki ilişki.....	105
Şekil 4.30.	Tarsan 1018 çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları ile aynı dokularda belirlenen NO düzeyleri arasındaki ilişki.....	106

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Hoagland kültür çözeltilisinin bileşimi.....	29
Çizelge 3.2.	Cd uygulamasında kullanılan Cd bileşiği ve Cd ²⁺ miktarları.....	32
Çizelge 4.1.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularındaki Cd miktarları.....	36
Çizelge 4.2.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularındaki Cd miktarları.....	40
Çizelge 4.3.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasına bağlı olarak Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında Cd uygulamasının 2. ve 4. günlerinde belirlenen Cd miktarları.....	45
Çizelge 4.4.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularındaki fitokelatin miktarları.....	53
Çizelge 4.5.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularındaki fitokelatin miktarları.....	58
Çizelge 4.6.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasına bağlı olarak Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında Cd uygulamasının 2. ve 4. günlerinde belirlenen fitokelatin miktarları.....	63
Çizelge 4.7.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları.....	71
Çizelge 4.8.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları.....	76
Çizelge 4.9.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasına bağlı olarak Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında Cd uygulamasının 2. ve 4. günlerinde belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları.....	82
Çizelge 4.10.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen NO düzeyleri.....	90
Çizelge 4.11.	Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen NO düzeyleri.....	95
Çizelge 4.12.	Farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ uygulamasına bağlı olarak Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında Cd uygulamasının 2. ve 4. günlerinde belirlenen NO düzeyleri.....	101

SİMGELER ve KISALTMALAR

ATPaz	Adenozin tri fosfataz
BSA	Bovine Serum Albumin
Cd	Kadmiyum
CdSO ₄	Kadmiyum sülfat
cPTIO	2-(4-karboksifenil)-4,4,5,5-terametylimidazolin-1-oxyl-3 oksit
EC Sentetaz-	γ Glutamilsistein Sentetaz
GSH Sentetaz	Glutasyon Sentetaz
GSH	Glutasyon
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HClO ₄	Perklorik asit
HNO ₃	Nitrik asit
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
ICP	Inductively Coupled Plasma
MT	Metallotionein
N ₂	Azot
NH ₃	Amonyak
NH ₄	Amonyum
NiR	Nitrit redüktaz
NO	Nitrik Oksit
NO	Nitroksil anyon
NO $\cdot$	Nitrik Oksit Radikal
NO ⁺	Nitrosonyum katyon
NO ₂ ⁻	Nitrit
NO ₃	Nitrat
NOS	Nitrik oksit sentaz
NR	Nitrat redüktaz
OH	Hidroksil radikal,
R	Oksijensiz serbest radikal
RO	Alkoksil radikaller
ROO	Peroksi radikaller
S.H.	Standart hata
SNAP	S-nitroso-N-astil-penisilamin
SNP	Sodyum nito prusid
T.A.	Taze ağırlık

1. GİRİŞ

Sanayileşme şehirlerin hızlı büyümesini teşvik ederken beraberinde tonlarca kimyasalın kontrolsüz şekilde hava, su ve toprağa karışmasına neden olmaktadır. Ayrıca, hızlı nüfus artışı, kısıtlı tarımsal arazilerde birim alandan daha fazla ürün almak için pestisit, gübre v.b. organik ve inorganik maddelerin bilinçsiz kullanılmasına yol açmaktadır. Tüm bu faktörler, özellikle son 50 yıl içerisinde başta insan olmak üzere çevre sağlığını ciddi anlamda tehdit eden bir kirliliği gündeme taşımaktadır.

Özellikle 19. yüzyılda yaşanan büyük endüstri devriminden sonra, yaşadığımız çevrenin dolaylı ve doğrudan kirletilmesi bir takım problemleri de beraberinde getirmiştir. Bugün bu problemler çevre sorunları olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kirlenmeye sebep olan etmenler genel olarak aşağıdaki şekilde gruplanabilir;

- 1) Fiziksel kirlenme: Radyonükleidler (atom santralleri ve nükleer patlamalar), ısıtma veya termik kirlenme, gürültü ve alçak frekanslı titreşimler
- 2) Kimyasal kirlenme: Ağır metaller, sıvı hidrokarbonlar ve karbon gazı türevleri, deterjanlar, plastik maddeler, pestisit ve sentezlenmiş diğer organik bileşikler, kükürt türevleri, azot türevleri, florürler, katı partiküller (aerosol), fermente olabilen organik maddeler
- 3) Biyolojik kirlenme: Bakteri ve virüslerle kirletilmiş çevreden mikrobiyolojik bulaşma, bitki ve hayvan türlerine yapılan yanlış müdahale ile biyosenozun değiştirilmesi [1].

Çevre kirliliğinin yarattığı sağlık sorunları insanlığın geleceğini tehdit ederken, canlı ve cansız sistemlerde neden olduğu ekonomik kayıplar da çok fazladır. İnsanlığın geleceğini tehdit eden, tüm dünyada görülen ve bütün canlılar üzerinde etkileri her geçen gün artan çevre sorunlarının en önemlisi çevre kirliliğidir ve bu nedenlerden dolayı çevre kirliliği günümüzde üzerinde en çok araştırma yapılan konulardan biri haline gelmiştir. Çevre kirliliğine yol açan etmenler ve bu etmenlerin etkileri üzerine her yıl çok sayıda araştırma yapılmaktadır [1].

Çevre kirliliğine yol açan esas etmenlerden olan kimyasal kirliliğin en önemli bileşenlerinden birisi de ağır metallerdir. Ağır metal terimi ilk olarak 1936 yılında ortaya atılmış ve elemental yoğunluğu 7 g/cm^3 'ün üzerindeki metaller olarak açıklanmıştır [2]. Daha sonra bu tanımlama çeşitli araştırmacılar tarafından modifiye edilmiştir. Ağır metaller, elemental yoğunluklarına göre 4 g/cm^3 'ten yüksek olanlar [3, 4], 5 g/cm^3 'ten yüksek olanlar [5,6,7], 4.5 g/cm^3 yüksek olanlar [8] ve son olarak 6 g/cm^3 ten yüksek olanlar olarak [9] tanımlanmışlardır. Bunun dışında elementlerin

atomik ağırlıkları veya kütlelerine [10, 11], atomik numaralarına [12], fiziksel, kimyasal ve biyolojik fonksiyonları ile toksisitelerine [13,14] göre yapılmış ağır metal tanımlamaları da bulunmaktadır.

1 H																	2 He
3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
55 Cs	56 Ba	57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
87 Fr	88 Ra	89 Ac	104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110	111	112	113	114				

58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu
90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr

<u>Sınır elementleri</u>				<u>B sınıfı elementleri</u>	
Titanyum	Ti ⁺²	Kadmiyum	Cd ⁺²	Rhodium	Rh
Vanadyum	V ⁺²	Indiyum	In ⁺³	Paladyum	Pd ⁺²
Krom	Cr ⁺²	Kalay	Sn ⁺² , Sn(IV)	Bakır	Cu ⁺²
Mangan	Mn ⁺²	Antimon	Sb(III)	Gümüş	Ag
Demir	Fe ⁺² , Fe ⁺³	Kurşun	Pb	İridyum	Ir
Kobalt	Co ⁺²			Platin	Pt ⁺²
Nikel	Ni ⁺²			Altın	Au ⁺
Bakır	Cu ⁺²			Civa	Hg ⁺²
Çinko	Zn ⁺²			Thallium	Tl ⁺ , Tl ⁺³
Galliyum	Ga ⁺²			Kurşun	Pb (IV)
Arsenik	As(III)			Bizmut	Bi ⁺³

Şekil 1.1. Periyodik tablo.

Ağır metaller Şekil 1.1.'de görülen periyodik tablo üzerinde B sınıfı ve sınır elementleri olarak gösterilmiştir. Bu sınıflandırmada sınır elementlerinin hepsi ve B sınıfı elementleri genel olarak ağır metal olarak tanımlanmıştır [15].

Ancak günümüzde en çok kullanılan ağır metal tanımı Elmsley [16] tarafından öne sürülen "5 g/cm³ den daha büyük yoğunluğa sahip olan ve organizmalar için zorunlu olmayan metaller" olarak yapılan tanımdır.

Ağır metaller esas olarak toprakta var olan elementler olmasına karşın, kimyasal atıklarda, baca gazlarında, birçok sanayi ürünüde, ayrıca pestisitler ve kimyasal gübrelere yaygın olarak bulunurlar. Bu sebeple her yıl tonlarca ağır metal çevreye yayılmakta ve ciddi boyutlarda toprak ve su kirliliği oluşturmaktadır.

Ağır metaller toprakta doğal olarak kolloidal, iyonik, partikül ve çözünmemiş fazda, fakat az miktarda bulunan elementlerdir. Toprak solüsyonundaki ağır metallerin kimyasal özelliği büyük oranda ilgili metal elementine, pH ve diğer iyonların varlığına bağlıdır. Bu elementler toprakta yüksek konsantrasyonlara ulaşırsa, toprak bünyesinde belirli mineraller tarafından çözünürlüğü sınırlanır. Ancak ağır metallerin insan aktivitesi sonucu biyolojik olarak kullanılabilir biçimlerde serbest kalması ekosistemlere önemli ölçüde zarar verebilmektedir [17].

Toprak solüsyonunda bulunan ağır metallerin zararlı etkilerini, toprağın kimyasal yapısı üzerindeki etkileri ve doğrudan toksik etkileri olmak üzere iki grupta toplamak mümkündür. Ağır metaller humik asitlere, organik killere ve organik madde ile kaplanmış oksitlere karşı yüksek bir ilgiye sahiptirler. Çözünebilir formlar genellikle iyonlar veya iyonlaşmamış organometallik kelatlar veya komplekslerdir. Çoğu toprağın karakteristik özelliği olan nötral ve bazik şartlar altında katyonik metaller kil parçalarından güçlü bir şekilde emilir ve toprak minerallerinde bulunan demir (Fe), alüminyum (Al) ve mangan (Mn) elementlerinin hidroksitleri tarafından adsorbe edilebilir. Bunun sonucu olarak artan tuz konsantrasyonu katyonlar ve metaller arasında bağlanma bölgeleri için bir rekabet yaratır [18]. Bu rekabet bitkinin ihtiyacı olan metal yerine zararlı ağır metalin bitkiye girişine neden olur. Ağır metaller, yüksek konsantrasyonlarda proteinlerin tiol grupları ve tiol içeren bazı koenzimlerle reaksiyona girerler ve metal kofaktörlerle yer değiştirerek aktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olurlar. Örneğin kadmiyum (Cd⁺²) iyonları çinko (Zn⁺²), Fe⁺², ve/veya bakır (Cu⁺²) ve/veya kofaktör olarak bu metallere gereksinim duyan proteinlerdeki kalsiyum (Ca⁺²) gibi ağır olmayan metallerle yer değiştirebildiğinden proteinlerin aktivitelerini bozarlar [19]. Ağır metallerin toksik etkileri ise, esas olarak enzimler üzerinde görülür.

Enzimlerin inhibisyonu, katalitik olarak aktif gruplarının veya protein denaturasyonunun meydana gelmesinden dolayı olmaktadır. Toprağın ağır metallere uzun süreli maruz kalması, topraktaki enzim aktivitesinin önemli derecede azalmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda toprak solunumu ve atık ayrışması engellenir [17]. Toprağın bünyesindeki bu tip olumsuz değişimler, ilk olarak bu topraklar üzerinde var olan florayı etkilemektedir. Bu tip topraklarda yetişen bitkiler maruz kaldıkları stresin özelliklerine göre farklı tepkiler geliştirmişlerdir.

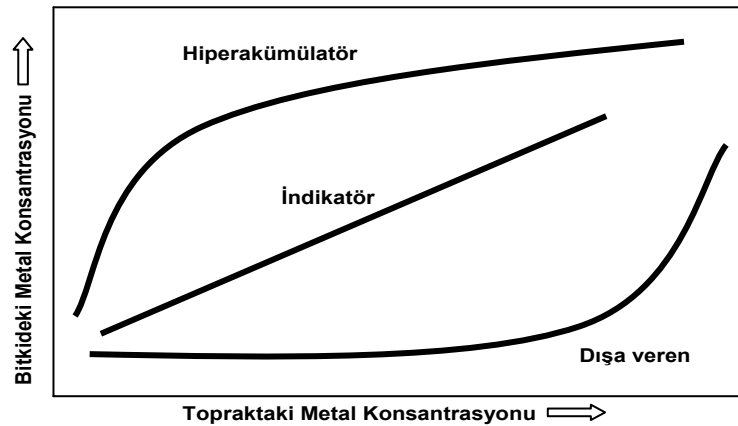
Bitkiler bulundukları topraklardaki ağır metallere karşı gösterdikleri tepkilere göre 3 grupta incelenebilir (Şekil 1.2.).

1- Metali bünyesine almayanlar

Bu bitkiler, toprak üstü kısımlarında metal girişini engelleyerek metalin bu bölgelerde düşük ve sabit miktarda kalmasını sağlayan bitkilerdir. Genellikle metali köklerinde tutarlar. Bu tip bitkiler hücre zarlarının geçirgenliğini, hücre çeperlerinin metal bağlama kapasitelerini değiştirebilirler ve aynı zamanda daha fazla kelatlayıcı madde salgılayabilirler.

2- Metal indikatörler

Bu bitkiler, metalleri kendi toprak üstü dokularında aktif olarak biriktirirler ve bu bitkilerin dokularındaki metal konsantrasyonu topraktaki metal düzeyini yansıtır. Bu türler, hücrelerinin içinde metal bağlayan bileşikler (kelatlayıcılar) üreterek metallerin mevcut konsantrasyonunu tolere edebilirler.



Şekil 1.2. Bulundukları topraklardaki ağır metallere karşı gösterdikleri tepkilere göre bitki grupları

3- Metal akümülatör bitki türleri

Bu bitkiler, metalleri toprak üstü organlarında ve köklerinde biriktirebilirler ve metal içerikleri topraktaki metal düzeyinden oldukça yüksektir. Baker ve Brooks [20], metal hiperakümülatörleri, kendi kuru ağırlıklarının % 0.1'inden fazlasına kadar bakır, kadmiyum, krom, kurşun, nikel veya % 1'den fazla çinko veya mangan içeren türler

olarak tanımlamışlardır. Kadmiyum ve diğer eser elementler için bu rakam % 0.01 den büyük olarak bildirilmiştir [20].

Kadmiyum (Cd), krom, civa, kurşun, alüminyum, gümüş ve kalay gibi ağır metaller yoğunluğu 5.0 g/cm^3 'ten daha yüksek olan bir grup metaldir. Bu ağır metaller önemli çevresel kirleticilerdir ve atmosfer, su ve toprakta çok düşük konsantrasyonlarda bulunmaları tüm organizmalar için ciddi problemlere neden olabilir. Bu metaller içinde yer alan Cd'un toksisitesi oldukça yüksektir. Cd suda yüksek oranda çözünebilmesinden ve bu şekilde de sucul ekosistemlerde geniş dağılım göstermesinden dolayı son derece önemli bir kirleticisi olarak değerlendirilmektedir [21, 22].

Kadmiyum, beyaz renkli, 112.41 atom ağırlığında, +2 değerlikli bir ağır metaldir ve yer kabuğunun bileşenlerinden biridir. Doğada oldukça geniş bir yayılım göstermektedir. Kadmiyumun ağır metal kirleticisi olarak çevreye yayılışı doğal yollarla ve insan aktiviteleri sonucu olmak üzere iki şekilde olmaktadır;

1- Doğal yollarla:

- Volkanik hareketler: Volkanik hareket Cd'un en önemli doğal kaynağı olarak değerlendirilir. Sicilya'daki Etna Yanardağı'ndan günde 2.8×10^{-2} ton veya yılda yaklaşık 10 ton Cd'un atmosfere yayıldığı tahmin edilmektedir [23]
- Cd, fosfat kayalarının doğal bir bileşenidir. Kayaların aşınması dünyanın okyanus ve nehirlerine büyük miktarlarda Cd'un girişine neden olmaktadır [24]. Aynı zamanda bu aşınma ile atmosfere yılda 1000 ton Cd girişi olmaktadır [25, 26].

2- İnsan aktiviteleri sonucu

- Madencilik, cevher işleme, metal saflaştırma çalışmaları ve bu tesislerinin atıkları Cd alaşımlarının çevreye yayılmasına sebep olmaktadır [1, 25].
- Demirli ve demirsiz metal üretimi, petrol ve kömür gibi fosil kaynaklı yakıtların yanması ile yüksek miktarda Cd partiküller halinde atmosfere yayılmakta ve çok geniş alanlara taşınmaktadır [27].
- Bunların dışında boya üretimi, kadmiyum kaplama, kadmiyum temelli piller, suni gübreler, pestisitler, evsel atıklar ile her yıl yüksek miktarda kadmiyum yeraltı ve yer üstü su kaynaklarına geçiş yapmaktadır [27].

Bu şekilde doğaya giren Cd'un topraktan bitki köklerine taşınımından sorumlu iki mekanizma bulunmaktadır. Bunlar kütle akımı ve difüzyondur. Kütle akımından dolayı çözünebilir metal iyonları toprak solidlerinden kök yüzeyine hareket ederler. Su, rizosferden kökler tarafından absorbe edilir ve yapraklardan transpirasyonla

buharlaştırılan su ile yer değiştirerek bitki bünyesinde yukarı doğru taşınır. Rizosferden su alımı, topraktan kök yüzeyine doğru hidrolik bir gradiyent meydana getirir. Bazı iyonlar kökler tarafından kütle akışı yolu ile olandan daha hızlı oranda emilir. Böylece, kökün yanında boşalmış bir bölge meydana gelir. Bu durum sonucunda, toprak solüsyonundan ve absorbe edilen elementleri tutan toprak partiküllerinden, solüsyonla temas eden kök yüzeyine doğru konsantrasyon gradiyenti meydana gelir. Bu konsantrasyon gradiyenti iyonların kökleri çevreleyen boşalmış tabakaya doğru difüzyonunu yönlendirir ve bu şekilde metaller köke girer [28].

Doğal koşullarda bitkilerin kadmiyum alımında etkili olan birçok faktör vardır. Bunlar kısaca aşağıdaki gibi özetlenebilir:

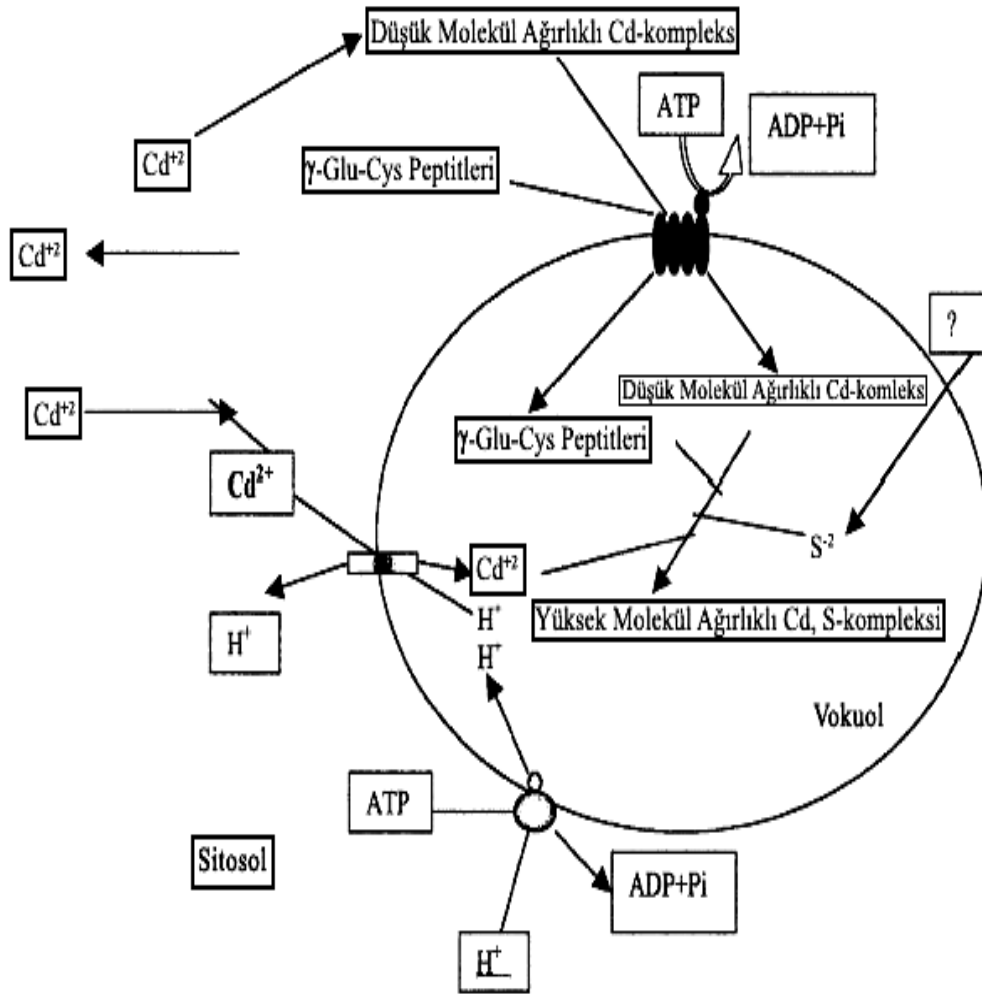
- **Toprak pH'sı:** pH toprakta mevcut değişim bölgelerini sınırlandırarak katyon değişim kapasitesini etkiler. Bu sayede toprakta H^+ iyonları toprak partiküllerine diğer katyonlardan daha sıkı bağlanır ve böylece artan H^+ varlığında toprak partikülüne bağlanmış olan metal iyonları serbest kalır [29]. Asit karakterli topraklarda ($pH < 6$), H^+ oldukça fazladır ve toprak misellerinde bulunan tüm diğer katyonlarla yer değiştirebilir. Böylece metalleri biyolojik olarak kullanılabilir hale getirir. Bazı topraklarda ($pH > 7$) katyonlar daha az kullanılabilir çünkü katyonlar mevcut bağlanma bölgeleri için H^+ ile daha az rekabete sahiptir. Birçok katyon serbest hidroksil gruplarına (OH^-) bağlanır ve çözünmeyen metal kompleksleri meydana getirir. Örneğin, $CdCO_3$ gibi kompleksler alım için uygun değildir [30, 31]. Optimum Cd hareketi pH 4.5-5.5'te meydana gelir [32]. Toprak pH'sını asit ekleyerek değiştirmek Cd'un biyolojik olarak kullanılabilirliğini artırmak için geçerli bir yöntemdir.
- **Rakip katyonlar:** Cu ve Zn gibi metaller toprak partiküllerine Cd elementinden daha yüksek oranda bağlanmaktadır. Bu durum Cd'un biyolojik olarak kullanılabilirliğini olumsuz yönde etkiler. Benzer şekilde toprağa Ca^{+2} eklenmesi pH'nın artması ve Cd ile kök absorpsiyon bölgeleri için rekabet etmesinden dolayı Cd'un biyolojik olarak kullanılabilirliğini azaltır [33].
- **Gübre:** Amonyumun Cd'un biyolojik olarak kullanılabilirliğini artırdığı belirlenmiş, bunun nedeninin toprakta NH_3 ve H^+ 'nin ayrılması ve böylece pH'yı düşürücü etki yapması olduğu düşünülmüştür [34]. Lorenz [34], potasyum uygulaması ile Cd'un biyolojik olarak kullanılabilirliğinin arasında pozitif bir ilişki olduğunu, fakat bu mekanizmanın henüz açıklığa kavuşmadığını bildirmiştir [34].

- **Mikoriza:** Mikorizaların Cd'un alınımını kolaylaştırdığı fakat bu durumun toprağın pH'sı ve Cd konsantrasyonu gibi toprak şartlarına bağlı olduğu bildirilmiştir [35].
- **Kelatlanma:** Ağır metal katyonları düşük pH ve düşük organik madde olan optimal toprak koşullarında bile toprağın katyon değişim kapasitesinden dolayı toprak partiküllerine oldukça önemli miktarlarda bağlanırlar. Bu sebeple kelatlayıcılar ağır metal alımında belirleyici bir rol oynar.
- **Katyon değişim kapasitesi:** Toprağın katyon değişim kapasitesi o toprağın metal iyonlarını tutma kapasitesinin bir ölçüsüdür. Katyon değişim kapasitesi toprakta artan kil içeriği ile artarken ortamda bulunan metal iyonlarının kullanılabilirliği ise azalır [36, 37]. Böylece, toprağın yüksek katyon değişim kapasitesi metallerin yüksek emilimine ve bağlanmasına neden olur. Asidik topraklarda metallerin bağlanma bölgelerinden ayrılması bağlanma bölgeleri için H^+ iyonu rekabetinden dolayı uyarılır. Katyon değişim kapasitesinin değişimi metallerin, bitkiler için kullanılabilirliğinin azalması veya artması ile sonuçlanabilir [38].
- **Organik Asitler:** Sitrik ve malik asit, bitki köklerinde ağır metallerle kompleks meydana getirdiği bilinen iki bileşiktir. Bitkiler, biyolojik olarak kullanılabilirliği olmayan metallerin alınımı amacı ile asitleri salgırlar. Meydana gelen asit-Cd kompleksi kökte tutulduğundan hücresel fonksiyonların zarar görmesi engellenir [39].

Kadmiyum, bakır, çinko, demir gibi zorunlu besinler tarafından kullanılan transmembran taşıyıcılar için rekabet eder [22]. Transmembran taşıyıcılar iyonlar için seçici değildir. Bu nedenle, zorunlu olmayan ağır metallerin bir konsantrasyon gradiyentinin zıt etkisine rağmen hücre içine girebildiği bilinmektedir. Örneğin, zorunlu ağır metaller olan Cu^{+2} - Zn^{+2} ve zorunlu olmayan Ni^{+2} - Cd^{+2} aynı transmembran taşıyıcıları için rekabet ederler.

Ağır metaller köke girdikten sonra ya köklerde depolanır ya da gövdeye taşınırlar. Metal iyonlar serbest metal iyonları olarak veya metal-kelat kompleksleri olarak tonoplastta aktif olarak taşınabilir (Şekil 1.3.). Su ve çözünmemiş iyonların (tuz ve metal) kaspari şeridini enerji kullanarak aktif taşınım ile geçtiği düşünülmektedir. Örneğin, Cd yulaf köklerinde hem serbest iyon hem de bir Cd/H^+ antiport yolu ile tonoplasttan karşıya taşınır [40]. Vakuol, metal iyon depolanması için önemli bir

organeldir. Vakuolde metaller hem organik asitler hem de fitokelatinler tarafından kelatlanrlar ve çözünemeyen çökeltiler oluşabilir. Çökelme ve kelatlanma, metallerin zarar verici etkilerinin azaltılması için sıklıkla meydana gelen olaylardır. Metallerin simplasta alınımına metal taşıyıcılar aracılık ederler ve metaller yaprak dokusuna apoplastik ve simplastik yol ile girerler. Bitkiler, toprak çözeltisindeki besinleri yaprağa ve gövdeye taşımak için suyun transpirasyonunu kullanırlar [18].



Şekil 1.3. Hücre içinde Cd bağlayan kompleksler ve ilgili taşınma mekanizmaları [41].

Yapılan çalışmalarda, fitokelatinlerin bitkiyi Cd stresinden kurtarmasının temel mekanizmasının, Cd'un bitkide oluşturulan fitokelatin-Cd kompleksini vakuollerde biriktirmesi ve bu sayede diğer kısımlarına taşınmasını engellenmesi olduğu ifade edilmiştir. Bu mekanizmada Cd stresine karşı ilk olarak glutatyon sentezlenir. Sitosolde

glutasyon Cd'u bağlayan fitokelatinleri üretmek için kullanılır ve düşük molekül ağırlıklı Cd bağlayan kompleksler içinde bir araya getirilir. Düşük molekül ağırlıklı kompleks vakuole ATP binding kaset tip taşıyıcı ile ATP harcanarak taşınır. Bu şekilde vakuol içine girdikten sonra taşıma işlemini Cd^{+2}/H^{+} antiporter üstlenir ve yüksek molekül ağırlıklı kompleks meydana getirmek için sülfür eklenir (Şekil 1.3). Bu modelde fitokelatinler Cd iyonları ile birleşerek öncelikle düşük molekül ağırlıklı kompleks oluşturur. Bu kompleksler aynı zamanda sitosolik bir taşıyıcı olarak fonksiyon görmektedir. Daha sonra bu komplekslere yeni sülfür ünitelerinin ve γ -glu-cys peptitlerinin eklenmesi ile yüksek molekül ağırlıklı kompleksler oluşturulur. Yüksek molekül ağırlıklı kompleks hücresel Cd'un en önemli depo formudur [38].

Yetiştirme ortamlarında Cd'a maruz kalan bitkiler, katyon değişiminin doğal bir sonucu olarak bu metali bünyelerine alırlar. Ancak, Cd bitkiler üzerinde oldukça toksik etki göstermektedir. Cd'un bitkiler üzerindeki toksik etkileri aşağıdaki gibi açıklanabilir:

- Klorofil pigmentinin oluşumunun ve fotosentezin inhibe olması,
- Yapraklarda, özellikle damarlar arasında kloroz, yaprak kenarlarında kıvrılma, uçlarda nekroz ve kuruma,
- Yaprak damarlarının ve petiollerin kahverengi ya da kırmızı renge dönüşmesi, yaşlı yaprakların solması,
- Mitozun inhibe olması, gövde büyümesinin engellenmesi,
- Köklerde kısılma ve kahverengileşme,
- Solunum ve transpirasyonun yavaşlaması ve su metabolizmasının bozulması,
- Fosforilasyon, karbonhidrat yapımı, elektron transfer reaksiyonları, ATPaz ve diğer enzim aktivitelerinin bozulması,
- Hücre çeperi esnekliğinin bozulması, geçirgenliğinin olumsuz etkilenmesi,
- Stomaların kapanması ve CO_2 fiksasyonunun inhibe olması [42].

Bitkiler doğal yetiştirme ortamlarındaki metal stresinin sebep olabileceği bu zararlardan kaçmak ya da zararın etkisini azaltabilmek için birtakım mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar şu şekilde özetlenebilir;

Tolerans mekanizması, yüksek miktarlarda metal iyonu biriktiren ve bu birikim sonucu hücre ve doku hasarı meydana gelmeyen metal biriktirici bitki türleri için birincil önem taşıyan bir mekanizmadır. Günümüze kadar tanımlanan önemli tolerans mekanizması; toksik metal iyonlarının ayrılmasını kolaylaştıran hücre içi bağlanma yapılarının üretimi, temel metabolik süreçlerin bozulmasından ve/veya hasar

görmesinden kaçınmak için metalin bir bölgede sınırlandırılma durumlarının değiştirilmesi, toksik metal birikiminden dolayı meydana gelebilecek hasarı azaltmak için hücrel metabolizmanın ve membran yapısının değiştirilmesidir [43, 44]. Bitkiler, metal içeren ortamlarda büyüüp yetişebilmek için evrimin temel mekanizmaları aracılığı ile çevrelerine adapte olmaya çalışırlar. Araştırmacılar, metal toleransının bir türün veya popülasyonun üyeleri arasında meydana gelen doğal seleksiyon tarafından yapılan evrimsel değişim olarak tanımlanan ve insan aktivitesi ile meydana getirilen mikroevrimin en iyi örneklerinden biri olduğunu bildirmişlerdir. Çevrede metal kirliliğinin hızlı artışı, metal toleransı olarak bilinen ve uzun yıllar hatta yüzyıllar süren ve organizmalarda hızlı evrimsel değişikliğe neden olan seçilime sebep olabilmektedir [45]. Örneğin, kurşun ve bakır madenleri toksik ağır metaller içeren atıklara neden olur. Bununla birlikte, *Agrotis tenuis* bitkisi gibi, maden atıkları ile kirlenmiş topraklarda büyüeyebilen bitkiler, bu bölgede 400 yıldan uzun süredir tolerans geliştirmişlerdir. Bitkiler artan metal konsantrasyonlarının üstesinden gelmek için hem yapısal (birçok fenotipte bulunan) hem de adaptif (sadece dayanıklı tiplerde bulunan) mekanizmalara sahiptirler [46]. Bu nedenle, dayanıklı bitkiler ya kirlenmiş toprakların zararlı şartlarına adapte olmuş yaygın türlerin varyeteleri ya da sadece metallerce zengin topraklarda büyüyen metallofit olarak adlandırılan bitkilerdir [47]. Metale dayanıklı türlerin metal içermeyen topraklarda metale dayanıklı olmayan türlere göre, daha az gelişim gösterdiği bildirilmektedir. Bu durum ağır metal toleransının fizyolojik bir zararının olduğunu gösterir [48]. Yapılan çalışmalarda, kirlenmemiş toprakta büyüyen *Silene vulgaris* bitkileri ile bakır madeni yakınlarında büyüyen bitkilerin karşılaştırılması sonucu metal içeren topraklardaki bitki türlerinin metal toleransı geliştirdikleri belirtilmiştir [49]. Ağır metallere tolerans genellikle gen kontrolü altındadır. Yine de bir türün tolerans geliştirmesi normal popülasyonlarda düşük frekanslı tolerans genlerinin varlığına bağlı gibi görünmektedir [50, 51].

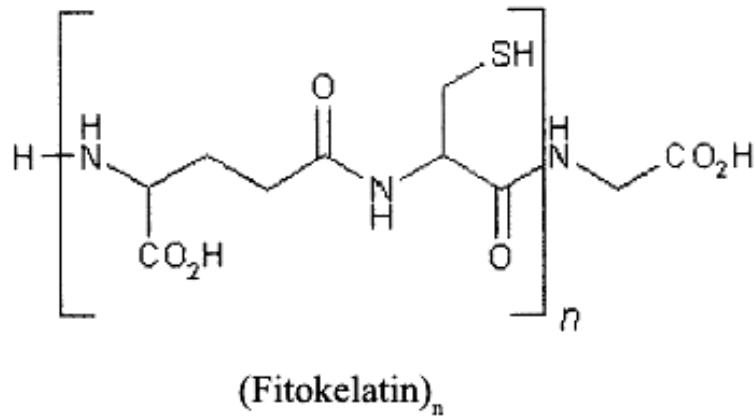
Bazı bitkiler, ağır metal stresi altında metalleri hücre duvarlarına bağlayarak hücrelerini koruyabilmektedir. Örneğin, mısır bitkisi Cd'u özellikle hücre duvarı ve orta lamele bağlayarak metal stresinden kaçınmaktadır [40]. Yine mısır bitkisinde nikel (Ni), cobalt (Co) ve Zn metallerinin kök segmentlerinden potasyum (K^+) iyonlarının dışa akışını artırdığı, buna karşın Cd'un fasulye bitkisinin yaprak disklerinde iyon sızmasını artırdığı bildirilmiştir [52]. Bakır (Cu)'ın *Agrostis capillans*, *Silene vulgaris*, *Mimulus guttafus* bitkilerinde potasyum kaybına neden olduğu ve böylece bu bitkilerin ağır metallere dayanmak için plazma membran yapısını değiştirdiği bildirilmiştir [53-55].

Bitkiler aşırı metale maruz kalma gibi elverişsiz şartlar altında hayatta kalabilmek için metabolik süreçlerini değiştirerek bu metallere tolerans kazanırlar [56]. Hiperakümülatör bitkilerin bu şekilde tolerans mekanizması geliştirerek metal iyonlarını detoksifiye eden sitosolütlerin aşırı üretimi yolu ile metallerin vereceği hasardan kaçınarak metallerce zengin ortamlarda büyüüp gelişebildikleri rapor edilmiştir [57]. Metallerin uzaklaştırılması için metabolik enerji düzeyinin ve metabolizmanın artması, hiperakümülatör bitkilerin hayatta kalması için mevcut mekanizmalardandır. Metallere duyarlı enzimlerin sentezinin artması bu kritik enzimlerin metaller tarafından inaktive olmasını engeller ve bu nedenle bu bitkiler biyosentetik süreçlerine ve normal büyümelerine devam edebilirler [42]. Bitkilerde metal toleransı hücre, doku ve organ düzeyinde olmasına rağmen bitkinin hayatta kalabilmesi için metalin sınırlandırılması doku ve organ düzeyinde meydana gelir. Aynı türlerin dayanıklı ve duyarlı bitkileri arasında metal iyonlarının dokulardaki dağılımı arasında önemli farklılıklar mevcuttur [47, 58, 59]. Organik maddeler, en azından kısmen, ağır metal iyonlarının köklerden gövdeye ksilem yolu ile taşınmasına aracılık ederler. Herhangi bir türün gövdesindeki düşük metal konsantrasyonunun bu bitkinin translokasyon oranını azaltmaktan ziyade metal taşınımını azalttığıının direkt göstergesi olduğu, hücre içi düzeyde ise merkezi vakuolun yüksek miktarlarda Cu, kurşun (Pb), Zn, Ni ve Cd gibi ağır metalleri içerdiği gösterilmiştir [60, 61]. Hücrede ağır metallerin vakuol içerisinde alıkonulması işlemi muhtemelen bitkilerin ağır metallere farklı dayanıklılık mekanizmalarını oluşturmada önemli rol oynar [60].

Bitkiler yaşamları boyunca pek çok olumlu ve olumsuz çevre koşulları ile etkileşim içerisinde. Yaşamlarını devam ettirebilmeleri için elverişsiz çevre koşullarına adapte olmak zorundadırlar. Bu sebeple pek çok bitki bu çevre koşullarının etkisini tolere edebilecek bazı stratejiler geliştirmiştir. Bitkiler büyüme ortamlarındaki kadmiyumun zararlı etkilerini tolere edebilmek için özel adaptasyon mekanizmalarına sahiptirler. Birçok bitki Cd toksisitesinden kaçmak için bu adaptasyon mekanizmalarından bir veya daha fazlasını kullanır [62].

Bazı bitkiler ağır metal stresi altında hücre duvarlarına metali bağlayarak hücrelerini koruyabilmektedir [40]. Bitkilerin Cd stresine gösterdikleri bir diğer tepki, bitki hücreleri için çok zararlı olan sitosoldeki serbest katyonları fitokelatinler, metallotioneinler (MT), amino asitler ve amino asit türevleri, sitrik asit, malik asit, peptitler ve polipeptitler gibi ligandlar ile kelatlayarak hücre için zararsız duruma getirmeleridir [39]. Bu şekilde kelatlanmış ve serbest haldeki Cd birçok türde kök

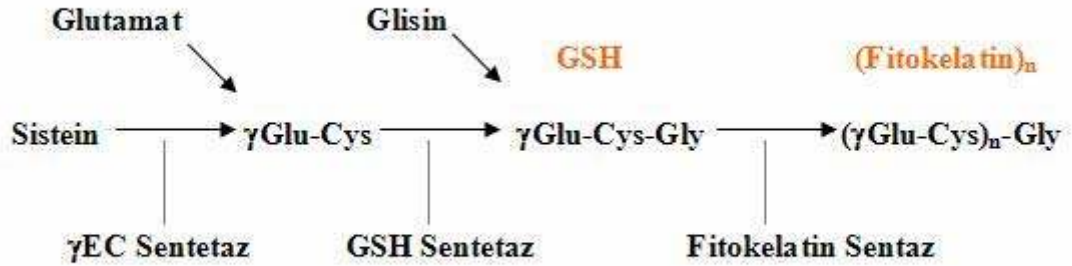
hücrelerinin vakuollerinde bitkinin diğer kısımlarına taşınmaması için alıkonulur. Kompartmentalizasyon olarak isimlendirilen bu mekanizma ile bitkide bulunan fitokelatin-Cd kompleksinin vakuolde tutulması sağlanmaktadır [38, 44]. Bitkilerde ağır metallerin kelatlanmasında esas rolü fitokelatinler ve metallothioneinler oynamaktadır. Fitokelatinler ileri bitkilerde, alglerde ve bazı funguslarda bulunan sınıf III metallothioneinlerdir (Şekil 1.4.) [63, 64]. Metaller arasında fitokelatinlerin üretiminin en güçlü tetikleyicisi Cd'dur. Bu Cd bağlayan peptitler metallothioneinlerden oldukça farklıdır [41].



Şekil 1.4. Fitokelatinlerin yapısı [41].

MT'ler bir gen ailesi tarafından kodlanan sisteince zengin polipeptitlerdir. Buna zıt olarak fitokelatinler enzimatik olarak sentezlenen sisteince zengin bir peptit ailesidir [56]. Fitokelatinler, ağır metallerle bağlanır ve bunlarla kararlı kompleksler meydana getirirler ve böylece metal iyonunun toksisitesini nötralize ederler [65]. Bitkilerde fitokelatin-metal komplekslerinin oluşumu hayvanlarda ve mikroorganizmalarda bulunan metallothioneinlerin fonksiyonu ile analog fonksiyon gösterir. Bununla birlikte, metallothioneinlere karşıt olarak fitokelatinler gen ürünü değildir [45]. Fitokelatinler, glutatyondan (γ Glu-Cys-Gly) bir Gly ünitesinin çıkması ile fitokelatin sentaz olarak isimlendirilen enzim tarafından Gly-(γ GluCys)_n (n=2–11) yapıli peptit meydana getirecek şekilde sentezlenirler (Şekil 1.5.) [66]. Fitokelatin sentaz bir γ GluCys fragmentini bir başka glutasyon molekülüne birleştirir ve (γ GluCys)₂Gly meydana getirir. Şekil 1.5.'te görüldüğü gibi bu işlem bir kaç kez tekrarlanır ve glutasyon molekülüne eklenen γ GluCys ünitelerinin sayısı artar [41]. Fitokelatinler yaygın bir

şekilde bitki türlerinde ve bazı mikroorganizmalarda tanımlanmıştır. Buna ilaveten, bazı bitki türlerinde $(\gamma\text{-GluCys})_n\text{-}\beta\text{-Ala}$, $(\gamma\text{-GluCys})_n\text{-Ser}$ ve $(\gamma\text{-GluCys})_n\text{-Glu}$ gibi birçok yapısal çeşitleri de tanımlanmıştır [67, 68].

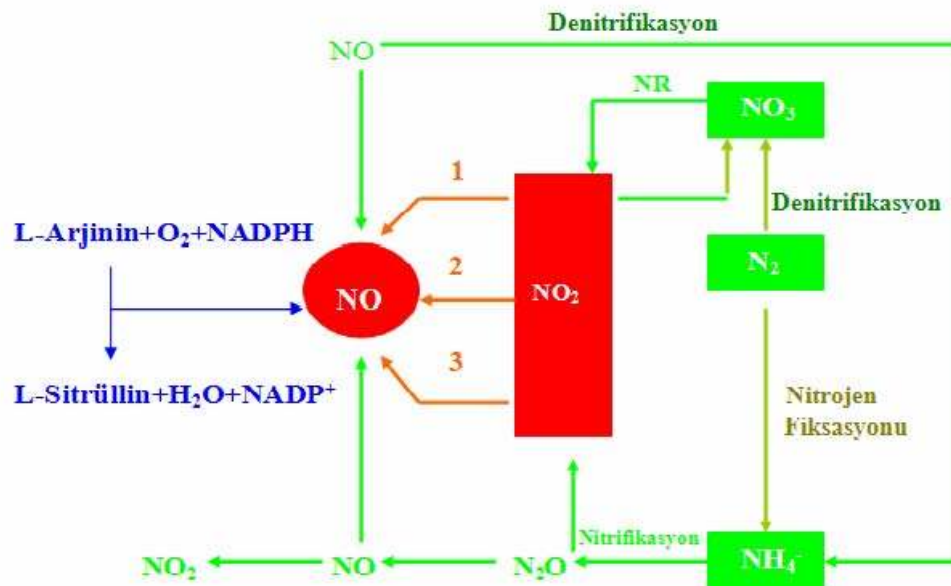


Şekil 1.5. Bitkilerde fitokelatin sentezi. **γEC Sentetaz**- γGlutamilsistein Sentetaz, **GSH Sentetaz**-Glutatyon Sentetaz [63].

Nitrik Oksit (NO) yüksüz lipofilik bir gazdır ve nitrik oksit radikal ($\text{NO}^\cdot$), nitrosonyum katyon (NO^+) ve nitroksil anyon (NO^-) gibi birbirine dönüşebilen üç farklı biçimde bulunabilir. Diğer serbest radikallerle karşılaştırıldığında nispeten uzun bir biyolojik yarı ömrü vardır. NO 'nun biyolojik önemi 1992'de Science dergisi tarafından serbest radikal olan bu molekülün yılın molekülü olarak isimlendirilmesi ile ve araştırmacılarının 1998 yılında Fizyoloji ve Tıp alanında Nobel ödülü alması ile fark edilmiştir [69]. Bu çalışmanın sonucunda, NO 'nun memeli hücreleri tarafından üretilen biyolojik bir aracı molekül olduğu keşfedilmiştir. Bitkilerde NO üzerinde yapılan araştırmalar son yıllarda oldukça artmış ve bu molekülün bitki büyüme ve gelişiminde rolünün olduğuna dair bulgular elde edilmiştir. [69, 70, 71]. Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda, NO 'nun patojen enfeksiyonuna karşı bitkide savunma sinyali olarak rol oynadığı bulunmuştur. NO konusunda yapılan daha sonraki çalışmalarda, bu molekülün özellikle patojen saldırısına karşı bitkinin savunması sırasında, reaktif oksijen türleri ile etkileşimde ve savunma genlerinin indüksiyonunda rollerinin olduğu da ortaya konmuştur [69, 72-76].

NO 'nun sentez mekanizması Şekil 1.6.'da verilmiştir. Hayvanlarda NO sadece NOS enzimi ile sentezlenirken, bakteri, fungus ve bitkilerde NO 'nun varlığı reaktif oksijen türleri gibi kendi metabolizması ile yakın ilişkilidir. Ayrıca NO yeryüzünde nitrifikasyon/denitrifikasyon döngüsünde N_2O oksidasyonunun bir yan ürünü olarak atmosfere verilir. Bitkiler, sadece atmosferik veya toprak NO 'su ile reaksiyona girmez, bunun yanında kendileri de önemli miktarlarda NO yayabilirler. Yapılan ilk

çalışmalarda, NO'nun bitkilerde enzimatik ve enzimatik olmayan yollarla sentezlendiği ve enzimatik olmayan NO oluşumunun azot oksitler ve bitki metabolitleri arasındaki kimyasal reaksiyonlar sonucu olabileceği bildirilmiştir [69, 70]. Enzimatik olmayan NO üretimi asidik pH değerlerinde NO₂⁻'nin kimyasal indirgenmesi ile veya ışık varlığında karotenoidler tarafından yapılır. Bitkilerde NO üretiminin en önemli kaynağı ise, nitritten (NO₂⁻) NAD(P)H bağımlı nitrat redüktaz (NR) veya nitrit redüktaz (NiR) aracılığı ile enzimatik olarak sentezlenmesidir. NR'ye ilaveten NO'nun bir başka kaynağının bitkilerde son yıllarda varlığı kanıtlanan memeli tipi Nitrik Oksit Sentaz (NOS) enzimi olabileceği düşünülmektedir. L-arjininden L-sitrülin oluşumuna ve/veya memeli NOS inhibitörlerine duyarlılık göstermesine dayanan NOS benzeri aktivite birçok bitkide belirlenmiştir. Şimdiye kadar bildirilen NOS aktiviteleri Ca⁺²'a bağımlıdır bu da memeli yapısal NOS enzimine benzemektedir (Şekil 1.6.) [74, 76].



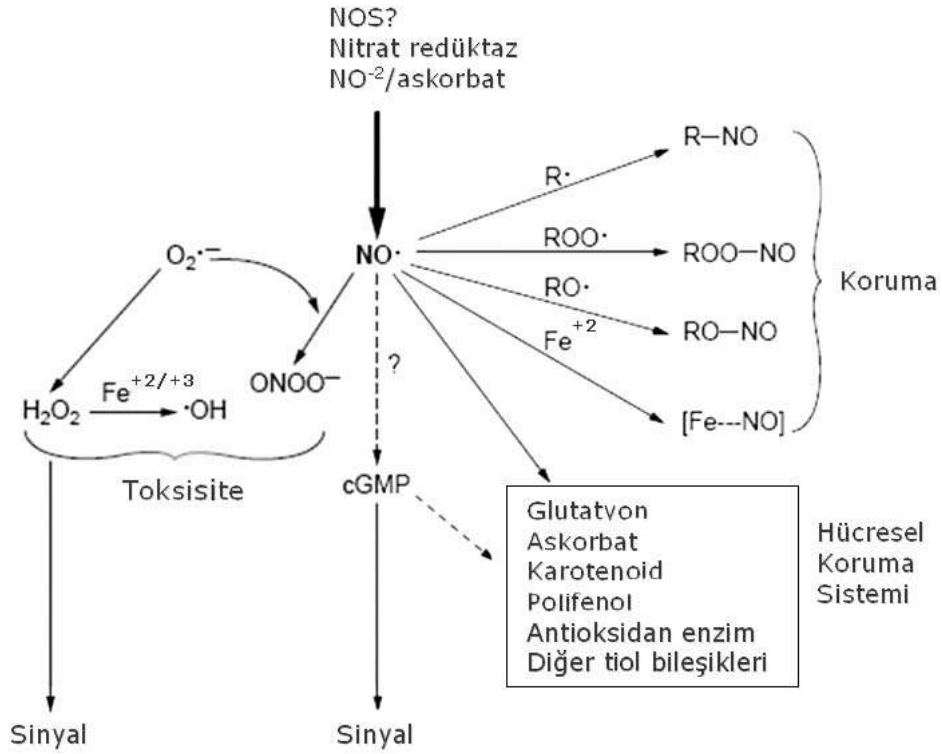
Şekil 1.6. Bitkilerde Nitrik Oksit sentezi [77]. 1. Karotenoidlerde, 2. Kimyasal olarak asidik pH'da, 3. Nitrat Redüktaz (NR) ve Nitrit Redüktaz (NiR) ile

Nitrik Oksit, hem veya demir kümesi içeren proteinlerde bulunan geçiş metalleri ile kompleks meydana getirebilir. Böylece demir-nitrozil kompleksleri oluşturur. Bu süreç hedef proteinlerin yapısını ve fonksiyonlarını değiştirir. NO^+ nükleofiller ile yer değiştirme reaksiyonlarını da içerir ve çoğunlukla organik moleküllerin -S, -N, -O ve -C merkezlerinde elektrofilik atak meydana getirir. Bu olaya nitrozasyon denir [74]. NO 'nun potansiyel reaksiyonlarındaki bu çeşitliliği iki öneme sahiptir. Birincisi, meydana gelen ürünün lokasyon, yapı ve reaktivitesine bağlı olarak ya NO yıkımının bir

son ürünü olarak ya da NO taşınım/depo havuzunun bir bileşeni olarak kabul edilebilir. İkincisi ise, özellikle diğer serbest radikallerle reaksiyonlarından dolayı NO radikallerin aracı olduğu oksidasyon zincirinin çoğalmasında molekül kırıcı olarak davranabilmesidir. Böylece hücre hasarını sınırlandırabilir [77]. NO, patojen enfeksiyonuna karşı bitkinin geliştirdiği tepki mekanizmasında salisilik asit yardımıyla, reaktif oksijen türleri ile etkileşimde bulunarak önemli bir rol oynamaktadır. Bu mekanizmada NO genellikle sinyal olaylarla ilgilidir ancak bazı durumlarda bitki gelişimi sürecince büyümeyi ve hücre farklılaşmasını içeren enzimlerin aktivitesini etkiler ve bu haliyle NO bazen bitki büyüme düzenleyicisi olarak da değerlendirilmektedir [74, 71]. NO ve etilen arasında bitki dokularının olgunlaşması ve senesensi sırasında etkileşimlerin olduğu da kanıtlanmıştır. Araştırmacılar, NO'nun birçok yönden reaktif oksijen türlerine benzediğini, bu benzerliklerin hem NO'nun hem de reaktif oksijen türlerinin hücresel şartlara bağlı olarak farklı aktivitelere sahip olmalarından kaynaklandığını bildirmişlerdir [73, 78]. Bilindiği gibi reaktif oksijen türleri düşük konsantrasyonlarda savunma tepkilerinin aktivasyonu için sinyal olarak görev yaparken, yüksek konsantrasyonlarda ise hücrelerde ciddi hasarlara neden olurlar. Bu durumda NO'nun çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda aracı olarak hareket etmede sinyal bir molekül ve aynı zamanda yüksek konsantrasyonlarda ise hücreler için toksik bir molekül olduğu düşünülmektedir (Şekil 1.7.) [78].

NO molekülünün toksik ya da koruyucu olmasında esas belirleyici faktörün, NO'nun reaktif oksijen türleri ile girdiği reaksiyonların yapısı olduğu belirtilmektedir [76-78]. Örneğin, hayvanlarda, yüksek NO donorü konsantrasyonlarında (0.5-1.0 mM sodyum nitroprusid) NO genellikle toksiktir. Bu şartlarda, düşük miktarlarda süperoksit anyonu ile birleştiğinde peroksinitrit meydana gelir ve bu radikal lipid, protein ve DNA molekülleri için zararlıdır. Ancak, toksisite reaktif oksijen türlerinin hasarının bir sonucu olarak meydana geldiğinde, NO zincir kırıcı olarak görev yapar ve böylece hasarı sınırlandırır. Bu durumlarda peroksitlerin NO ve peroksinitritten çok daha toksik olduğu ortaya konmuştur ve NO'nun koruyucu bir fonksiyona sahip olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, NO'nun lipid alkoksil (LO[•]) ve peroksil (LOO[•]) radikallerle reaksiyonu çok hızlı gerçekleşir ve bu durumda NO'nun radikaller tarafından meydana gelen lipid oksidasyonunun artışı durdurduğu düşünülmektedir [78]. Birçok çalışmada NO'nun bitkilerde oksidatif strese neden olan çeşitli abiyotik stresler (tuzluluk, ozmotik stres, kuraklık gibi) altında savunma tepkilerinde rollerinin olduğu ve bu streslerin olumsuz etkilerini azalttığı ileri sürülmektedir. Son yıllarda NO'nun antioksidan özelliği

ile ağır metal stresinin bitkilerde neden olduğu oksidatif stresin etkilerini azaltabileceği öne sürülmüştür. Bu çerçevede NO'nun hayvanlarda olduğu gibi bitkilerde de hücre antioksidan sisteminin bir parçası olduğu düşünülmektedir [74-78].



Şekil. 1.7. Bitkilerde Nitrik oksit'in kimyasal reaksiyonları.

R•: oksijensiz serbest radikal, **ROO•:** peroksi radikaller **OH•:** hidroksil radikal, **RO•:** Alkoksil radikaller **H₂O₂:** Hidrojen peroksit

Literatür verilerine göre topraklar, yeraltı ve yerüstü suları atık maddelerle giderek daha fazla kirlenmektedir. Özellikle ağır metal kirliliği uzun süreli sorunlara neden olmaktadır. Organizmalarda birikmek ve besin zinciri döngüsünde yer almakla kalmayan ağır metaller, ekosistemlerde yüksek konsantrasyonları ile zararlarını yıllarca sürdürebilmektedir.

Çalışmamızda, ekonomik önemi olan ayçiçeği bitkisinin ülkemizde tarımı yapılan 11 çeşidinde, farklı Cd konsantrasyonları denenerek dayanıklı ve duyarlı olan çeşitlerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Ayçiçeği bitkisinin kök, gövde ve yaprak dokularında Cd'ü biriktirme ve detoksifikasyon kapasiteleri araştırılmıştır. Ayrıca bu çalışmada, iki farklı ayçiçeği çeşidine farklı konsantrasyonlarda uygulanan Cd'un bitkilerde ağır metal uygulamasına bağlı olarak savunma ve korunma mekanizmaları arasında yer alan fitokelatin, bitkilerde stresin bir göstergesi olarak kabul edilen toplam

Çözünebilir protein seviyelerindeki değışiklikler ve bir sinyal molekül olduğu bilinen NO'nun bu işlevde yer alıp almadığı araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kadmiyum, doğada birçok kaya yapısında bulunan bir metaldir. Bununla birlikte özellikle volkanik aktiviteler, erozyon gibi doğal oluşumlar, ayrıca madencilik, fosil yakıtların kullanılması, nikel-kadmiyum bataryaların üretimindeki hızlı artış ve daha pek çok ürünün ana ve ara hammaddelerinin kadmiyum içermesi sonucunda gittikçe artan miktarlarda kadmiyum atmosfer, yeraltı ve yerüstü su kaynakları ile toprağa yayılmaktadır [23-27]. Bunun sonucu olarak, özellikle sanayileşmenin yoğun olduğu bölgelerde toprak ve sularda kadmiyum kirliliğinden söz edilmeye başlanmıştır [15, 79]. Kadmiyum suda çözünürlüğünden ve yüksek toksisitesinden dolayı son derece önemli bir kirletici olarak tanımlanmakla birlikte, doğal ortamlarda hiçbir zaman izole halde bulunmamaktadır. Toprak çözeltisinde 0.04–0.32 µM oranlarında Cd içeren topraklar az kirlenmiş, 0.32 den yaklaşık 1 mM'a kadar Cd içeren topraklar orta derecede kirlenmiş ve bunun üstündeki değerlerde Cd içeren topraklar ise yoğun kirlilik gösteren topraklar olarak sınıflandırılmıştır [80, 81].

Bitkilerin Cd'u alabilmesi topraktaki konsantrasyonuna ve biyolojik olarak kullanılabilirliğine bağlıdır. Biyolojik olarak kullanılabilirlik ise, organik maddelerin varlığı, pH, redoks potansiyeli, sıcaklık ve diğer elementlerin konsantrasyonları ile değişebilmektedir. Özellikle K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Ni gibi mikro besinlerle Cd'un aynı transmembran taşıyıcılar için rekabet ettiği ve bu şekilde bitkiye alındığı belirtilmektedir [82, 83, 84]. Kök epidermisi ve kök korteks apoplastının bütünü çözelti için geçirgendir. Bitki bünyesinde var olan metal iyonları farklı hareket yeteneklerine sahiptirler. Ancak genel olarak tüm metaller için, köklerdeki değerler toprak üstü dokularından daha yüksektir. Kadmiyumun bitki dokusuna girişi büyük oranda köklerden olmaktadır. Cd kortikal doku sayesinde kolayca köklere girer, köklere girer girmez apoplastik ve/veya simplastik yol ile ksileme ulaşır ve bitkinin toprak üstü dokularına taşınır. Burada organik asitler ve/veya fitokelatinler gibi birçok ligandlar tarafından komplekslenir [39, 81, 85]. Cd iyonlarının temel olarak köklerde tutulduğu ve sadece küçük miktarlarının gövdeye taşındığı ve bitkilerde Cd içeriğinin genel olarak, kök>gövde>yaprak>meyve>tohum sırası ile azaldığı bildirilmiştir [86, 87]. Moral vd. [88], domates bitkilerinde Cd'un kolayca toprak üstü kısımlarına taşındığını, fakat meyvelerde belirlenemediğini bildirmişlerdir. Hart vd. [89] adlı araştırmacıların buğday bitkileri [(*Triticum turgidum* L. var *durum*) cv Renville ve (*Triticum aestivum* L.) cv Grandin] ile yaptıkları bir çalışmada ise, buğday tohumlarına Cd taşınımının

floem yolu ile olduğu öne sürölmüştür [89]. Hinesly vd. [90], toprak pH'sının mısır bitkisinde Cd alımı ve taşınımını önemli derecede etkilediğini bildirirlerken, Street vd. [91], Cd'un mısır tarafından alınımının organik madde içeriğı yüksek olan asidik topraklarda düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Mısır ve karaçayır bitkileri üzerinde yapılan bir çalışmada, bitki bünyesindeki Cd konsantrasyonlarının bulundukları topraktaki çeşitli Cd bileşiklerine ve toprağın asiditesine bağılı olduğu bildirilmiştir [92]. Bununla birlikte Cd alınımını etkileyen bir diğerk faktörün, karaçayır bitkisinde Na'un bitkide Cd alınımını artırması örneğindeki gibi, Cd'un diğerk metallerle olan iyonik rekabetleri olduğu bildirilmiştir [93]. Başka bir çalışmada, toprağı Ca²⁺ eklenmesinin Cd ile kök absorpsiyon bölgeleri için rekabet etmesinden dolayı Cd'un biyolojik olarak kullanılabilirliğini azalttığı rapor edilmiştir [94]. Cd'un biyolojik sistemler üzerindeki toksik etkileri birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve açıkça ortaya konmuştur. Ancak, Cd toksisitesinin mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan çalışmalarda Cd'un bitkiler üzerindeki etkilerinin genel olarak morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve mikroflora etkileşimindeki sinerjistik etkisi olarak 4 grupta toplandığı belirtilmiştir [95-100]. Bitki morfolojisi üzerinde Cd toksisitesinin en temel ve kolayca gözlenebilen belirtileri klorozis, yaprak kıvrılması ve bodurlaşmadır. Bitkilerde demir veya fosfor eksikliğinin ya da indirgenmiş Mn taşınmasının klorosize yol açtığı bilinmektedir [95, 96]. Bitki köklerinde Cd'un etkisiyle Fe (III) redüktaz enzimi inhibe olarak Fe(II) eksikliğıne neden olur ve bu durum da fotosentezi ciddi şekilde etkilemektedir [97]. Kadmiyumun bitki morfolojisi üzerindeki bir diğerk olumsuz etkisi, bitkide proton pompası üzerinde meydana getirdiğı geri dönüşümsüz inhibisyonndan dolayı hücrelerin uzama oranını baskılayarak, kökte ve gövdede gelişme geriliğı yaratmasıdır [98]. Kadmiyum bitkide pek çok fizyolojik olay üzerinde etkilidir. Stoma açılmasının, transpirasyon ve fotosentezin besin çözeltisindeki Cd tarafından etkilendiğı bildirilmiştir. Kadmiyumun, mekanizması tam olarak açıklanmasa da stoma açılmasını dolaylı yolla inhibe ettiğı bilinmektedir. Bu olayın Cd'un bekçi hücrelerindeki absisik asit, K⁺ ve Ca²⁺'un hareketlerini güçlü bir şekilde engellemesinden dolayı olduğu tahmin edilmektedir [99]. Bitkilerde metal toksisitesinin su içeriğinde azalmaya neden olan plazma membran geçirgenliğini etkilediğı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda Cd'un, özellikle su dengesini etkilediğı rapor edilmiştir [100]. Cd bitki gövdesindeki nitrat redüktaz enziminin aktivitesini inhibe ederek bünyedeki nitratın absorpsiyonunu ve köklerden gövdeye taşınımını azaltmaktadır. Konu ile ilgili bir çalışma Cd stresine maruz bırakılan soya fasülyesi (*Glycine max*) bitkilerinde yapılmıştır. Soya fasülyesinin

kök nodüllerinde stres süresince nitrojen fiksasyonunun ve primer amonyak asimilasyonunun azaldığı bildirilmiştir [101]. Cd uygulamasının bitkilerde pek çok enzimin aktivitesi üzerinde olumsuz etki yarattığı ile ilgili yapılan bir çalışmada, buğday ve ayçiçeği köklerinde Cd uygulamasının plazma membran fraksiyonlarında lipit alkoksil (LO⁻) ve peroksil (LOO⁻) radikallerle aktivitesini düşürdüğü aynı zamanda da birçok bitki türünde CO₂ fiksasyonunu içeren enzimlerin aktivitesinde azalmaya neden olabildiği belirlenmiştir [102]. Bir başka çalışmada, 0.25, 0.5 ve 1.0 mM CdCl₂ uygulaması yapılmış bezelye bitkilerinde Cd'un alkol dehidrojenaz enziminin aktivitesini artırdığı rapor edilmiştir [103]. Araştırmacılar ayrıca, kontrol grubunda enzim aktivitesinin ilk 24 saatte ani artış gösterdiğini daha sonra düşmeye başladığını, benzer şekilde gelişimin uygulama gruplarında oluştuğunu ve bitkide hekzokinaz, glukoz-6 fosfat dehidrojenaz ile 6-fosfoglukonat dehidrojenaz enzimlerinin aktivitelerinin Cd konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, Cd iyonlarının birçok antioksidatif enzimin aktivitesini inhibe (ve bazen de stimüle) ettiği bildirilmiştir. Örneğin, *Helianthus annuus* yapraklarında Cd uygulamasının lipit peroksidasyonunu artırdığı, lipojenaz enzim aktivitesini artırırken süperoksit dismutaz, katalaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz ve dehidroaskorbat redüktaz enzimlerinin aktivitelerini azalttığı bildirilmiştir [104]. Shaw [105], Cd iyonlarının *Phaseolus aureus* bitkisinde lipit peroksidasyonuna neden olduğunu, katalaz enzim aktivitesinde azalmaya, guaiakol peroksidaz ve askorbat peroksidaz enzimlerinin aktivitesinde de artışa neden olduğunu rapor etmiştir. Yine 5 µM Cd uygulamasının *Phaseolus vulgaris* bitkisinin köklerinde ve yapraklarında guaiakol peroksidaz ve askorbat peroksidaz aktivitelerini artırdığı bildirilmiştir [106]. Cd toksisitesinin oksidatif strese neden olduğunu bildiren birçok çalışma mevcuttur. Cd bunu hem serbest radikal üretimini indükleyerek hem de enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların miktarını azaltarak yapmaktadır [19, 101, 104-108].

Kadmiyum stresine maruz kalan hücrelerin DNA'larının stres proteinlerinin sentezini düzenleyen spesifik mRNA transkriplerini ürettikleri bilinmektedir. Cd uygulamasının soya fasulyesinde stres proteinlerinin sentezini etkilediği, *Allium cepa*'nın kök uç hücrelerinde ise nükleolusa hasar verdiği, pirinçte RNA sentezini değiştirdiği ve ribonükleaz aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir [108].

Genel olarak, bir metalin bitki tarafından biriktirilmesi, hücre içindeki bağlanma bölgeleri ve alım kapasitesi ile yakından ilişkilidir. Taşınım aktivitelerinin varlığı ve

seçiciliği kadar kelatlayıcı moleküllerin konsantrasyonu ve affiniteleri de metal birikim oranlarını etkiler [109].

Bitkilerin, ağır metal toksisitesinden kaçınma stratejileri farklıdır. Cd stresine karşı kök yüzeyinde kullanılan ilk engel hücre duvarı ve musilaj, kalloz gibi hücre dışı karbohidratlardır. Bu yapılar vasıtasıyla Cd bu bölgede bloke edilir. [59, 80]. Çalı fasulyesinin kök ve yapraklarında ise Cd iyonları, çoğunlukla hücre çeperinin pektik bölgeleri ve histidin grupları tarafından bağlanmaktadır [110]. Bununla birlikte, bu mekanizmaların işleyişinin Cd konsantrasyonuna, bitki türüne ve uygulama zamanına bağlı olarak değişebildiği rapor edilmiştir Bitkilerde Cd stresinde en iyi savunma mekanizmasının, plazma membranının vasıtası ile Cd iyonlarının sitosole girişinin önlenmesi, yani bitki hücre çeperlerinden Cd iyonlarının çıkması olduğu ifade edilmiştir [81].

Verkleij ve Prast [59] adlı araştırmacılar, hücre çeperinin bağlama özellikleri ve metal toleransındaki rollerinin tartışmalı olduğunu bildirmişlerdir. Kök hücrelerinin duvarlarının toprak çözeltisindeki metallere direkt olarak maruz kaldığı ve metallerin hücre çeperi ile etkileşiminde, ağır metallerin çoğunun poligalakturonik asitlere bağlandığı bildirilmiştir. Ayrıca, metal iyonlarının ilgisinin metalin türüne göre değişim gösterdiği de ifade edilmiştir [60]. Ağır metal toksisitesinin hedeflediği ilk canlı yapının plazma membranı olduğu bildirilmiştir. Cd toksisitesinin, protein tiollerin çapraz bağlanmasına ve oksidasyonuna, H^+ -ATPaz gibi anahtar membran proteinlerin inhibisyonuna veya membran lipidlerinin akışkanlığının ve kompozisyonunun değişmesine neden olduğu rapor edilmiştir [111]. Membranların lipid kompozisyonu  zerine Cu ve Cd'un direkt etkisinin olduğu ve Cd uygulamasının ayçiçeği ve buğday köklerinde plazma membranının ATPaz aktivitesini azalttığı bildirilmiştir [112, 113].

Bitkilerde ve diğer organizmalarda ağır metal detoksifikasyonunda genel mekanizmalardan birinin metalin bir ligand ile kelatlanması ve ligand-metal kompleksinin vakuolde alıkonulması olduğu ve bu durumun Cd iyonlarının sitosolde serbestçe dolaşımını engellediği bildirilmiştir [60, 81]. Ayrıca, Cd ve Zn'yu da içeren ağır metallerin birikim bölgesinin vakuoller olduğu da rapor edilmiştir [60, 81]. Bitkilerde şimdiye kadar organik asitler, amino asitler, peptitler ve polipeptitler gibi birçok ağır metal bağlayan ligandların bulunduğu ve Cd iyonları için en önemli kelatlayıcıların fitokelatinler olduğu rapor edilmiştir [68, 79].

Fitokelatinler $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ yapısında küçük metal iyonlarını bağlama yeteneğindeki peptitlerdir [41]. Metal stresinde bitkilerin en önemli koruma

mekanizmasının, fitokelatin sentaz enziminin aktive olarak, glutasyon ünitelerinden (GSH: γ -glu-cys-gly) fitokelatinlerin sentezini başlatması olduğu bildirilmiştir [41-43]. Yapılan bir çalışmada, mısır köklerinde içsel glutasyon düzeyinin artmasının Cd uygulaması süresince fitokelatin düzeyini artırdığı rapor edilmiştir [114]. Cd stresine maruz kalan çeşitli bitki türlerinde hücre ve dokularda glutasyon miktarının azaldığı ifade edilmiştir. Mısır ve pirinç bitkilerinin köklerine Cd uygulaması yapıldığında glutasyon düzeyi hızla azalmış ve uygulamadan 7 gün sonra bile normal düzeyine ulaşmadığı bildirilmiştir [115, 116]. Konu ile ilgili yapılan araştırmalarda, aşırı miktardaki Cd'un bitkilerde metabolizma değişimine dayanan bir stres oluşturduğu, bunun sonucu olarak biyolojik bir zorlanma ile glutasyon düzeyinin azaldığı bildirilmiştir [115-117]. Bakteriyel glutasyon sentetaz geni aktarılmış hardal bitkisi ile yapılan bir çalışmada, 100 μ M Cd uygulamasının fitokelatin düzeyinde 1.7 kat artışa neden olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada 50 μ M ve 100 μ M Cd uygulamasının yabancı tip bitkilerin büyümesi üzerindeki inhibitör etkisinin glutasyon sentetaz geni aktarılmış olan transgenik bitkilerde azaldığı bildirilmiştir [117]. Literatür bilgilerine göre, bitki bünyesinde sentezlenen fitokelatinlerin Cd iyonları ile karşılaştığında Cd iyonunun, fitokelatinin peptit zincirinde bulunan sistein aminoasitlerinin tiol gruplarına bağlandığı ve böylece meydana gelen fitokelatin-Cd kompleksinin serbest Cd iyonlarından çok daha az toksik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [81]. Kneer ve Zenk [118] yaptıkları bir çalışmada, Cd'un birincil olarak fitokelatin peptidinde sisteinin tiol gruplarına bağlandığını ve fitokelatin-Cd kompleksinin birçok enzim için serbest Cd iyonlarından 1000 kat daha az toksik olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda hücre ve dokularda Cd tarafından indüklenen düşük ve yüksek molekül ağırlıklı kompleksler meydana geldiği ve Cd'un yüksek ve düşük molekül ağırlıklı bu kompleksler arasında dağılımının Cd konsantrasyonuna ve bitki türüne bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir [41]. Mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada, Cd'un yüksek molekül ağırlıklı kompleksteki miktarının düşük molekül ağırlıklı kompleksteki 1.55 katı olduğu bildirilmiştir [119]. *Schizosaccharomyces pombe* hücrelerine Cd uygulamasının başlarında, hem düşük hem de yüksek molekül ağırlıklı komplekslerin aynı miktarda Cd içerdiği, zaman ilerledikçe yüksek molekül ağırlıklı komplekslerin daha fazla Cd bağladığı ve oluşturulan fitokelatin-Cd komplekslerinin düşük ve yüksek molekül ağırlıkta olması bitki bünyesinde taşınması ve biriktirilmesi üzerine doğrudan etkili olduğu bildirilmiştir [120]. Yulaf köklerinde fitokelatin-Cd kompleksinin taşınımı ile ilgili yapılan bir çalışmada, köklerdeki tonoplast

veziküllerinde fitokelatinlerin ve Cd-fitokelatin komplekslerinin taşınımının Mg-ATP'ye bağımlı olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar ayrıca, fitokelatin taşınımının vakuolar tip ATPaz tarafından meydana getirilen elektrokimyasal potansiyel gradient tarafından harekete geçirilmediğini belirtmişler ve yulaf köklerinin vakuoldeki taşınım için Cd^{+2}/H^{+} antiportere sahip olduğunu rapor etmişlerdir [38]. Cd stresinde, fitokelatin sentezi bitki dokularına göre farklılık göstermekle birlikte fitokelatinlerin ilk olarak sentezlendiği bitki dokusunun kökler olduğu bildirilmiştir. Fitokelatinlerin temel olarak köklerde sentezlendiği birçok araştırmacı tarafından öne sürülmüş ve bu araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda, Cd uygulanan hindistan hardalı, mısır ve buğday bitkilerinde fitokelatin düzeylerinin köklerde gövdeden daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir [114, 115, 121, 122]. Cd uygulanan *Triticum aestivum* (buğday) bitkisinin iki çeşidinde (Thasos ve Tjalve) ve *Triticum turgidum* var. *durum* bitkisinin de Topdur ve Grandur varyeteleri ile yapılan denemelerde, hem çeşitler arası hem de buğday türlerinin arasında fitokelatin birikiminde farklılık görülse de köklerde, fitokelatin birikiminin yüksek olduğu ve fitokelatin-Cd komplekslerinin kök hücre vakuollerinde alıkonulduğu için kökten gövdeye Cd taşınımının düşük olduğu bildirilmiştir [122]. Konu ile ilgili bir diğer çalışmada, Woljcik ve Tukendorf [123] adlı araştırmacılar 50 μ M Cd içeren besin çözeltisinde büyütülen buğday fidelerinde gövdenin kökten daha fazla fitokelatin konsantrasyonuna sahip olmasına rağmen kökün daha fazla Cd biriktirdiğini ve 1 μ M Cd uygulamasında fitokelatinlerin özellikle kökte biriktiğini rapor etmişlerdir. Oliveira vd. [124] tarafından yapılan bir çalışmada, iki farklı soya fasulyesi çeşidine Cd stresi uygulanmış ve farklı büyüme dönemleri (8 ve 16 gün) sonunda Cd içerikleri belirlenmiştir. Bu çalışmaya göre soya fasulyesinin Bossier çeşidinde büyüme arttıkça hem kök hem de gövde kısımlarında Cd konsantrasyonu azalmış, Doko çeşidinde ise gövde dokusunda değişiklik olmamasına karşın kök sisteminde artmıştır. Araştırmacılar, her iki çeşit ve her iki büyüme döneminde de kök sisteminin gövde dokusundan daha yüksek Cd konsantrasyonuna sahip olduğunu bildirilmiştir. Yulaf bitkisi ile yapılan bir çalışmada, fitokelatin-Cd komplekslerinin kök bölgesinde öncelikle vakuole taşındığı ve bu sayede ksileme ve gövdeye Cd taşınımının engellendiği rapor edilmiştir. Bitki dokularındaki Cd birikimi ve dokulardaki dağılımı arasındaki bu farklılığın ksilem borularındaki anatomik ve fizyolojik değişikliklerden kaynaklandığı bildirilmiştir [125].

Bitki dokularına giren Cd iyonlarının bitkide etki ettiği mekanizmalardan birisi de protein sentezidir. Bitki hücrelerindeki çözünebilir protein içeriğinin, bu hücrelerin

fizyolojik durumlarının önemli bir göstergesi olduğu bilinmektedir. Bitki hücrelerinde bulunan toplam protein miktarları, büyüme ortamlarında maruz kaldıkları ağır metal stresi sonucunda azalma göstermektedir [125-132]. Stoeva ve Bineva [126], yulaf bitkilerine 40 mg/kg, 80 mg/kg ve 160 mg/kg As uygulamışlar ve kök dokularındaki protein içeriğinin kontrollere göre % 9, % 17 ve % 32 oranında azalma gösterdiğini, protein miktarında metal stresine bağlı olarak görülen azalmanın ortamdaki metalin konsantrasyonuna ve bitkinin strese maruz kalma süresine bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Sing vd. [127], *Bacopa monnieri* L. bitkisinde 10, 50, 100, 200 µM Cd uygulamasının 48., 96. ve 144. saatlerde artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak protein içeriğini azalttığını ve en düşük protein içeriğinin 200 µM Cd uygulamasında ve uygulamadan sonra 144. saatte olduğunu rapor etmişlerdir. Arpa tohumlarına ise 6 gün süre ile 30, 60 ve 120 mg/L Cd uygulanmış ve bu süre sonunda köklerde toplam çözünebilir protein içeriğinin artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna göre azalma gösterdiği bildirilmiştir [128]. *Lupinus albus* bitkileri ile yapılan bir çalışmada, çimlenmeden itibaren 0.01, 0.1, 1, 10 ve 100 µM Cd uygulanan ve bu çözeltilerde 17 gün yetiştirilen bitkilerin kök ve gövde dokularındaki protein içeriğinin artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak 15. ve 17. günlerde kontrollere göre belirgin bir azalma gösterdiği rapor edilmiştir [129]. Ağır metal içeren toprakta ve normal toprakta büyütülen *Triticum aestivum* L. cv. Vergina bitkileri ile yapılan bir çalışmada, ağır metal içeren toprakta yetişen bitkilerin protein içeriklerinin normal topraklarda yetişenlere göre daha az olduğu ifade edilmiştir [130]. Onac [131] adlı araştırmacının Pb-Zn-Cu maden işletme bölgesinden alınan (Cu, Zn, Pb ve Cd içeren) topraklarda yetiştirilen (% 50 kirli toprak ve % 100 kirli toprak) *Glycine max* (L.) Merrill, cvs. Agat ve Diamant bitkileri ile yaptığı bir çalışmada 26., 45., 60., 77., 94. ve 108. günlerde bitkilerin yapraklarındaki protein içeriklerinin, yetiştirme ortamındaki ağır metal konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak azalma gösterdiği rapor edilmiştir. Azevedo vd. [132], *Helianthus annuus* bitkisine 21. ve 45. gün süre ile 5, 50 ve 500 µM Cd uygulamasının hem yaprak hem de kallus dokularının protein içeriklerinde önemli bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Wu vd. [133], *Adenophora lobophylla* ve *Adenophora potaninii* bitkilerine 10, 15, 50, 100, 150, 200, 300 ve 400 µM konsantrasyonlarda Cd uygulamışlar ve uygulamadan 7 gün sonra her iki bitki türünde de 200 µM'a kadar olan Cd konsantrasyonlarında protein içeriğinde kontrole göre bir artışın olduğunu, 300 µM ve 400 µM konsantrasyonlarda ise kontrole göre belirgin bir

azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu araştırmacılar artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak bitki dokularındaki protein içeriklerinin artış göstermesinin, genel olarak bitkinin tolere edebileceği düşük metal konsantrasyonlarında olduğunu ancak metal konsantrasyonu bitkinin dayanabileceği sınırlar dışına çıktığında bitki dokularındaki protein içeriğinin tekrar azalma gösterdiğini rapor etmişlerdir [133].

Nitrik oksit serbest radikal bir gazdır ve bitkiler tarafından sentezi ilk olarak 1974 yılında soya fasulyesi bitkilerinde bildirilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise, mısır ve ayçiçeği gibi diğer bitkilerde de nitrat redüktaz enzimi aracılığıyla nitrik oksit sentezlendiği bildirilmiştir [69-71]. Hayvan dokularında in vivo nitrik oksit sentezini katalizleyen enzimin, nitrik oksit sentaz olmasına karşın bitkilerle yapılan çalışmalarda nitrik oksit sentaz enzimi henüz izole edilememiştir [134]. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda bitki dokularında hayvan dokularında bulunan nitrik oksit sentaz enzimi ile sekans benzerliği gösteren hiçbir gen veya cDNA bulunamamıştır. Nitrik oksitin bitkinin maruz kaldığı stresi azaltmasında iki farklı mekanizma olduğu düşünülmektedir. Bunlardan ilkinde nitrik oksitin antioksidan olarak görev yaptığı ve hücresel zararı sınırlandırdığı bildirilmiştir. İkinci mekanizma ise, nitrik oksitin gen ifadesinin değişiminde sinyal molekül olarak görev yapmasıdır. Bazı araştırmacılar NO'yu stres meydana getiren bir molekül olarak değerlendirirken, diğer araştırmacılar ise nitrik oksitin stres tipine, bitki dokusuna ve yaşına ve stres etmeninin konsantrasyonuna bağlı olarak koruyucu bir rolü olduğunu bildirmektedir [70-75].

Kopyra ve Gwozdz [135] adlı araştırmacılar, ağır metal ve tuz stresine maruz bırakılan *Lupinus luteus* bitkisine NO vericisi olan sodyum nitro prussid (SNP) uygulayarak NO'nun tohum çimlenmesi ve kök büyümesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Stres uygulanmamış bitkilere 0.1, 1, 10, 100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 μ M konsantrasyonlarda SNP uygulamasının 1000 μ M konsantrasyon hariç tohum çimlenmesini artırdığı, tohumlar 24 saat süre ile 1500 μ M Pb+100 μ M SNP ve 50 μ M Cd+100 μ M SNP içeren ortamda çimlenmeye bırakıldığında ağır metal+SNP uygulaması yapılan tohumların sadece ağır metal uygulaması yapılanlara göre daha fazla çimlendiği, 6 gün süre ile 0.2 mM NaCl+100 μ M SNP uygulaması yapılan tohumların da sadece tuz stres uygulaması yapılanlara göre oldukça yüksek bir çimlenme oranı gösterdiği bildirilmiştir. Ancak, SNP uygulamasının hem ağır metal hem de tuz stresinin tohum çimlenmesi üzerindeki olumsuz etkisini geri çevirmesine rağmen, NaCl uygulaması yapılan tohumlarda daha etkili olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca, Pb, Cd, NaCl, etilen ve paraquat ile birlikte 10 μ M SNP uygulamasının bu

maddelerin kök büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerini azalttığı bildirilmiştir. Pirinç bitkisi ile yapılan bir çalışmada, 8 gün süre ile 100 μM NaCl ön uygulaması yapılmış bitkilere 1, 10, 100 ve 1000 μM SNP uygulaması yapılmış ve 10 gün sonra alınan örneklerde 1-10 μM SNP konsantrasyonlarının tuz stresinin olumsuz etkisini azalttığını, fakat 100 ve 1000 μM konsantrasyonlarda da büyüme inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada 8 gün süre ile 1 μM SNP ön uygulaması yapılan bitkilere 5 saat süre ile 50 °C sıcaklık stresi uygulanmış, bu süre sonunda bitkiler 25 °C’de 2 gün daha büyütülmüş ve SNP uygulamasının sıcaklık stresinin olumsuz etkisini azalttığı bildirilmiştir [136]. Laspina vd. [137] adlı araştırmacıların yaptıkları çalışmada, ayçiçeği bitkilerine 17 gün süre ile 100 μM SNP ön uygulaması yapılmış ve bu süre sonunda 0.5 mM CdCl₂ uygulanan bitkiler 10 gün daha büyütülmüştür. Çalışma sonunda Cd uygulamasının bitki üzerinde meydana getirdiği toksik etkilerin NO tarafından etkisiz hale getirildiği bildirilmiştir. Tütün bitkisi ile yapılan bir çalışmada, hücre süspansiyon kültürlerine sıcaklık (5 dakika süre ile 45 °C) stresi ve ozmotik (250 mM sorbitol ve 250 mM NaCl) stres ve mekanik (300 rpm’de 15 dakika manyetik karıştırma) stres uygulamasına bağlı olarak NO düzeylerinde önemli miktarlarda artış olduğu bildirilmiştir [138]. Orozco-Candera ve Ryan [139] adlı araştırmacılar, 2 hafta süre ile yetiştirdikleri domates bitkilerini gövde tabanından keserek (yaralama) 1 saat süre ile farklı kombinasyonlarda NO vericisi [SNP ve S-nitroso-N-astil-penisilamin (SNAP)] ve NO süpürücüsü [2-(4-karboksifenil)-4,4,5,5-tetrametilimidazolin-1-oksi-3-oksit (cPTIO)] içeren çözeltilerde (1 mM SNAP, 1 mM SNP, 1 mM SNAP+ CPTIO ve 1 mM SNP+ cPTIO) bekletmişler ve uygulama süresinin sonunda NO’nun domates yaprak dokularında yaralanma ile indüklenen proteinaz birikimini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Leshem ve Haramaty [140], 21 gün yetiştirdikleri bezelye bitkilerini köklerinden kopararak 24 °C’de 1 ve 2 saat süre bekletmiş (su stresi) ve yaprakların solmasından sonra NO miktarının zamana bağlı olarak artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. *Phytophthora infestans* fungusu ile enfekte edilen 30 günlük patates bitkilerine reaktif oksijen türlerinin üretimine neden olan diquat herbisiti (4 mg/L) ve H₂O₂ (150 mM) uygulanmış ve bu bitkilerin yapraklarından alınan parçalar NO vericisi olan SNP (100 μM), NaNO₂ (Sodyum nitrit, 200 μM), askorbat (100 μM) ve NO süpürücüsü cPTIO maddeleri ile inkübasyona tabi tutulmuştur. Çalışma sonunda, NO’nun bitkiyi herbisit uygulamasının neden olduğu klorofil kaybından, fungus enfeksiyonunun neden olduğu hücre ölümü ve iyon sızmasından koruyucu role sahip olduğu bildirilmiştir [141]. Leshem vd. [142] adlı araştırmacılar yaptıkları bir

çalışmada, 3 hafta süre ile yetiştirilen bezelye bitkilerine hem direkt (60 dakika süre ile 5 µM dışsal NO uygulaması) hem de dolaylı olarak (yetiştirme ortamına 10^{-4} ve 10^{-3} M SNAP eklenmesi) NO uygulaması yapmış ve NO'nun fotosentez verimini, (muhtemelen de fotosistem II bölgesinde) olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, NO'nun biyofiziksel olarak fotosentetik membran yüzey gerilimini artırdığı ve lipoksijenaz enzim aktivitesinde de önemli derecede azalmalara neden olduğunu rapor etmişlerdir. *Kalanchoe daigremontiana* ve *Taxus brevifolia* bitkilerinin kallus ve yaprak dokularına 6 saat süre ile 10^{-6} , 10^{-4} ve 10^{-2} M SNP uygulaması yapılan bir çalışmada, her iki bitki türünde de NO'nun epidermal hücrelerin sitosolünde, stoma hücrelerinin kloroplastlarında ve yaprak parankima hücrelerinde bulunduğu ayrıca, NO'nun hücre ölümüne neden olan DNA hasarı ile ilişkili olduğu ve bu bitkilerde sinyal molekül olarak potansiyel bir role sahip olduğu bildirilmiştir [143].

Bitkilerin fiziksel, kimyasal veya biyolojik süreçler yolu ile büyüme ortamındaki (toprak, su ve hava) kirleticileri absorbe etmek, biriktirmek, detoksifiye etmek ve zararsız hale çevirmek için kullanılması süreci fitoremediasyon olarak tanımlanmaktadır [144]. Yaklaşık 300 yıl önce bitkilerin atık suları temizlemek için kullanılması önerilmiş ve 19. yüzyılın sonunda *Thlaspi caerulescens* ve *Viola calaminaria*'nın yapraklarında yüksek düzeyde metal biriktirdiği bildirilmiştir. *Astragalus* cinsine ait bitkilerin kuru gövde biyokütlesinin % 0.6 oranına kadar selenyum biriktirebildiği belirlenmiş, daha sonra gövde dokularında % 1 Ni biriktirebilen bitkiler ve yine gövdesinde yüksek miktarda Zn biriktiren *Thlaspi caerulescens* bitkisinin olduğu rapor edilmiştir [145, 146]. Hiperakümülatör terimi ilk kez Brooks vd. [147] tarafından kullanılmış ve toksik metaller ile kirlenmiş topraklarda hayatta kalabilen (dayanabilen) ve hatta büyüeyebilen bitkiler olarak tanımlanmıştır. Lasat vd. [148] adlı araştırmacılar, ise metal hiperakümülatörleri fitotoksisite belirtileri göstermeksizin ağır metalleri normalden 100 kat daha fazla konsantrasyona edebilen bitkiler olarak tanımlamışlardır. Baker vd. [149] ise, bir bitkinin akümülatör olarak değerlendirilmesi için kendi doğal ortamında kuru ağırlık olarak % 0.1'den daha fazla Co, Cu, Cr, Pb ve Ni ve % 1'den fazla Mn ve Zn biriktirmesi gerektiğini önermişlerdir. Günümüze kadar 45 bitki familyasından yaklaşık 400 kadar bitki türünün (300 kadar mantar, liken bryofit ve alg türünün) metal hiperakümülatörü olarak tanımlandığı bildirilmiştir [150]. Yapılan çalışmalara göre, çoğu hiperakümülatörün Ni biriktirdiği, yaklaşık 30 tanesinin Co, Cu ve/veya Zn biriktirdiği, çok az türün Mn ve Cd biriktirdiği ve Pb biriktiren doğal hiçbir türün olmadığı bildirilmiştir [151]. Küçük bir ağaç olan *Seberfia acuminata* kuru ağırlık

bazında % 25'e kadar Ni içeren özsuyunu dışarı yaydığı, Brassicaceae familyası üyesi olan *Thlaspi caerulescens*'in dokularında herhangi bir hasar belirtisi göstermeksizin % 4 oranına kadar Zn biriktirdiği ve metal birikiminin bitkilerde böcek ve herbivorlara karşı savunma mekanizması olduğu bildirilmiştir [152-154]. Yapılan çalışmalarda bilinen hiperakümülatör bitkilerin çoğunun Brassicaceae familyasına ait olduğu ve bu bitkilerin metal biriktirme özelliklerinin metallerce zengin bölgelerde büyüyüp gelişebilen ve kök ve gövde dokularında metal biriktirebilen yabancı tiplerden muhtemelen kalıtsal olarak geçtiğini bildirilmiştir. Yapılan çalışmalara göre ayçiçeği, *Ambrosia*, lahana, hardal, sardunya türlerinin Cu^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{6+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} gibi bazı metalleri önemli derecede tolere etme, biriktirme özelliği gösterdiği bildirilmiştir [61, 154, 155].

Yapılan çalışmalarda ayçiçeği bitkisinin su kültürü ortamlarından ağır metalleri uzaklaştırma ve biriktirme özellikleri incelenmiş ve Dushenkov vd. [155] adlı araştırmacılar ayçiçeği ve hardal bitkilerinin köklerinin sulardan kurşunu uzaklaştırmak için etkili bitkiler olduğunu bildirmişlerdir. Kumar vd. [156], ayçiçeği bitkilerinin su kültürü ortamında kuru ağırlıkları başına 5.6 mg kurşun biriktirebildiklerini ve bu miktarın sorgum (kanyaş), horoz ibiği, tütün ve mısır bitkilerinde olduğundan yaklaşık 10 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Çalışmada Kullanılan Bitkiler

Çalışmada kullanılacak Cd'a dayanıklı ve duyarlı ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisi çeşidi ve/veya çeşitlerinin belirlenmesi için ayçiçeği bitkisinin farklı çeşitlerine ait tohumlar Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Isera, C-70165, Alhaja, AS 6310, Çoban, Meriç, Tarsan 1018, Sanbro, Vanko, Sirena ve Özdemirbey çeşitlerine ait tohumlarla yapılan ön çalışmalar sonucunda Cd'a dayanıklı ve duyarlı çeşitler belirlenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamasına bağlı olarak Cd'a en dayanıklı olan *Helianthus annuus* cv. Meriç ile en duyarlı olan *Helianthus annuus* cv. Tarsan 1018 çeşitleri kullanılmıştır.

3.2. Çalışmada Kullanılan Kültür Çözeltisi

Bu çalışmada esas kültür çözeltisi olarak, Hoagland kültür çözeltisi kullanılmıştır.

Hoagland kültür çözeltisinin bileşimi Hoagland ve Arnon [157]'a göre hazırlanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Hoagland kültür çözeltisinin bileşimi.

Makro elementler	g/L
Ca(NO ₃) ₃ .4H ₂ O	0.821
KNO ₃	0.506
KH ₂ PO ₄	0.136
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.120
Mikro elementler	mg/L
C ₆ H ₅ FeO ₇ .5H ₂ O (Ferrik sitrat)	50.00
MnCl ₂ .2H ₂ O	1.47
H ₃ BO ₃	2.90

ZnCl ₂	0.12
CuCl	0.03

Çözelti hazırlandıktan sonra ½ oranında sulandırılarak pH'sı 0.05 M KOH ile 5.6–5.8'e ayarlanmıştır.

Bu çalışmada kullanılan Cd'a en dayanıklı *H. annuus* cv. Meriç ve en duyarlı *H. annuus* cv. Tarsan 1018 bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında konsantrasyona ve zamana bağlı olarak Cd birikimini ve Cd'un toplam fitokelatin ve protein miktarları ve nitrik oksit düzeyleri üzerine etkisini görebilmek amacıyla Hoagland kültür çözeltisine 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ tuzu eklenerek farklı konsantrasyonlarda Cd içeren kültür çözeltileri hazırlanmıştır. Çalışmada, Cd çözeltileri hazırlanırken yüksek çözünme özelliği nedeniyle CdSO₄ tuzu kullanılmıştır.

3.3. Deneysel Koşullar

Çimlenme ve büyüme devresini kapsayan tüm çalışmalar bitki büyüme odasında kontrollü koşullar altında yapılmıştır. Her iki devrede de bitki büyüme odasındaki sıcaklık gece ve gündüz 24±1 °C ve bağıl nem % 65±5'e ayarlanmış olup, deney süresince koşullar sabit kalmıştır.

Çimlenme devresinde kültür kapları karanlıkta bırakılmıştır. Büyüme devresinde bitkiler 15 saat ışık, 9 saat karanlık periyodunda bırakılmıştır. Bitki büyüme odasındaki aydınlatma tavandan olup, aydınlatma şiddeti bitki yaprak yüzeyinde 12.000 lüks'tür. Aydınlatma şiddetinin %90'ı floresans lamba, %10'u inkandescent lamba ile sağlanmıştır.

3.4. Bitkilerin Yetiştirilmesi

3.4.1. Tohum Çimlendirme Yöntemi

Çimlendirme işlemine başlamadan önce ayçiçeği tohumlarının dolgun görünümlü, sağlam ve benzer büyüklükte olanları seçilmiştir. Daha sonra tohumlar Hoagland kültür çözeltisiyle ıslatılarak 24 saat süreyle şişmeye bırakılmıştır. Şişme esnasında tohumları ıslatan Hoagland kültür çözeltisi güçlü bir akvaryum pompasına bağlanan havalandırma sistemi ile havalandırılmıştır. Hoagland kültür çözeltisi 24 saat sonra süzölmüş ve şişmiş tohumlar çimlendirme kaplarına alınmıştır. Çimlendirme kabı olarak 20×14×6 cm boyutlarında kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. Çimlendirme kaplarının içlerine çok ince bir tabaka pamuk konulduktan sonra bunun üzerine iki tabaka filtre kâğıdı yerleştirilmiştir. Kaplardaki pamuk ve filtre kâğıtları 30 mL

Hoagland kültür çözeltisi ile nemlendirildikten sonra, tohumlar iki kâğıt tabakası arasına dikkatlice yayılmıştır. Çimlendirme kapları kapakları kapatılıp, bitki büyütme odasına yerleştirilmiş ve tohumların çimlenmesi için kaplar üç gün karanlıkta bırakılmıştır. Çimlenme için radikulanın testadan 0.5 cm çıkmış olması esas kabul edilmiştir.

3.4.2. Bitki Büyütme Yöntemi

Bitkilerin büyütülmesinde 26x26x11 cm boyutlarında ve yaklaşık 5 L kültür çözeltisi alan plastik özel bitki büyütme kapları kullanılmıştır. Ayrıca her kap için bitkileri üzerinde taşıyacak 22x22 cm boyutlarında fiberglastan yapılmış, iki yanından askısı olan delikli kapak şeklinde bir tabla kullanılmıştır. Her tablanın üzerinde 30 adet 0.6 cm çapında ve köşesinde de havalandırma borusu için daha büyük çapta bir delik bulunmaktadır. Plastik kaplar, üzerlerine yerleştirilen tabla seviyesine kadar Hoagland kültür çözeltisi ile doldurulmuştur. Sonra, çimlenmiş ve kökleri yeterince uzamış üç günlük fideler pens yardımıyla tabladaki deliklere yerleştirilmiştir. Fidelerin dik durabilmelerini sağlamak için pamuk tamponlardan yararlanılmıştır. Her kültür kabı, havalandırma sisteminden gelen borular aracılığıyla havalandırılmış ve sistemdeki musluklar yardımıyla her kaba eşit miktarda hava kabarcığı girmesi sağlanmıştır. Kaplardaki Hoagland kültür çözeltisi haftada iki kez olmak üzere değiştirilmiştir. Ayrıca kaplardaki Hoagland kültür çözeltisinin azalan miktarı deneme süresince tamamlanmıştır. Bu yöntem kullanılarak Hoagland kültür çözeltisinde bitkiler çimlenmeden itibaren 15 gün büyütülmüştür.

3.4.3. Cd'a En Dayanıklı ve En Duyarlı Ayçiçeği Çeşidinin Belirlenmesi

Cd'a en dayanıklı ve en duyarlı ayçiçeği çeşitlerinin belirlenmesi için farklı ayçiçeği çeşitleri yukarıda açıklanan şekilde 15 gün büyütüldükten sonra 100 µM, 200 µM, 300 µM, 400 µM ve 500 µM CdSO₄ uygulaması yapılmış ve uygulama 10 gün süre ile devam ettirilmiştir. Yapılan bu ön çalışma sonucunda bitkilerde görülen sararma, büyümede azalma, köklerde koyu renk meydana gelmesi ve gövde kalınlığının azalması gibi morfolojik özellikler göz önünde bulundurularak Cd'a en dayanıklı çeşidin *Helianthus annuus* cv. Meriç ve Cd'a en duyarlı çeşidin ise *Helianthus annuus*

cv. Tarsan 1018 olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu ön çalışma sonucunda Cd'a en duyarlı *Helianthus annuus* cv. Tarsan 1018 çeşidinde en dayanıklı olan *Helianthus annuus* cv. Meriç çeşidine göre yapraklarda sararma, köklerde kahverengileşme ve kök uzunluğunda azalma, gövdenin turgorunu kaybetmesi ve büyümede azalma gibi toksisite belirtilerinin daha belirgin olduğu görülmüştür.

3.4.4. Çalışmada Kullanılan CdSO₄ Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan CdSO₄ konsantrasyonlarının belirlenmesi için 15 gün yetiştirilen *Helianthus annuus* cv. Meriç ve *Helianthus annuus* cv. Tarsan 1018 çeşitlerine ilk olarak 250 µM, 300 µM, 350 µM ve 400 µM CdSO₄ uygulaması yapılmıştır. Yapılan bu ön çalışma sonunda Tarsan 1018 çeşidinin 350 µM ve 400 µM CdSO₄ konsantrasyonlarına dayanamadığı gözlenmiştir. Bu nedenle yeni bir uygulamada 15 gün yetiştirilen Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerine ikinci olarak 100 µM, 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonları uygulanmıştır. Yapılan tüm bu ön çalışmalarda gözlemler sonucu bu tez çalışmasında 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonlarının kullanılmasına karar verilmiştir.

Cd'a en dayanıklı ve en duyarlı bitki çeşitlerinin ve uygulanacak CdSO₄ konsantrasyonlarının belirlenmesinden sonra Hoagland kültür çözeltilinde 15 gün büyütülen *Helianthus annuus* cv. Meriç ve *Helianthus annuus* cv. Tarsan 1018 bitkilerine 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ uygulaması yapılmıştır (Çizelge 3.2). Ağır metal uygulamasını takiben bitkiler aynı koşullarda 4 gün daha büyütülmüştür (ağır metal uygulaması süresince uygulama yapılan çözeltiler günlük değiştirilmiştir). Analizler için bütün deneyler her bitki büyütme kabında 30 bitki olmak üzere 3 tekrarlı olarak yapılmış ve Hoagland kültür çözeltilinde büyütülen bitkiler kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Cd uygulamasında kullanılan Cd bileşiği ve uygulama konsantrasyonlarındaki Cd²⁺ miktarları.

3CdSO ₄ *8H ₂ O	150	249
	200	332.5
	250	415
	300	498

3.5. Analizler

3.5.1 Örnek Alma İşlemleri

CdSO₄ uygulamasını takiben 2. ve 4. günde kontrol grubu ve CdSO₄ uygulaması yapılmış ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularından yeterli miktarda örnek alınmıştır. Alınan bitki örnekleri alüminyum folyoya sarılarak sıvı azot içinde (-196 °C) dondurulmuş ve analizler yapılncaya kadar -40 ± 0.5 °C’de derin dondurucuda saklanmıştır.

3.5.2. Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Cd Miktarının Saptanması

Kontrol ve CdSO₄ uygulanmış ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularındaki Cd miktarının belirlenmesi Vinit-Dunand vd. [158]’ne göre yapılmıştır.

Bitki dokuları 1 g tartılarak, üzerlerine 4 mL nitrik asit (HNO₃) ve 2 mL perklorik asit (HClO₄) eklenmiştir. Daha sonra bu doku ve asit karışımı 100 mL’lik cam balonlarda geri soğutucu sistem altında kuru madde kalmayacak şekilde tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Elde edilen çözelti saf su ile 10 mL’ye tamamlanmıştır. Bu çözeltilerdeki Cd miktarlarının tayini ICP (Inductively Coupled Plasma) (Varian Liberty Series 2) ile yapılmıştır.

3.5.3. Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Fitokelatin Miktarının Saptanması

Kontrol ve CdSO₄ uygulanmış ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularındaki fitokelatin miktarlarının belirlenmesi Inouhe vd. [159]’ne göre modifiye edilerek yapılmıştır. 0.5 g bitki dokusu 2 mL % 10 (w/v) 5-sülfosalisilik asit içerisinde homojenize edilmiş ve elde edilen homojenatlar 8.000 g’de 5 dakika 0°C’de santrifüj edilerek süpernatantlar hazırlanmıştır. Elde edilen süpernatantlar HPLC’de okunma işlemlerine kadar 0°C’de saklanmıştır. Daha sonra 20 µL örnek 50 mM potasyum fosfat tamponunda (pH=7.6) bulunan 75 µM DTNB [(5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoik asit))] ile türevlendirilerek HPLC pompasına (Cecil 1100, Cambridge,UK) bağlı olan reverse faz LC18 kolonda (250x4.6 mm, 5 µm) (Supelco), 410 nm dalga boyunda okunmuştur. Linear Gradient % 0.1 sıvı trifloroasetik asit (TFA) içerisinde asetonitril (% 40) olarak kullanılmış ve akış hızı 1 mL/dakika olarak ayarlanmıştır. Bu şekilde dokulardaki fitokelatin miktarı glutatyon (GSH) standardının pik alanlarına göre µmol/g taze ağırlık olarak hesaplanmıştır.

3.5.4. Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Toplam Çözünabilir Protein Miktarının Saptanması

Kontrol ve Cd uygulanmış ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularındaki toplam çözünabilir protein miktar tayini Bradford [160] yöntemine göre yapılmıştır. Bu yöntemde standart protein olarak BSA (Bovine Serum Albumin) ve kör olarak deiyonize su kullanılmıştır. Standart eğri hazırlanarak, toplam çözünabilir protein ölçümü aşağıdaki sıraya göre yapılmıştır.

İlk olarak yaprak, gövde ve kök dokuları 1'er gr tartılarak 4 mL sodyum-fosfat tamponunda (pH=7.2) Kinematik Polytron homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenisasyon işlemini takiben homojenatlar ependorf tüplerine alınmış ve 3000 rpm'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar ve Bradford boya çözeltisi mikrolakalara pipetlenerek mikrolaka okuyucu sistem (Molecular Devices Corp., Versamax®) ile 595 nm'de absorbans değerleri belirlenmiştir. Belirlenen absorbans değerlerinden standart ölçümler kullanılarak toplam çözünabilir protein miktarı belirlenmiştir.

3.5.5. Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Nitrik Oksit (NO) Düzeyinin Saptanması

Yaprak, gövde ve kök dokularında NO düzeyleri Mata ve Lamattina [161]'ya göre belirlenmiştir. 1 g bitki dokusu (yaprak, gövde ve kök) tartılarak 4 mL sodyum-fosfat (pH=7.2) tamponunda homojenize edilmiştir. Homojenatlar ependorf tüplerine alınarak ilk önce +4°C'de 13.000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiş, elde edilen süpernatantlar +4°C'de 30.000 g'de 10 dakika daha santrifüj edilmiştir (OLE DICH Instrument makers APS Microcentrifuge 157 MP). Santrifüj işleminden sonra elde edilen süpernatantların absorbans değerleri Cayman Chem. NO ölçüm kiti (Katalog no. 780001) kullanılarak Mikrolaka Okuyucu Sistem (Molecular Devices Corp., Versamax®) ile 550 nm'de belirlenmiştir. Nitrik oksit düzeyleri (μM) nitrik oksit standart eğrisi kullanılarak absorbans değerlerinden hesaplanmıştır.

3.6. İstatistik Analiz

Verilerin analizleri SPSS 13.0 (SPSS Institute, 2003) istatistik paket program ile yapılmıştır. Çalışmada farklı Cd konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök

dokularındaki Cd, fitokelatin ve toplam çözünebilir protein miktarları ile nitrik oksit düzeylerinin ortalamaları arasındaki analizde tekyönlü-ANOVA ($P \leq 0.05$) kullanılmış, ortalamaların girdiği gruplar Duncan testi ($P \leq 0.05$) ile belirlenmiştir. Konsantrasyonlar X (yaprak, gövde ve kök) interaksyonlarının birlikte Cd, fitokelatin ve toplam çözünebilir protein miktarları ile nitrik oksit düzeyleri ortalamaları üzerindeki etkilerinin analizinde Uni-ANOVA ($P \leq 0.05$) kullanılmış ortalamaların girdiği gruplar Duncan testine ($P \leq 0.05$) göre belirlenmiştir.

Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd, fitokelatin ve toplam çözünebilir protein miktarları ile NO düzeyleri arasındaki ilişkinin saptanmasında öncelikle “en iyi tahmin metodu” ($P \leq 0.05$) kullanılarak, ilişkinin anlamlı olup olmadığı belirlenmiştir. İlişki bulunan ortalamalarda R^2 değeri en yüksek olan regresyon eğrisi ilişkiyi en iyi tanımlayan eğri olarak kabul edilmiş ve grafikleri çizilerek, denklemleri oluşturulmuştur.

Çalışmada uygulanan Cd, fitokelatin ve toplam çözünebilir protein miktarları ile NO düzeyleri arasındaki ilişkilerin analizinde kovaryans ve regresyon analiz metodu ($P \leq 0.05$) kullanılmış korelasyon ve regresyon katsayıları ile anlamlılık seviyeleri belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının, iki farklı ayçiçeği çeşidinin (*Helianthus annuus* L. cv. Meriç ve *Helianthus annuus* L. cv. Tarsan 1018) farklı dokularında (yaprak, gövde ve kök) Cd birikimi, fitokelatin ve toplam çözünebilir protein miktarları ile nitrik oksit düzeyleri üzerine etkisi ile ilgili olarak yapılan bu çalışmanın bulguları dört başlık altında değerlendirilmiştir.

4.1. Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ Uygulanmış Ayçiçeği Bitkilerinin Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Cd Birikimi

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. Meriç ve Tarsan 1018) bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları bitki çeşidine, uygulama süresine, uygulama konsantrasyonlarına ve bitki dokularına göre farklılık göstermiştir.

4.1.1. Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ Uygulamasının 2. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Cd Miktarları

Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulanan ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında CdSO₄ uygulamasının 2. gününde belirlenen Cd miktarları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularındaki Cd miktarları (Ortalama µg/g T.A. ± S.H.).

CdSO ₄ Konsantrasyonu (µM)									
		150 µM		200 µM		250 µM		300 µM	
Cd ²⁺ Miktarı		(249 mg/5L)		(332.5 mg/5L)		(415 mg/5L)		(498 mg/5L)	
Çeşit	Doku								
Meriç	Yaprak	1.72±0.27 A**	a*	1.68±0.11 A	a	1.85±0.04 A	a	1.89±0.06 A	a
	Gövde	16.81±1.02 B	a	19.14±0.28 B	ab	20.03±0.08 B	b	20.84±1.03 B	b
	Kök	67.11±0.21 C	a	69.26±0.42 C	b	78.20±0.06 C	c	81.47±0.66 C	d
Tarsan 1018	Yaprak	1.16±0.01 A	a	2.54±0.17 A	b	2.93±0.01 A	b	2.54±0.25 A	b
	Gövde	18.48±0.19 B	a	19.16±0.28 B	a	25.76±0.97 B	c	22.35±5.16 B	b
	Kök	71.77±0.51 C	a	87.84±0.54 C	b	90.01±0.50 C	c	93.37±0.59 C	d

n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

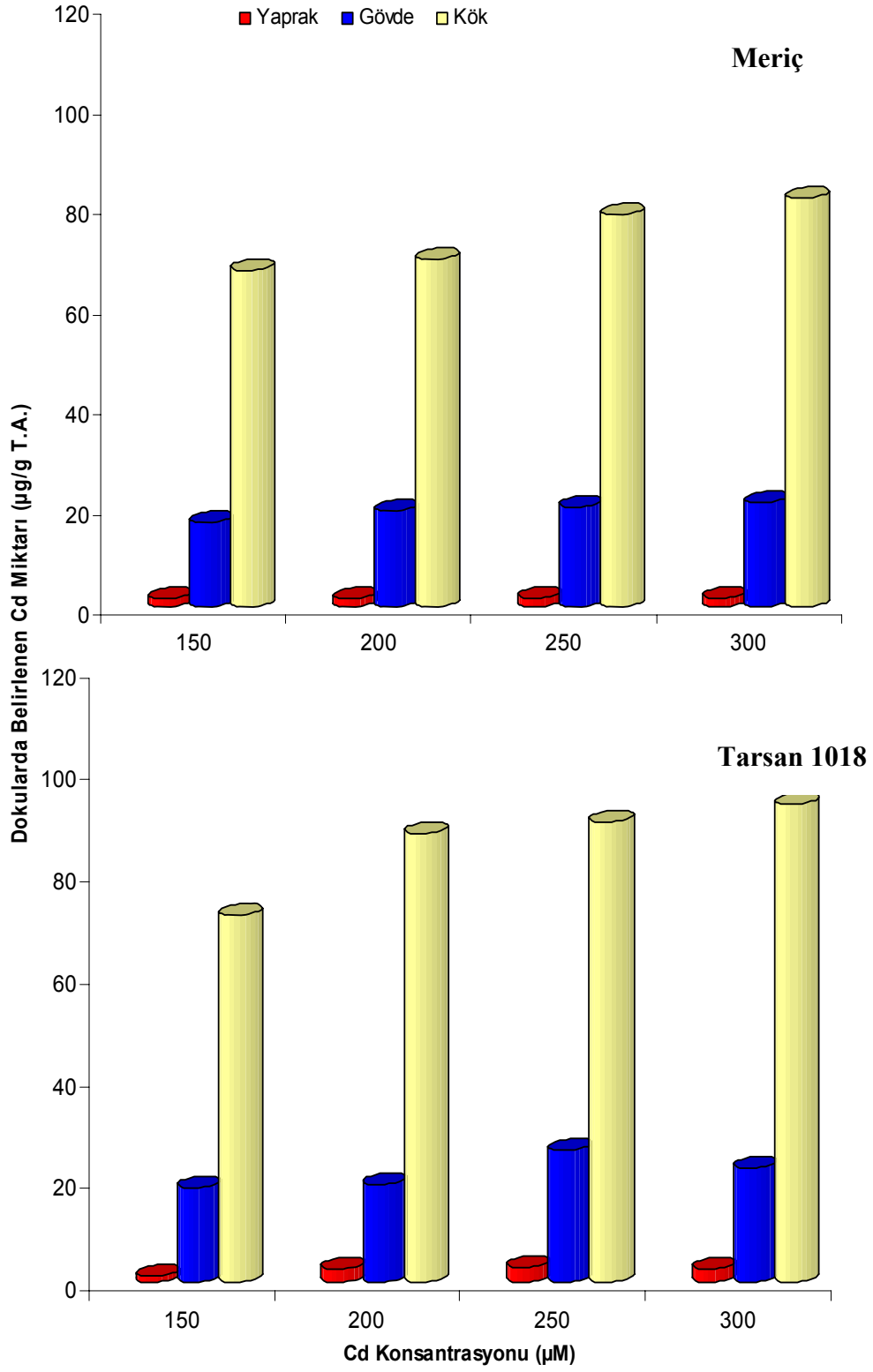
** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Dayanıklı Meriç çeşidinin yaprak dokularında farklı konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ uygulamasının 2. gününde Cd miktarlarının artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı (200 μ M Cd konsantrasyonu hariç) ve sırasıyla 1.72 $\pm$ 0.27 μ g/g T.A., 1.68 $\pm$ 0.11 μ g/g T.A., 1.85 $\pm$ 0.04 μ g/g T.A. ve 1.89 $\pm$ 0.06 μ g/g T.A. olduğu belirlenmiştir. Meriç çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük Cd miktarının 200 μ M CdSO₄ uygulamasında 1.68 $\pm$ 0.11 μ g/g T.A., en yüksek Cd miktarının ise, 300 μ M CdSO₄ uygulamasında 1.89 $\pm$ 0.06 μ g/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1.). Yapılan istatistik analize göre, Meriç çeşidinde farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamasının 2. gününde, yaprak dokularında belirlenen Cd miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Ek 1).

Meriç çeşidinin gövde dokularında, Cd birikiminin artan CdSO₄ konsantrasyonuna paralel olarak arttığı, 150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M Cd konsantrasyonlarında sırasıyla, 16.81 $\pm$ 1.02 μ g/g T.A., 19.14 $\pm$ 0.28 μ g/g T.A., 20.03 $\pm$ 0.08 μ g/g T.A. ve 20.84 $\pm$ 1.03 μ g/g T.A. olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.).

Meriç çeşidinde gövde dokularındaki en düşük Cd birikimi 16.81 $\pm$ 1.02 μ g/g T.A. ile 150 μ M Cd uygulamasında belirlenmiş ve bu uygulama konsantrasyonundaki Cd birikimi yapılan istatistik analizde diğer tüm uygulama konsantrasyonlarındaki Cd birikimleri arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Gövde dokularında CdSO₄ konsantrasyonu 150 μ M'dan 200 μ M'a yükseltildiğinde Cd birikiminin belirgin olarak arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak da önemli olduğu saptanırken ($P \leq 0.05$), 200 μ M CdSO₄ uygulama konsantrasyonundan sonra gövde dokularında Cd birikimlerindeki artışların yavaşladığı ve bu nedenle 200, 250 ve 300 μ M CdSO₄ uygulama konsantrasyonlarında gövde dokularında belirlenen Cd birikimleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 1).

Meriç çeşidinin kök dokularında artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak Cd birikiminin arttığı ve farklı konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) Cd miktarlarının sırasıyla; 67.11 $\pm$ 0.21 μ g/g T.A., 69.26 $\pm$ 0.42 μ g/g T.A., 78.20 $\pm$ 0.06 μ g/g T.A. ve 81.47 $\pm$ 0.66 μ g/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.). Yapılan istatistik analize göre, uygulanan tüm konsantrasyonlarda Meriç bitkisinin kök dokusunda belirlenen Cd birikimleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 1).



Şekil 4.1. Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen Cd miktarı.

Meriç çeşidinde farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde en fazla Cd birikimi kök dokusunda belirlenmiştir. Kök dokusunu sırasıyla gövde ve yaprak dokuları takip etmiştir. Yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen en yüksek Cd birikimi 300 µM CdSO₄ konsantrasyonunda sırasıyla 1.89±0.06 µg/g T.A., 20.84±1.03 µg/g T.A. ve 81.47±0.66 µg/g T.A. olarak saptanmıştır (Çizelge 4.1.). Yapılan istatistik analize göre, 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında biriktirilen Cd miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$) (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1, Ek 2).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak dokularında Cd birikiminin artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak (300 µM CdSO₄ konsantrasyonu hariç) artış gösterdiği ve Cd miktarlarının sırasıyla 1.16±0.01 µg/g T.A., 2.54±0.17 µg/g T.A., 2.93±0.01 µg/g T.A. ve 2.54±0.25 µg/g T.A. olduğu belirlenmiştir. Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük Cd miktarının 150 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 1.16±0.01 µg/g T.A. en yüksek Cd miktarının ise, 250 µM CdSO₄ konsantrasyonda 2.93±0.01 µg/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1., Şekil 4.1.). Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokusunda 150 µM CdSO₄ konsantrasyonu hariç konsantrasyonlar arasında meydana gelen Cd birikiminde istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı saptanmıştır (Ek 1).

Tarsan 1018 çeşidinde farklı CdSO₄ konsantrasyonlarında (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) gövde dokusunda Cd miktarları sırasıyla, 18.48±0.19 µg/g T.A., 19.16±0.28 µg/g T.A., 25.76±0.97 µg/g T.A. ve 22.35±5.16 µg/g T.A. olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.). Gövde dokusunda biriken Cd miktarlarının (300 µM Cd konsantrasyonu hariç) artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Yapılan istatistik analize göre, gövde dokularında Cd birikimlerindeki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Tarsan 1018 çeşidinin kök dokularında artan CdSO₄ konsantrasyonuna paralel olarak Cd birikiminin arttığı ve farklı konsantrasyonlarda Cd miktarlarının sırasıyla, 71.77±0.51 µg/g T.A., 87.84±0.54 µg/g T.A., 90.01±0.50 µg/g T.A., 93.37±0.59 µg/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1., Şekil 4.1.). Yapılan istatistik analize göre, kök dokusunda uygulanan tüm konsantrasyonlardaki Cd birikimi, birbirinden istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$, Ek 1).

Çizelge ve Şekil 4.1. incelendiğinde, Tarsan 1018 çeşidinde en yüksek Cd birikiminin kök dokularında olduğu ve bu dokuyu gövde ve yaprak dokularının izlediği görülmektedir. Kök dokusunda en yüksek Cd miktarı 300 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 93.37 ± 0.59 $\mu\text{g/g}$ T.A. olarak, gövde dokusunda 250 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 25.76 ± 0.97 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve yaprak dokusunda ise 250 μM konsantrasyonda 2.93 ± 0.01 $\mu\text{g/g}$ T.A. olarak saptanmıştır. Yapılan istatistik analize göre, 150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM CdSO_4 konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında biriktirilen Cd miktarları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$, Ek 2) (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1).

4.1.2. Farklı Konsantrasyonlarda (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) CdSO_4 Uygulamasının 4. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Cd Miktarları

Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulanan ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında CdSO_4 uygulamasının 4. gününde belirlenen Cd miktarları Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularındaki Cd miktarları (Ortalama $\mu\text{g/g}$ T.A. $\pm$ S.H.).

		CdSO_4 Konsantrasyonu (μM)							
		150 μM		200 μM		250 μM		300 μM	
Cd^{2+} Miktarı		(249 mg/5L)		(332.5 mg/5L)		(415 mg/5L)		(498 mg/5L)	
Çeşit	Doku								
Meriç	Yaprak	1.78 ± 0.03 A**	a*	2.41 ± 0.07 A	b	3.31 ± 0.06 A	d	2.72 ± 0.10 A	c
	Gövde	14.00 ± 0.55 B	a	14.25 ± 0.29 B	a	15.77 ± 0.07 B	b	18.37 ± 0.03 B	c
	Kök	85.34 ± 0.07 C	a	97.79 ± 0.24 C	b	102.23 ± 0.45 C	c	106.58 ± 0.32 C	d
Tarsan 1018	Yaprak	1.80 ± 0.01 A	a	2.82 ± 0.08 A	b	3.27 ± 0.57 A	b	3.56 ± 0.18 A	b
	Gövde	14.31 ± 0.12 B	a	15.07 ± 0.26 B	b	16.26 ± 0.03 B	c	17.42 ± 0.17 B	d
	Kök	97.70 ± 1.42 C	a	108.04 ± 1.40 C	b	112.31 ± 0.28 C	c	113.20 ± 1.51 C	c

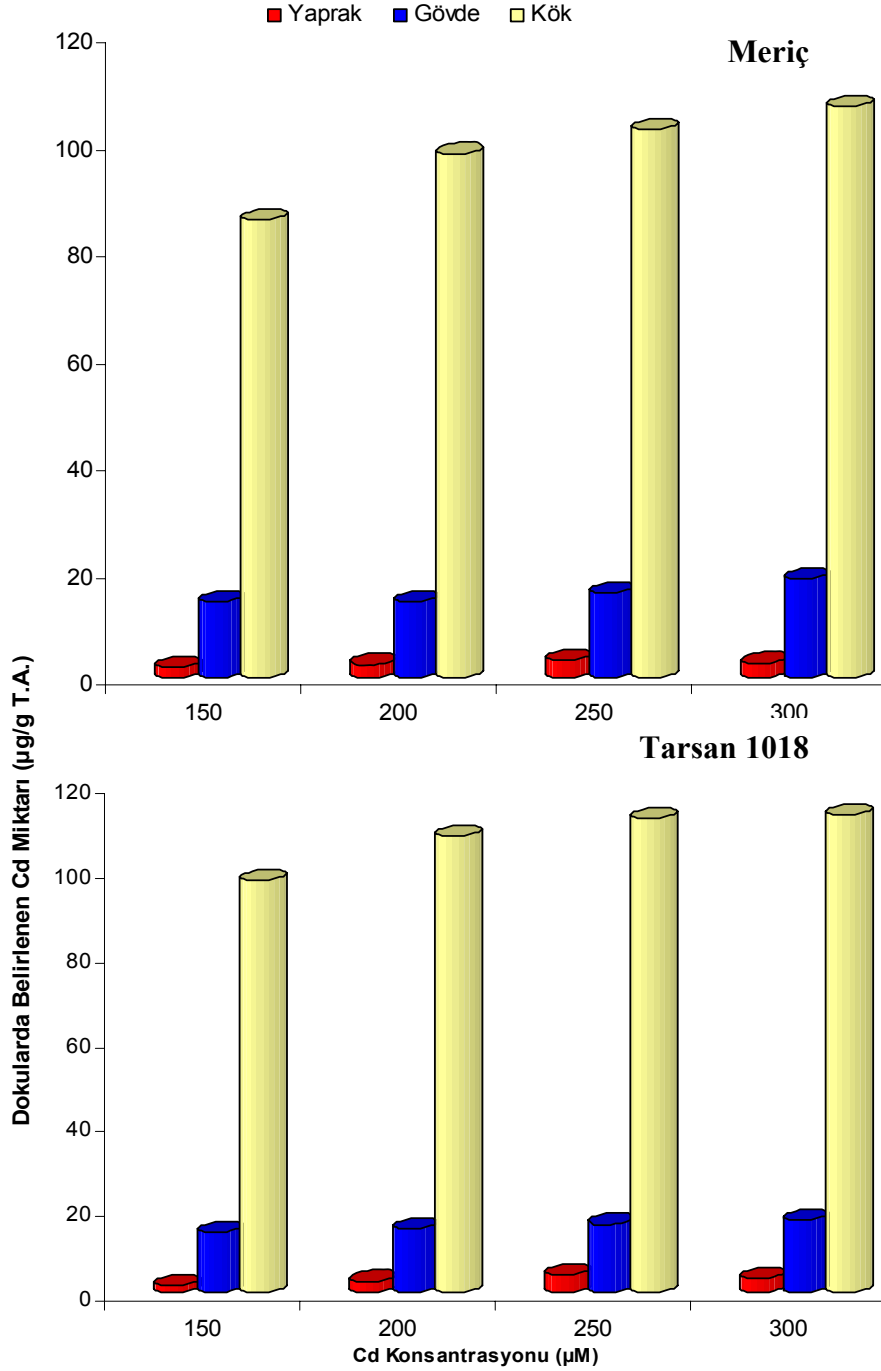
n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

Dayanıklı Meriç çeşidinde farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak dokularındaki Cd miktarlarının (300 μM CdSO_4 konsantrasyonu hariç) artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiği ve sırasıyla 1.78 ± 0.03 $\mu\text{g/g}$ T.A., 2.41 ± 0.07 $\mu\text{g/g}$ T.A., 3.31 ± 0.06 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve 2.72 ± 0.10 $\mu\text{g/g}$ T.A. olduğu

belirlenmiştir. Meriç çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük Cd miktarının 150 μM CdSO_4 konsantrasyonunda $1.78 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ T.A., en yüksek Cd miktarının ise, 250 μM CdSO_4 konsantrasyonunda $3.31 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$ T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.). Yaprak dokularında artan CdSO_4 konsantrasyonuna bağlı olarak biriken Cd miktarlarının tüm uygulama konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 3).



Şekil 4.2. Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen Cd miktarı.

Meriç çeşidinin gövde dokusunda farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasına bağlı olarak meydana gelen Cd birikimlerinin sırası ile $14.00 \pm 0.55 \mu\text{g/g}$ T.A., $14.25 \pm 0.29 \mu\text{g/g}$ T.A., $15.77 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$ T.A. ve $18.37 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ T.A. olduğu ve artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Meriç çeşidinin gövde dokularındaki en düşük Cd miktarının $150 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonunda $14.00 \pm 0.55 \mu\text{g/g}$ T.A., en yüksek Cd miktarının ise $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonunda $18.37 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.). Gövde dokusunda $150 \mu\text{M}$ ve $200 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonlarında meydana gelen Cd birikimleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz iken, $250 \mu\text{M}$ ve $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonundaki Cd birikiminin birbirinden ve diğer konsantrasyonlardan istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. ($P \leq 0.05$, Ek 3) Meriç çeşidinin kök dokusunda artan CdSO_4 konsantrasyonuna bağlı olarak Cd birikiminin arttığı ve farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasına bağlı olarak Cd birikiminin sırası ile $85.34 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$ T.A., $97.79 \pm 0.24 \mu\text{g/g}$ T.A., $102.23 \pm 0.45 \mu\text{g/g}$ T.A. ve $106.58 \pm 0.32 \mu\text{g/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir. Meriç çeşidinde kök dokularındaki en düşük Cd miktarı $150 \mu\text{M}$ konsantrasyonda $85.34 \pm 0.07 \mu\text{g/g}$ T.A. ve en yüksek Cd konsantrasyonu $300 \mu\text{M}$ konsantrasyonda $106.58 \pm 0.32 \mu\text{g/g}$ T.A. olarak saptanmıştır. Yapılan istatistik analize göre, Meriç çeşidinin kök dokusundaki Cd birikiminin tüm konsantrasyonlarda istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 3) (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.).

Meriç çeşidinde farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde dokular arasında en fazla Cd birikiminin kök dokusunda olduğu saptanmıştır. Kök dokusunu sırasıyla gövde ve yaprak dokuları takip etmiştir. Kök dokusunda en yüksek Cd miktarı $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonunda $106.58 \pm 0.32 \mu\text{g/g}$ T.A. olarak, gövde dokusunda $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonunda $18.37 \pm 0.03 \mu\text{g/g}$ T.A. ve yaprak dokusunda ise $250 \mu\text{M}$ konsantrasyonda $3.31 \pm 0.06 \mu\text{g/g}$ T.A. olarak saptanmıştır (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.). Yapılan istatistik analize göre, Meriç çeşidinde, $150 \mu\text{M}$, $200 \mu\text{M}$, $250 \mu\text{M}$ ve $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında biriktirilen Cd miktarlarının istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 4) (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak dokularındaki Cd miktarlarının artan CdSO_4 konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı ve sırası ile $1.80 \pm 0.01 \mu\text{g/g}$ T.A., $2.82 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$ T.A., $3.27 \pm 0.57 \mu\text{g/g}$ T.A. ve $3.56 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir. Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük Cd miktarı $150 \mu\text{M}$ konsantrasyonda $1.80 \pm 0.01 \mu\text{g/g}$ T.A.

olarak belirlenmiş ve bu değer istatistik olarak, diğer tüm uygulama konsantrasyonlarda yaprak dokularında belirlenen Cd birikimlerinden önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

En yüksek Cd miktarı ise 300 μM konsantrasyonda 3.56 ± 0.18 $\mu\text{g/g}$ T.A. olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.) Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokusunda artan CdSO_4 konsantrasyonuna bağlı olarak belirlenen Cd miktarlarının 150 μM CdSO_4 konsantrasyonu hariç istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 3).

Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusunda farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamasına bağlı olarak Cd birikiminin artan CdSO_4 konsantrasyonuna paralel bir artış gösterdiği ve sırası ile 14.31 ± 0.12 $\mu\text{g/g}$ T.A., 15.07 ± 0.26 $\mu\text{g/g}$ T.A., 16.26 ± 0.03 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve 17.42 ± 0.17 $\mu\text{g/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir. Gövde dokusunda en düşük Cd birikiminin 150 μM konsantrasyonda 14.31 ± 0.12 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve en yüksek Cd birikiminin 300 μM konsantrasyonda 17.42 ± 0.17 $\mu\text{g/g}$ T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2). Gövde dokusunda uygulanan tüm konsantrasyonlardaki Cd birikimlerinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 3).

Tarsan 1018 çeşidinin kök dokusunda farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasına bağlı olarak belirlenen Cd miktarlarının 4. günde artan CdSO_4 konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı ve sırası ile 97.70 ± 1.42 $\mu\text{g/g}$ T.A., 108.04 ± 1.40 $\mu\text{g/g}$ T.A., 112.31 ± 0.28 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve 113.20 ± 1.51 $\mu\text{g/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir. En düşük Cd miktarının 150 μM konsantrasyonda 97.70 ± 1.42 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve en yüksek Cd miktarının 300 μM konsantrasyonda 113.20 ± 1.51 $\mu\text{g/g}$ T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.). Yapılan istatistik analize göre, kök dokusunda 250 μM ile 300 μM Cd konsantrasyonları arasında belirlenen Cd birikiminin istatistiksel olarak önemli olmadığı, diğer tüm konsantrasyonlardaki Cd birikiminin istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 3).

Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde Tarsan 1018 çeşidinde en yüksek Cd birikiminin kök dokularında olduğu, kök dokusunu sırasıyla gövde ve yaprak dokularının takip ettiği belirlenmiştir. Kök, gövde ve yaprak dokusunda en yüksek Cd miktarları 300 μM CdSO_4 konsantrasyonunda sırasıyla 113.20 ± 1.51 $\mu\text{g/g}$ T.A., 17.42 ± 0.17 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve 3.56 ± 0.18 $\mu\text{g/g}$ T.A. olarak saptanmıştır (Çizelge 4.2., Şekil 4.2.). Yapılan istatistik analize göre, 150, 200, 250 ve 300 μM CdSO_4 konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında biriktirilen Cd miktarlarının istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 4).

4.1.3. Farklı CdSO₄ Konsantrasyonlarında Ayçiçeği Bitkisinde Çeşit Farklılığının ve Uygulama Zamanının Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları Üzerine Etkisi

Dayanıklı Meriç ve duyarlı Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamalarına bağlı olarak belirlenen Cd miktarlarının uygulanan Cd konsantrasyonuna, doku farklılıklarına ve uygulamanın süresine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.1., Çizelge 4.2., Çizelge 4.3 ve Şekil 4.1. ve 4.2.). Çizelge 4.3. incelendiğinde 150 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 2. ve 4. günlerde (yaprak dokusunda 2. gün hariç) Tarsan 1018 çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularındaki Cd birikimlerinin Meriç çeşidinden daha fazla olduğu, 150 µM CdSO₄ uygulamasında ve her iki uygulama zamanında (2. ve 4. günlerde) yaprak ve gövde dokularındaki Cd birikiminin istatistiksel olarak önemli olmadığı, fakat aynı konsantrasyonda hem 2. hem de 4. günlerde kök dokularında belirlenen Cd birikimlerinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 5 ve 6).

Aynı şekilde, 200 µM Cd uygulamasında dayanıklı Meriç çeşidinin yaprak ve kök dokularında hem 2 hem de 4 gün uygulama sürelerinde biriken Cd miktarlarının duyarlı Tarsan 1018 çeşidinden belirgin olarak daha az olduğu (Çizelge 4.1) ve bu azalmaların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Meriç çeşidinde 200 µM CdSO₄ konsantrasyonunda ve her iki uygulama zamanında gövde dokularında biriken Cd miktarlarının Tarsan 1018 çeşidine göre azalma göstermiş olmasına rağmen bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır. Benzer şekilde 250 µM konsantrasyonda Meriç çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularındaki Cd birikiminin hem 2. hem de 4. günlerde (4. gün yaprak dokusu hariç) Tarsan 1018 çeşidinden az olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistik analize göre, (4. gün yaprak dokusu hariç) 250 µM Cd konsantrasyonunda Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde yaprak, gövde ve kök dokularındaki Cd birikiminin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. ($P \leq 0.05$, Ek 5 ve 6) En yüksek Cd konsantrasyonu olan 300 µM'da ve her iki uygulama zamanında (2. ve 4. gün) Meriç çeşidinde yaprak, gövde ve kök dokularındaki Cd birikiminin Tarsan 1018 çeşidine göre daha düşük olduğu (4. gün gövde dokusu hariç) saptanmıştır (Çizelge 4.1). Yapılan istatistik analize göre, 2 ve 4 gün süre ile 300 µM CdSO₄ uygulamasında Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarının (2. günde yaprak ve gövde dokuları hariç) birbirinden istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 5 ve 6) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasına bağlı olarak Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında Cd uygulamasının 2. ve 4. gününde belirlenen Cd miktarları (Ortalama µg T.A. ± S.H.).

Konsantrasyon (µM)	Uygulama Zamanı	Yaprak		Gövde		Kök	
		Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018
150	2. Gün	1.72±0.27 A**	a* 1.16±0.01 A	16.81±1.02 A	a 18.48±0.19 A	67.11±0.21 A	a 71.77±0.51 A
	4. Gün	1.78±0.03 A	a 1.80±0.01 B	14.00±0.55 B	a 14.31±0.12 B	85.34±0.07 A	a 97.70±1.42 B
200	2. Gün	1.68±0.11 A	a 2.54±0.17 A	19.14±0.28 A	a 19.16±0.27 A	69.26±0.42 A	a 87.84±0.54 A
	4. Gün	2.41±0.07 B	a 2.82±0.08 A	14.25±0.29 B	a 15.07±0.26 B	97.79±0.24 A	a 108.04±1.40 A
250	2. Gün	1.85±0.04 A	a 2.93±0.01 A	20.03±0.08 A	a 25.76±0.97 A	78.20±0.06 A	a 90.01±0.50 A
	4. Gün	3.31±0.06 B	a 3.27±0.57 A	15.77±0.07 B	b 16.26±0.03 B	102.23±0.45 A	a 112.31±0.28 A
300	2. Gün	1.89±0.06 A	a 2.54±0.25 A	20.84±1.03 A	a 22.35±5.16 A	81.47±0.66 A	a 93.37±0.59 A
	4. Gün	2.72±0.10 B	a 3.56±0.18 B	18.37±0.03 B	b 17.42±0.17 B	106.58±0.32 B	a 113.20±1.51 B

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (T-testi; $P \leq 0.05$).

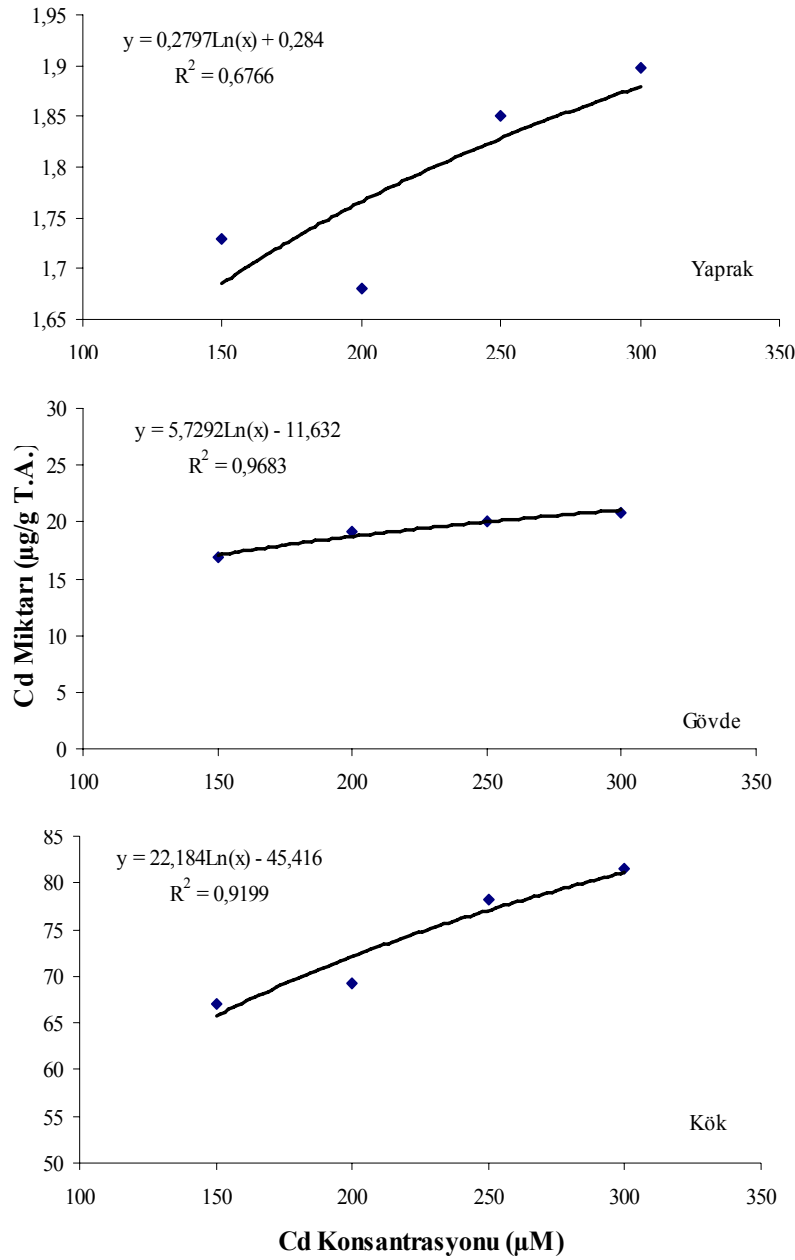
** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (T-testi; $P \leq 0.05$).

Dayanıklı Meriç çeşidinde 150 µM CdSO₄ konsantrasyonunda uygulama süresi yaprak dokularındaki Cd birikimi üzerinde etkili olmazken, gövde dokusunda 2 günlük uygulama süresi sonundaki Cd birikiminin (16.81±1.02 µg/g T.A.), 4 günlük uygulamadan sonra belirlenen Cd birikiminden (14.00±0.55 µg/g T.A.) belirgin olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1). Meriç çeşidinin kök dokularında ise, Cd birikimlerinde zamana bağlı olarak bir artışın olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Yine dayanıklı Meriç çeşidinin yaprak ve kök dokularında 200 µM, 250 µM ve 300 µM uygulama konsantrasyonlarındaki Cd birikiminin uygulama süresine paralel olarak arttığı, gövde dokularında uygulamadan 4 gün sonra alınan örneklerdeki Cd miktarının, 2 gün sonra alınan örneklerden daha az olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistik analize göre, Meriç çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150, 200, 250 ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında (150 µM yaprak dokusu hariç) uygulama zamanının Cd birikimine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 7 ve 8).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde, farklı konsantrasyonlarda (150, 200, 250 ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasında yaprak ve kök dokularında belirlenen Cd miktarlarının 4 günlük uygulamada 2 günlük uygulamaya göre daha yüksek olduğu belirlenirken, gövde dokusunda ise Cd birikimlerinin 2 günlük uygulama sonunda daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Yapılan istatistik analize göre, Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokusunda 200 ve 250 µM Cd konsantrasyonları hariç diğer tüm doku ve konsantrasyonlarda uygulama zamanının Cd birikimine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 7 ve 8).

4.1.4 Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO₄ Uygulamasının 2. Gününde Cd Konsantrasyonları ile Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları Arasındaki İlişki

Dayanıklı Meriç çeşidinde 2 gün süreyle yapılan CdSO₄ uygulamasında dokularda biriken Cd miktarları ile CdSO₄ uygulama konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi tanımlayan regresyon eğrisi ve bu eğriye ait denklem Şekil 4.3.'te verilmiştir. Meriç çeşidinde yaprak dokularında belirlenen Cd miktarları ile CdSO₄ uygulama konsantrasyonları arasında bir ilişki bulunmamıştır ($R^2=0.67$).

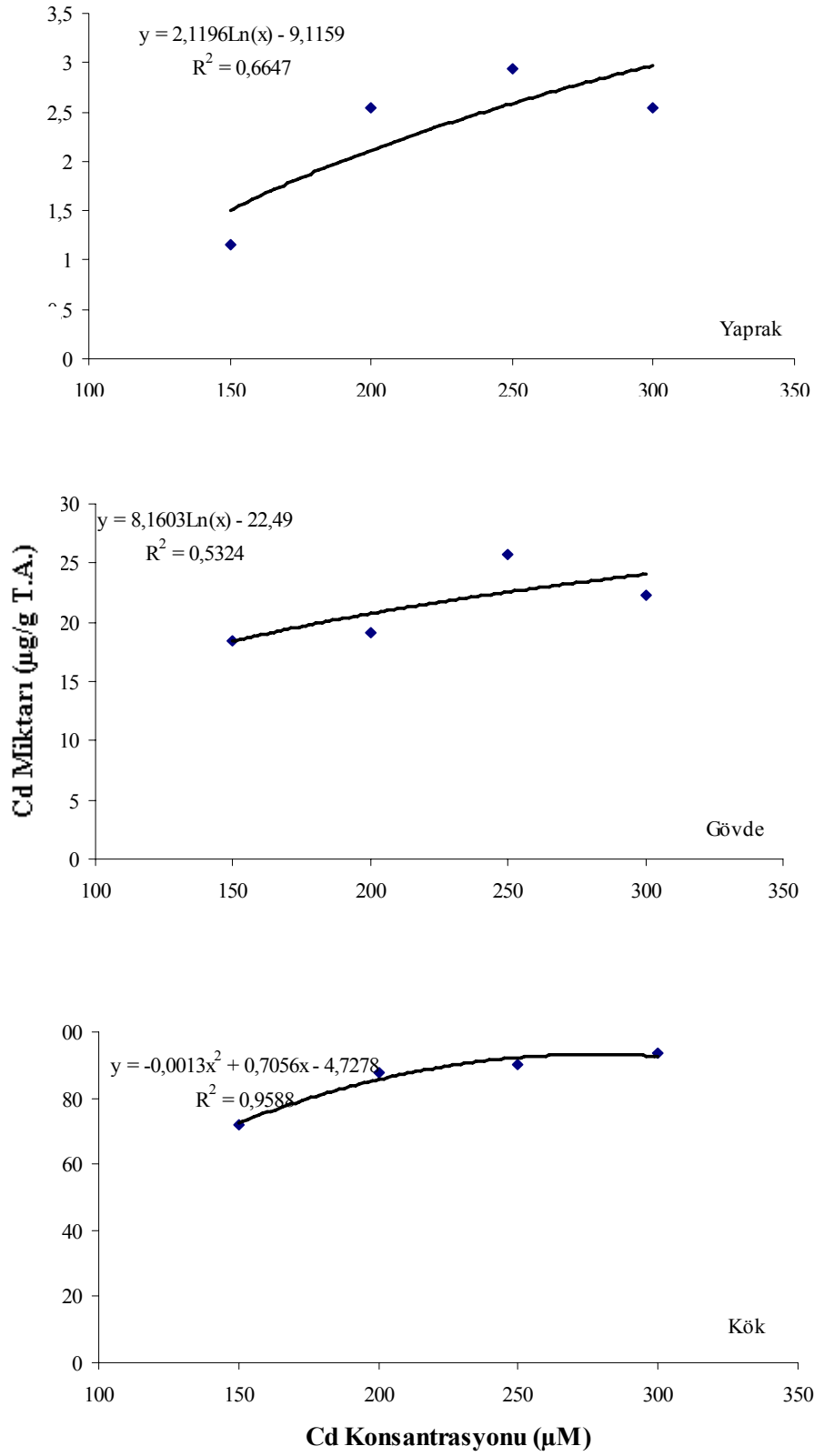


Şekil. 4.3. Meriç çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 2. gününde Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları arasındaki ilişki.

Ancak Meriç eşidinde gövde ve kök dokularında belirlenen Cd miktarları ile uygulama konsantrasyonları arasında güçlü bir ilişki belirlenmiş ve gövde dokuları için regresyon katsayısı $R^2=0.96$, kök dokuları için $R^2=0.91$ olarak belirlenmiştir. İlişkiyi açıklayan logaritmik regresyonlar incelendiğinde Meriç eşidinde gövde ve kökte biriken Cd miktarının ortamdaki metal yoğunluğuna bağlı bir şekilde logaritmik olarak arttığı ancak belli bir konsantrasyondan sonra metal birikiminin sabit kaldığı belirlenmiştir.

Duyarlı Tarsan 1018 eşidinde 2 gün süre ile yapılan $CdSO_4$ uygulamasında dokularda biriken Cd miktarları ile $CdSO_4$ uygulama konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi tanımlayan regresyon eğrisi ve bu eğriye ait denklem Şekil 4.4.'te verilmiştir. Tarsan 1018 eşidinde yaprak dokularındaki Cd birikimi Meriç eşidindekine benzer şekildedir yani, artan $CdSO_4$ konsantrasyonları bu çeşitte yaprak dokusundaki Cd birikimi üzerinde düzenli bir etki oluşturmamıştır. Yaprak dokularında Cd uygulama konsantrasyonları ve dokulardaki Cd birikimleri arasındaki ilişkinin katsayısı $R^2=0.66$ bulunmuş ve ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır. Tarsan 1018 eşidinde gövde dokularında belirlenen Cd birikimleri ile ortamdaki metal konsantrasyonları arasında da ilişki olmadığı belirlenmiştir ($R^2=0.53$).

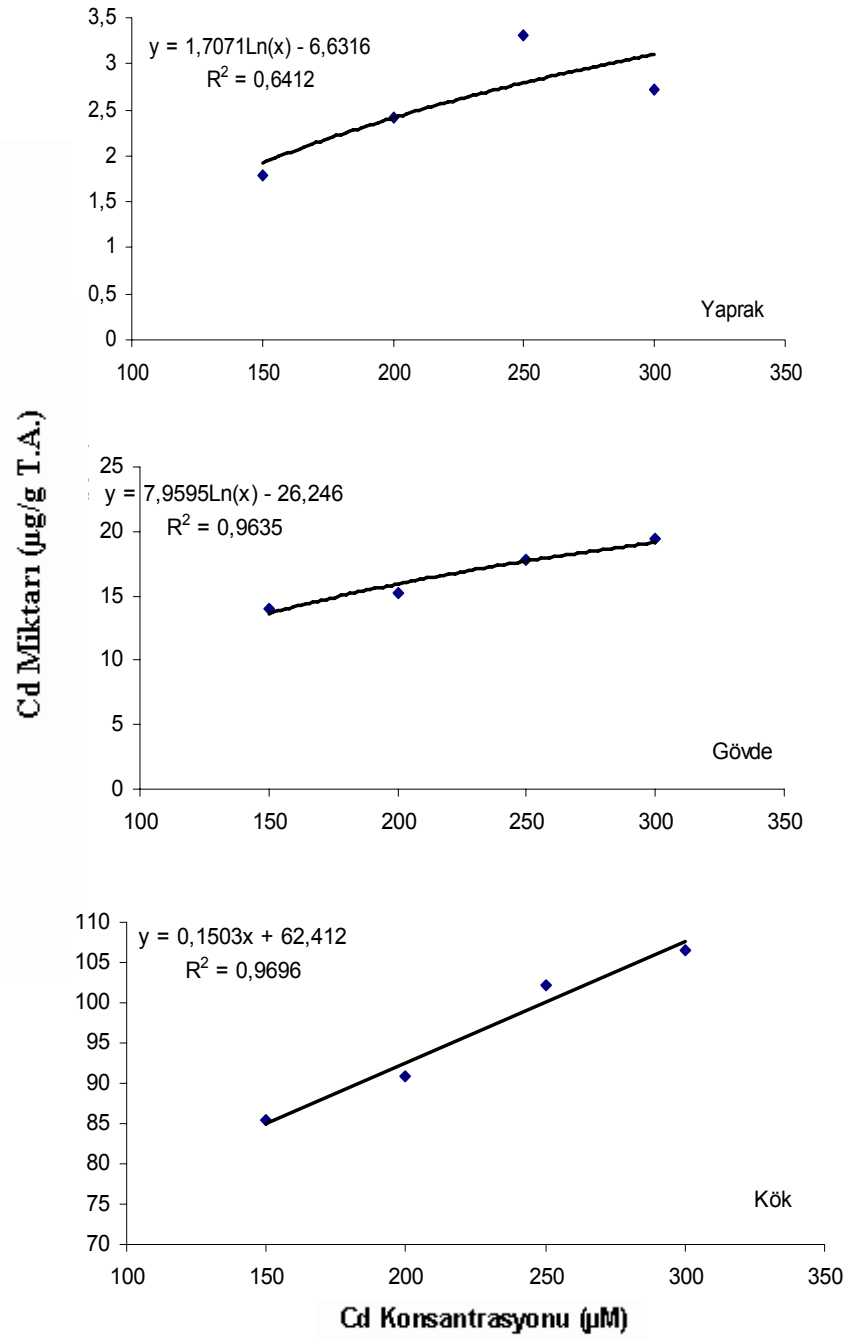
Sonuç olarak, Tarsan 1018 eşidinin gövde dokularında belirlenen Cd birikimlerinin konsantrasyonlara bağlı olarak arttığı ancak, bu artışların konsantrasyonlardaki artışa paralel olarak oluşmadığı belirlenmiştir. Bu çeşitte kök dokularında artan Cd konsantrasyonu ile dokularda belirlenen Cd miktarları arasında çok güçlü bir logaritmik regresyon bulunduğu ve dokulardaki Cd miktarının ortamdaki metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak arttığı saptanmıştır.



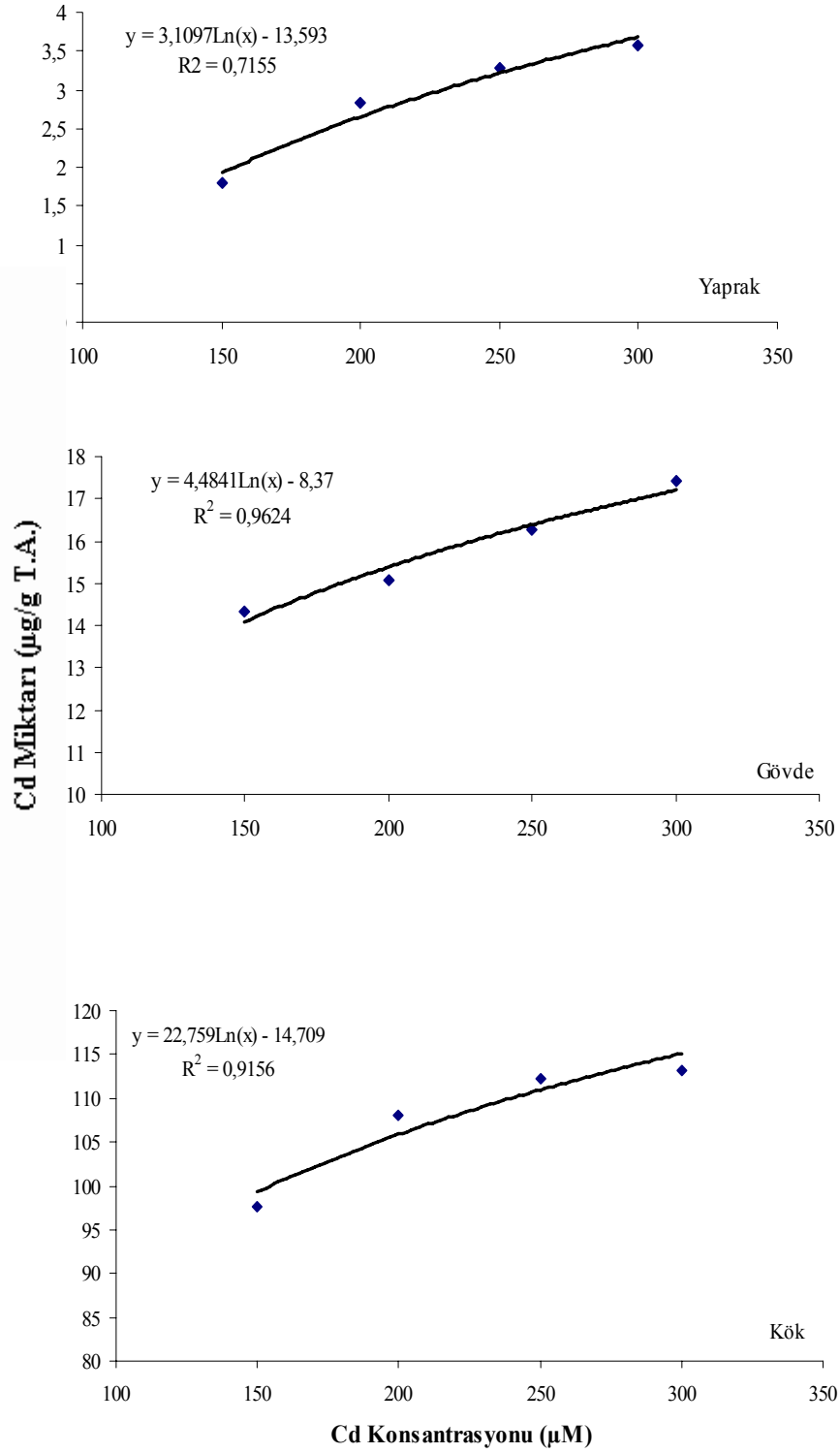
Şekil 4.4. Tarsan 1018 çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 2. gününde Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları arasındaki ilişki.

4.1.5. Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO₄ Uygulamasının 4. Gününde Cd Konsantrasyonları ile Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları Arasındaki İlişki

Ayçiçeğinde CdSO₄ uygulamasının 4. gününde Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde yaprak dokularında belirlenen Cd miktarları ile ortamdaki metal yoğunluğu arasında bir ilişki olmadığı belirlenmiştir ($R^2_{\text{Tarsan 1018}}=0.71$, $R^2_{\text{Meriç}}=0.64$). Bununla birlikte gövde ve kök dokularında belirlenen Cd miktarları ile yetiştirme ortamında bulunan Cd konsantrasyonları arasında her iki dokuda da kuvvetli bir ilişki belirlenmiştir. Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin kök ve gövde dokularında belirlenen ilişki Şekil 4.5. ve 4.6.'da verilmiştir. Buna göre her iki çeşitte de yaprak, gövde ve kök dokularındaki Cd birikiminin, 300 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonuna kadar konsantrasyondaki artışa bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Ancak Şekil 4.5. ve 4.6. incelendiğinde, özellikle yaprak ve gövde dokularındaki Cd birikiminde belirgin bir artış olmadığı görülmektedir.



Şekil 4.5. Meriç çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 4. gününde Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları arasındaki ilişki.



Şekil 4.6. Tarsan 1018 çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 4. gününde Cd konsantrasyonları ile yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları arasındaki ilişki.

4.2. Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ Uygulanmış Ayçiçeği Bitkilerinin Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Fitokelatin Birikimi

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L. cv. Meriç ve Tarsan 1018) bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında sentezlenen fitokelatin miktarları bitki çeşidine, uygulama süresine, uygulama konsantrasyonlarına ve bitki dokularına göre farklılık göstermiştir.

4.2.1. Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ Uygulamasının 2. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Fitokelatin Miktarları

Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulanan ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında CdSO₄ uygulamasının 2. gününde belirlenen fitokelatin miktarları Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Dayanıklı Meriç çeşidinin yaprak dokularında farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde fitokelatin miktarlarının artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı (200 µM CdSO₄ konsantrasyonu hariç) ve sırasıyla 36.33±0.31 µmol/g T.A., 34.36±0.61 µmol/g T.A., 37.06±0.85 µmol/g T.A. ve 38.26±0.81 µmol/g T.A. olduğu belirlenmiştir. Meriç çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük Cd miktarının 200 µM CdSO₄ uygulamasında 34.36±0.61 µmol/g T.A., en yüksek Cd miktarının ise, 300 µM CdSO₄ uygulamasında 38.26±0.81 µmol/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4., Şekil 4.7).

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularındaki fitokelatin miktarları (Ortalama µmol/g T.A. ± S.H.).

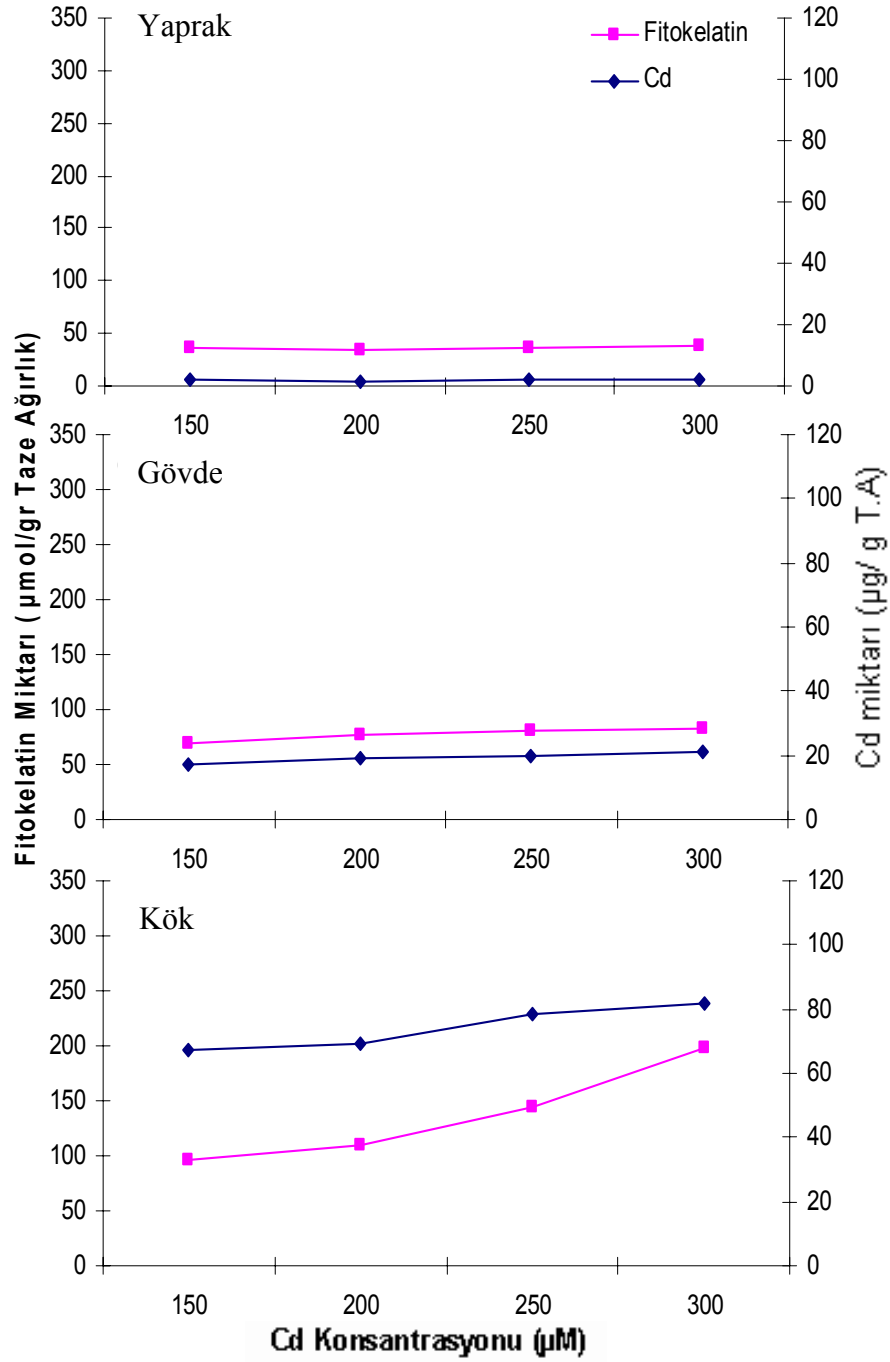
		CdSO ₄ Konsantrasyonu (µM)							
		150 µM		200 µM		250 µM		300 µM	
Cd ²⁺ Miktarı		(249 mg/5L)		(332.5 mg/5L)		(415 mg/5L)		(498 mg/5L)	
Çeşit	Doku								
Meriç	Yaprak	36.33±0.31	ab*	34.36±0.61	a	37.06±0.85	b	38.26±0.81	b
		A**		A		A		A	
	Gövde	68.50±2.24	a	77.78±1.83	b	81.52±1.08	b	82.25±0.97	b
Tarsan 1018		B		B		B		B	
	Kök	96.94±0.93	a	109.64±0.37	b	143.46±0.81	c	197.23±1.98	d
		C		C		C		C	
Tarsan 1018	Yaprak	69.24±1.26	a	67.77±1.06	a	81.19±0.52	c	74.99±1.18	b
		A		A		A		A	
	Gövde	111.61±1.31	a	169.84±0.60	b	178.54±0.71	b	172.20±2.75	c
Tarsan 1018		B		B		B		B	
	Kök	171.55±1.93	a	194.42±2.39	b	225.59±0.45	c	275.54±1.62	d
		C		C		C		C	

n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$).

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$).

Yapılan istatistik analize göre, 2 günlük CdSO_4 uygulamasında, Meriç çeşidinin yaprak dokularında 200 μM , 250 μM ve 300 μM CdSO_4 konsantrasyonlarındaki fitokelatin miktarları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$, Ek 9).



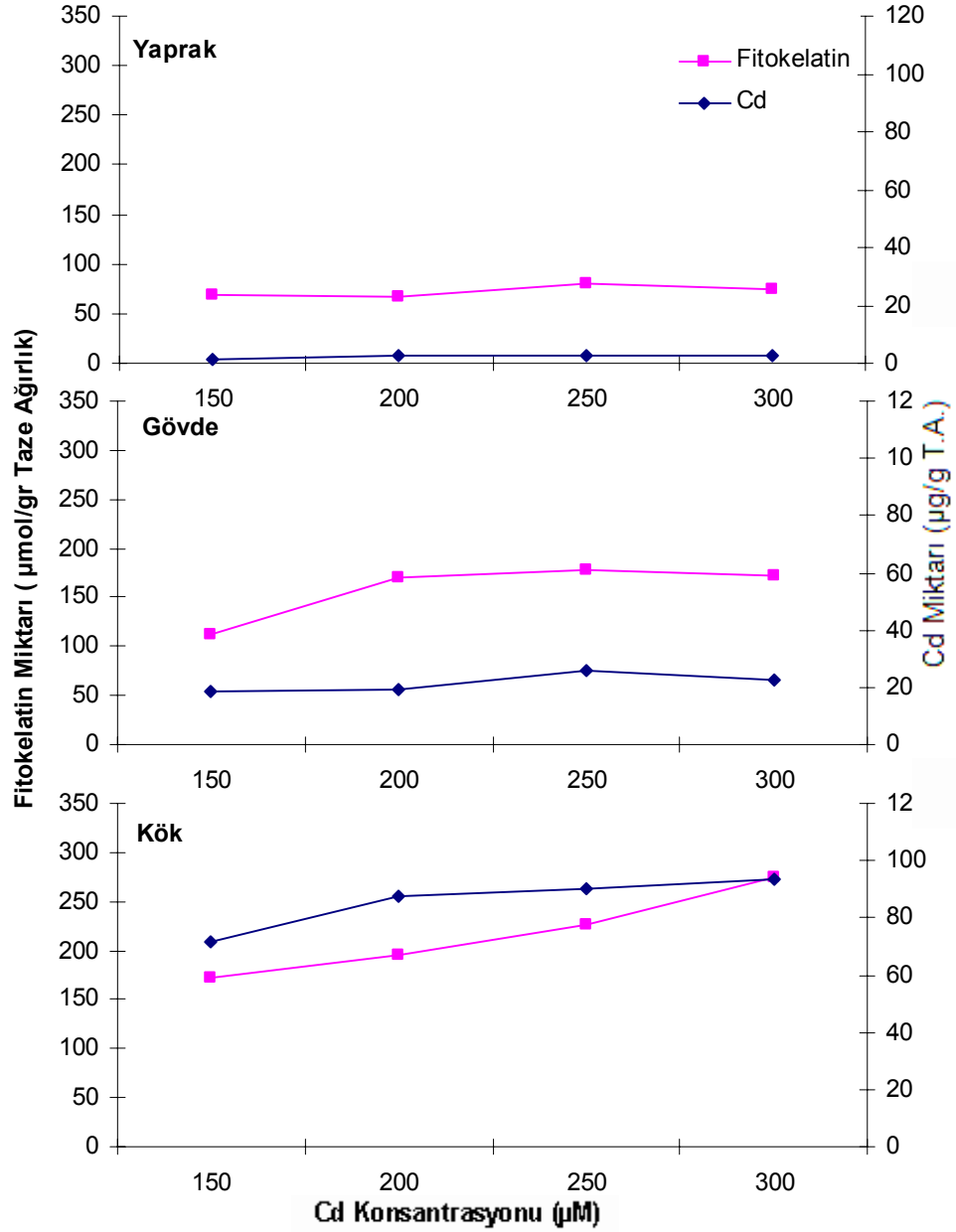
Şekil 4.7. Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularında belirlenen fitokelatin ve Cd miktarı.

Meriç eşidinin gövde dokularında, fitokelatin miktarının artan Cd konsantrasyonuna paralel olarak arttığı, 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında sırasıyla, 68.50±2.24 µmol/g T.A., 77.78±1.83 µmol/g T.A., 81.52±1.08 µmol/g T.A. ve 82.25±0.97 µmol/g T.A. olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4., Şekil 4.7). Meriç eşidinde gövde dokularındaki en düşük fitokelatin miktarı 68.50±2.24 µmol/g T.A. ile 150 µM CdSO₄ uygulamasında belirlenmiş ve yapılan istatistiksel analizde bu uygulama konsantrasyonundaki fitokelatin miktarı diğer tüm uygulama konsantrasyonlarındaki fitokelatin miktarlarından önemli bulunmuştur (P≤ 0.05). Gövde dokularında uygulama konsantrasyonu 150 µM'dan 200 µM'a yükseltildiğinde fitokelatin miktarının belirgin olarak arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak da önemli olduğu saptanırken, 200 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonundan sonra gövde dokularında fitokelatin miktarlarındaki artışların yavaşladığı ve bu nedenle 200, 250 ve 300 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonlarındaki gövde dokularında belirlenen Cd birikimleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 9).

Meriç eşidinin kök dokularında, artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak fitokelatin miktarlarının arttığı ve farklı konsantrasyonlarda fitokelatin miktarlarının sırasıyla, 96.94±0.93 µmol/g T.A., 109.64±0.37 µmol/g T.A., 143.46±0.81 µmol/g T.A. ve 197.23±1.98 µmol/g T.A. olduğu saptanmıştır Kök dokusunda en yüksek fitokelatin miktarının 300 µM Cd konsantrasyonunda 197.23±1.98 µmol/g T.A. iken en düşük fitokelatin miktarının da 150 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 96.94±0.93 µmol/g T.A. olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4., Şekil 4.7.). Yapılan istatistiksel analize göre, CdSO₄ uygulamasının 2. gününde uygulanan tüm konsantrasyonlarda fitokelatin miktarları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P≤ 0.05, Ek 9).

Duyarlı Tarsan 1018 eşidinde farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak dokularında belirlenen fitokelatin miktarı Çizelge 4.4.'de verilmiştir. Tarsan 1018 eşidinin yaprak dokularında fitokelatin miktarlarının sırasıyla 69.24±1.26 µmol/g T.A., 67.77±1.06 µmol/g T.A., 81.19±0.52 µmol/g T.A. ve 74.99±1.18 µmol/g T.A. olduğu belirlenmiştir. Tarsan 1018 eşidinin yaprak dokusundaki en düşük fitokelatin miktarının 150 µM Cd konsantrasyonunda 69.24±1.26 µmol/g T.A., en yüksek Cd miktarının ise, 250 µM Cd konsantrasyonda 81.19±0.52 µmol/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4. ve Şekil 4.8.). Yapılan istatistik analize göre, Tarsan 1018 eşidinin yaprak dokusunda (150 µM

ile 200 μM CdSO_4 konsantrasyonların arası hariç) konsantrasyonlar arasında fitokelatin miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$, Ek 9).



Şekil 4.8. Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularında belirlenen fitokelatin ve Cd miktarı.

Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusunda farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde fitokelatin miktarları sırasıyla, 111.61 ± 1.31 $\mu\text{mol/g}$ T.A., 169.84 ± 0.60 $\mu\text{mol/g}$ T.A., 178.54 ± 0.71 $\mu\text{mol/g}$ T.A. ve 172.20 ± 2.75 $\mu\text{mol/g}$ T.A.

olarak belirlenmiştir. (Çizelge 4.4. ve Şekil 4.8.). Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokularındaki en yüksek fitokelatin miktarı 250 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 178.54 ± 0.71 $\mu\text{mol/g}$ T.A. ve en düşük fitokelatin miktarı 150 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 111.61 ± 1.31 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak saptanmıştır. Yapılan istatistik analize göre, Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusunda 200 ve 250 μM CdSO_4 konsantrasyonundaki değerler hariç diğer konsantrasyonlarda belirlenen fitokelatin miktarlarının istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 9).

Tarsan 1018 çeşidinin kök dokularında CdSO_4 uygulamasının 2. gününde artan Cd konsantrasyonuna paralel olarak fitokelatin miktarının arttığı belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasında belirlenen fitokelatin miktarları sırasıyla, 171.55 ± 1.93 $\mu\text{mol/g}$ T.A., 194.42 ± 2.39 $\mu\text{mol/g}$ T.A., 225.59 ± 0.45 $\mu\text{mol/g}$ T.A. ve 275.54 ± 1.62 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak saptanmıştır. Kök dokusunda en yüksek fitokelatin miktarının 300 μM Cd konsantrasyonunda 275.54 ± 1.62 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4., Şekil 4.8.). Yapılan istatistik analize göre, kök dokusunda uygulanan tüm konsantrasyonlardaki fitokelatin miktarları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak birbirinden önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 9).

Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde Tarsan 1018 çeşidinde en yüksek fitokelatin miktarının kök dokularında olduğu ve bu dokuyu sırasıyla gövde ve yaprak dokularının takip ettiği belirlenmiştir. Kök dokusunda en yüksek fitokelatin miktarı 300 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 275.54 ± 1.62 $\mu\text{mol/g}$ T.A., gövde dokusunda 250 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 178.54 ± 0.71 $\mu\text{mol/g}$ T.A. ve yaprak dokusunda ise 250 μM konsantrasyonda 81.19 ± 0.52 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4., Şekil 4.8.). Yapılan istatistik analize göre, 2. günde tüm CdSO_4 konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarlarının istatistiksel olarak birbirinden önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 10).

4.2.2. Farklı Konsantrasyonlarda (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) CdSO_4 Uygulamasının 4. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Fitokelatin Miktarları

Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulanan ayçiçeği bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 4. günde belirlenen fitokelatin miktarları Çizelge 4.5.'te verilmiştir.

Dayanıklı Meriç çeşidinde farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak dokusundaki fitokelatin miktarlarının (300 μM CdSO_4 konsantrasyonu hariç) artan CdSO_4 konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiği ve sırasıyla

42.46±0.31 µmol/g T.A., 47.48±0.54 µmol/g T.A., 51.44±1.51 µmol/g T.A. ve 48.27±0.67 µmol/g T.A. belirlenmiştir. Meriç çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük fitokelatin miktarının 150 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 42.46±0.31 µmol/g T.A., en yüksek fitokelatin miktarının ise, 250 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 51.44±1.51 µmol/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5., Şekil 4.9.). Meriç bitkisinin yaprak dokularında artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak 200 ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonundaki fitokelatin miktarları hariç diğer konsantrasyonlardaki fitokelatin miktarlarının istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 11).

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularındaki fitokelatin miktarları (Ortalama µmol/g T.A. ± S.H.).

		CdSO ₄ Konsantrasyonu (µM)							
		150 µM		200 µM		250 µM		300 µM	
		(249 mg/5L)		(332.5 mg/5L)		(415 mg/5L)		(498 mg/5L)	
Cd ²⁺ Miktarı									
Çeşit	Doku								
Meriç	Yaprak	42.46±0.31 A**	a*	47.48±0.54 A	b	51.44±1.51 A	c	48.27±0.67 A	b
	Gövde	56.93±1.73 B	a	66.29±0.52 B	b	77.45±1.29 B	c	81.85±0.48 B	d
	Kök	221.71±0.72 C	a	245.32±1.67 C	b	297.64±0.43 C	c	312.36±1.44 C	d
Tarsan 1018	Yaprak	70.52±0.33 A	a	78.01±0.99 A	b	86.46±0.61 A	c	91.18±1.28 A	d
	Gövde	87.54±0.33 B	a	125.44±0.79 B	b	150.59±0.82 B	c	158.94±0.97 B	d
	Kök	287.72±0.90 C	a	332.19±3.68 C	b	348.32±1.56 C	c	370.67±2.27 C	d

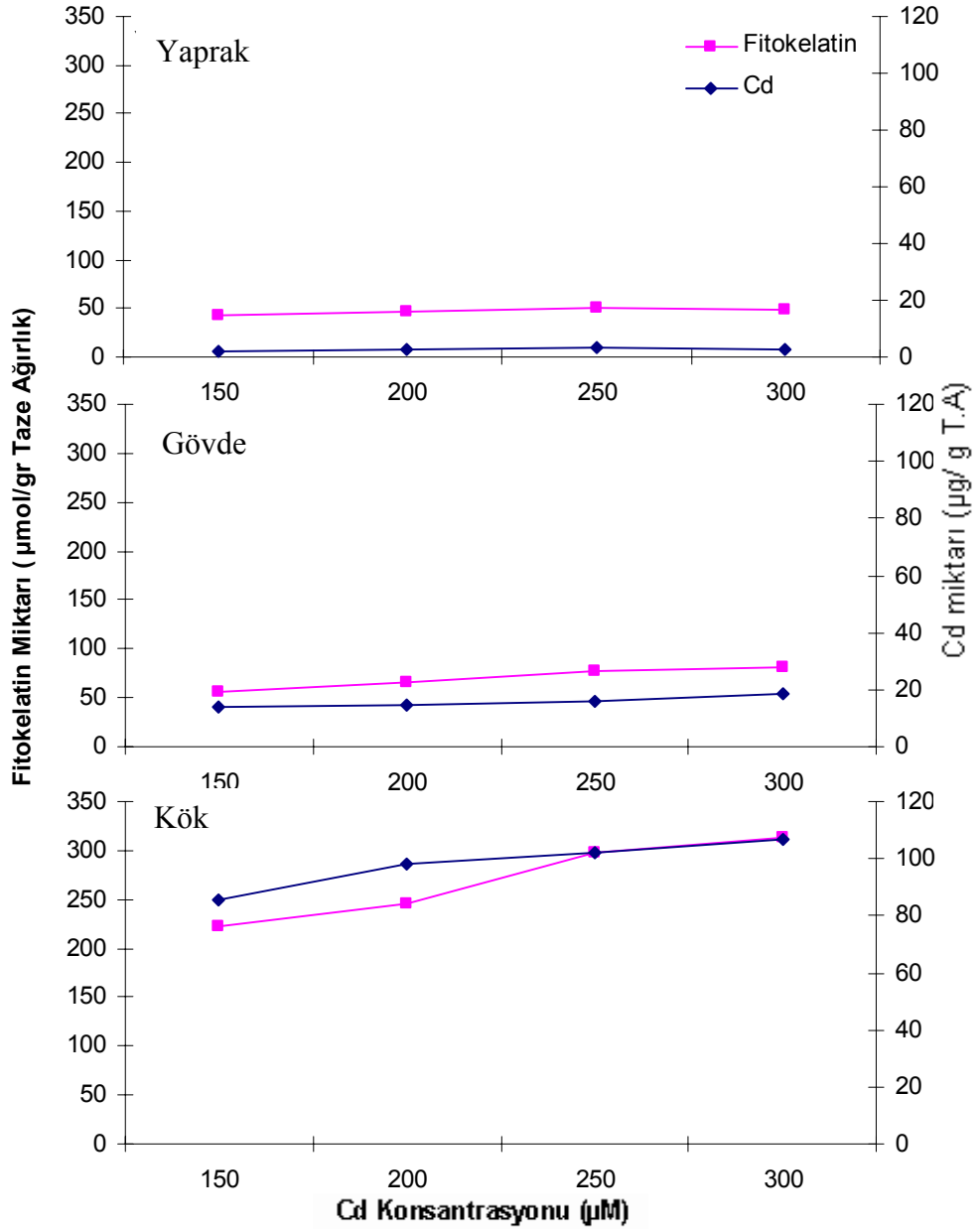
n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

Meriç çeşidinin gövde dokusunda farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak belirlenen fitokelatin miktarlarının sırası ile 56.93±1.73 µmol/g T.A., 66.29±0.52 µmol/g T.A., 77.45±1.29 µmol/g T.A. ve 81.85±0.48 µmol/g T.A. olduğu ve artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.9.). Meriç çeşidinin gövde dokularındaki en düşük fitokelatin miktarının 150 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 56.93±1.73 µmol/g T.A., en yüksek fitokelatin miktarının ise 300 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 81.85±0.48 µmol/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.9.). Yapılan istatistik analize göre, Meriç bitkisinin gövde dokusunda 4. günde tüm

CdSO₄ konsantrasyonlarında belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$, Ek 11).



Şekil 4.9. Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularında belirlenen fitokelatin ve Cd miktarı.

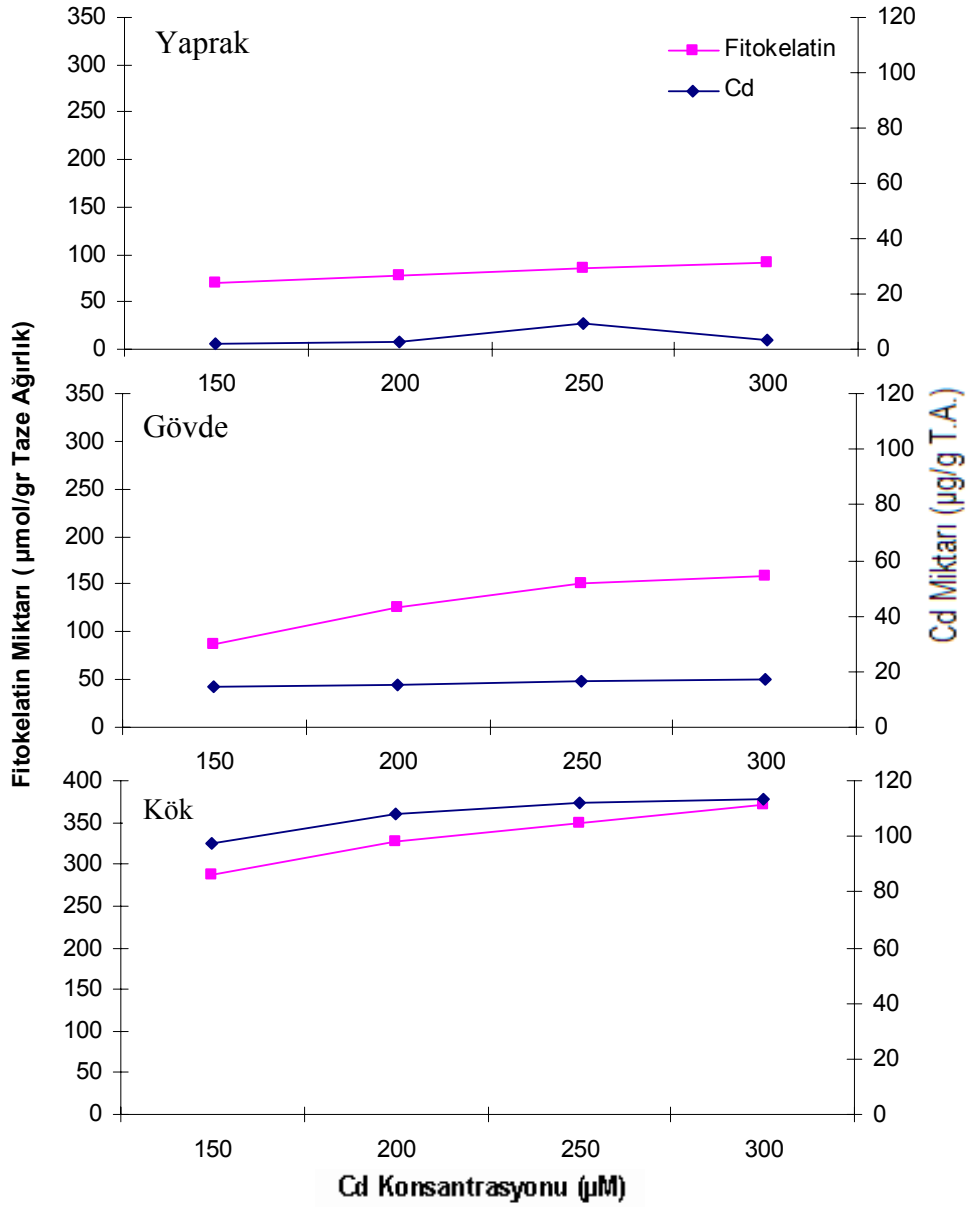
Meriç çeşidinin kök dokusunda artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak fitokelatin miktarlarının arttığı ve farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamalarında fitokelatin miktarlarının sırası ile 221.71 ± 0.72 µmol/g T.A., 245.32 ± 1.67 µmol/g T.A., 297.64 ± 0.43 µmol/g T.A. ve 312.36 ± 1.44 µmol/g T.A. olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.9). Meriç çeşidinde kök dokusundaki en düşük fitokelatin miktarı 150

μM konsantrasyonda $221.71 \pm 0.72 \mu\text{mol/g}$ T.A. ve en yüksek fitokelatin miktarı $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonunda $312.36 \pm 1.44 \mu\text{mol/g}$ T.A. olarak saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analize göre, Meriç çeşidinin kök dokusunda belirlenen fitokelatin miktarlarının tüm konsantrasyonlarda birbirinden istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 11).

Meriç çeşidinde farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde en fazla fitokelatin miktarının kök dokusunda olduğu ve kök dokusunu sırasıyla gövde ve yaprak dokularının takip ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.9). Kök ve gövde dokularında en yüksek fitokelatin miktarları $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonunda sırası ile $312.36 \pm 1.44 \mu\text{mol/g}$ T.A., $81.85 \pm 0.48 \mu\text{mol/g}$ T.A. olarak ve yaprak dokusunda ise $250 \mu\text{M}$ konsantrasyonda $51.44 \pm 1.51 \mu\text{mol/g}$ T.A. olarak saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analize göre, Meriç çeşidinde tüm CdSO_4 konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 12).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak dokusunda belirlenen fitokelatin miktarlarının artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı ve sırası ile $70.52 \pm 0.33 \mu\text{mol/g}$ T.A., $78.01 \pm 0.99 \mu\text{mol/g}$ T.A., $86.46 \pm 0.61 \mu\text{mol/g}$ T.A. ve $91.18 \pm 1.28 \mu\text{mol/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.10). Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokularında 4. gündeki en düşük fitokelatin miktarının $150 \mu\text{M}$ konsantrasyonda $70.52 \pm 0.33 \mu\text{mol/g}$ T.A. ve en yüksek fitokelatin miktarının $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonunda $91.18 \pm 1.28 \mu\text{mol/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analize göre, tüm uygulama konsantrasyonlarında yaprak dokularında belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 12).

Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusunda farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasına bağlı olarak fitokelatin birikiminin artan CdSO_4 konsantrasyonuna paralel bir artış gösterdiği ve sırası ile $87.54 \pm 0.33 \mu\text{mol/g}$ T.A., $125.44 \pm 0.79 \mu\text{mol/g}$ T.A., $150.59 \pm 0.82 \mu\text{mol/g}$ T.A. ve $158.94 \pm 0.97 \mu\text{mol/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir. Gövde dokusunda en düşük fitokelatin birikiminin $150 \mu\text{M}$ konsantrasyonda $87.54 \pm 0.33 \mu\text{mol/g}$ T.A. ve en yüksek fitokelatin birikiminin $300 \mu\text{M}$ konsantrasyonda $158.94 \pm 0.97 \mu\text{mol/g}$ T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.10.). Yapılan istatistiksel analize göre, Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusunda 4. günde uygulanan tüm konsantrasyonlardaki fitokelatin miktarlarının istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 12).



Şekil 4.10. Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularında belirlenen fitokelatin ve Cd miktarı.

Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde Tarsan 1018 çeşidinin kök dokusunda belirlenen fitokelatin miktarlarının artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı ve sırası ile 287.72 ± 0.90 µmol/g T.A., 332.19 ± 3.68 µmol/g T.A., 348.32 ± 1.56 µmol/g T.A. ve 370.67 ± 2.27 µmol/g T.A. olduğu belirlenmiştir. Kök dokusunda en düşük Cd miktarının 150 µM konsantrasyonda 287.72 ± 0.90 µmol/g T.A. ve en yüksek Cd miktarının 300 µM konsantrasyonda 370.67 ± 2.27 µmol/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.10.). Yapılan istatistiksel analize göre, Tarsan 1018

çeşidinde 4. günde tüm Cd konsantrasyonlarındaki fitokelatin miktarları arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 12) (Çizelge 4.5.).

Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde Tarsan 1018 çeşidinde en fazla fitokelatin miktarının kök dokularında olduğu ve kök dokusunu sırasıyla gövde ve yaprak dokularının takip ettiği belirlenmiştir. Yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen en yüksek fitokelatin miktarının $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonunda sırası ile $91.18 \pm 1.28 \mu\text{mol/g T.A.}$, $158.94 \pm 0.97 \mu\text{mol/g T.A.}$ ve $370.67 \pm 2.27 \mu\text{mol/g T.A.}$ olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.10). Yapılan istatistiksel analize göre, Tarsan 1018 çeşidinde 4 gün süre ile tüm CdSO_4 konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 12).

4.2.3. Farklı Cd Konsantrasyonlarında Ayçiçeği Bitkisinde Çeşit Farklılığının ve Uygulama Zamanının Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Belirlenen Fitokelatin Miktarları Üzerine Etkisi

Dayanıklı Meriç ve duyarlı Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamalarına bağlı olarak belirlenen fitokelatin miktarlarının uygulanan CdSO_4 konsantrasyonuna, doku farklılıklarına ve uygulamanın süresine bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4., 4.5., 4.6, Şekil 4.9. ve 4.10.). Çizelge 4.6. incelendiğinde uygulanan tüm CdSO_4 konsantrasyonlarında 2. ve 4. günlerde Tarsan 1018 çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularındaki fitokelatin miktarlarının Meriç çeşidinden daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analize göre, Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde tüm Cd konsantrasyonlarında ve her iki uygulama zamanında yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 13 ve 14).

Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarlarının zamana bağlı olarak arttığı, gövde dokularındaki fitokelatin miktarlarının ise yine uygulama zamanına bağlı olarak azaldığı saptanmıştır. Yapılan istatistik analize göre, Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında zamana bağlı olarak fitokelatin miktarlarında meydana gelen artış veya azalışların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 15 ve 16).

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasına bağlı olarak Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında Cd uygulamasının 2. ve 4. gününde belirlenen fitokelatin miktarları (µmol/g T.A.±S.H.).

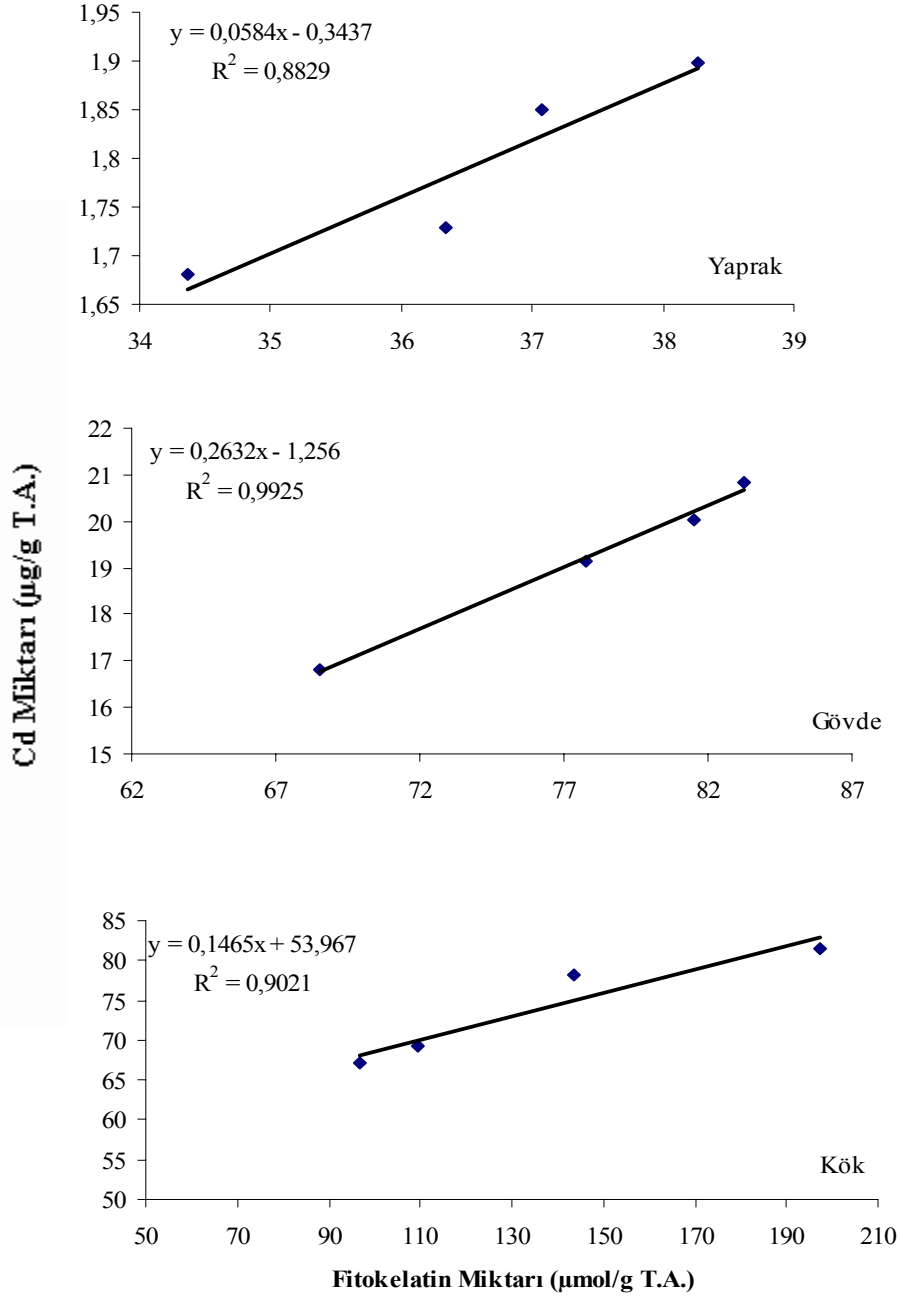
Konsantrasyon (µM)	Uygulama Zamanı	Yaprak		Gövde		Kök	
		Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018
150	2. Gün	36.33±0.31 A**	a* 69.24±1.26 A	68.50±2.24 A	a 111.61±1.31 A	96.94±0.93 A	a 171.55±1.93 A
	4. Gün	42.46±0.31 B	a 70.52±0.33 A	56.93±1.73 B	a 87.54±0.33 B	221.71±0.72 B	a 287.72±0.90 B
200	2. Gün	34.36±0.61 A	a 67.77±1.06 A	77.78±1.83 A	a 169.84±0.60 A	109.64±0.37 A	a 194.42±2.39 A
	4. Gün	47.48±0.54 B	a 78.01±0.99 B	66.29±0.52 B	a 125.44±0.79 B	245.32±1.67 B	a 332.19±3.68 B
250	2. Gün	37.06±0.85 A	a 81.19±0.52 A	81.52±1.08 A	a 178.54±0.71 A	143.46±0.81 A	a 225.59±0.45 A
	4. Gün	51.44±1.51 B	a 86.46±0.61 A	77.45±1.29 A	a 150.59±0.82 B	297.64±0.43 B	a 348.32±1.56 B
300	2. Gün	38.26±0.81 A	a 74.99±1.18 A	82.25±0.97 A	a 172.20±2.75 A	197.23±1.98 A	a 275.54±1.62 A
	4. Gün	48.27±0.67 B	a 91.18±1.28 B	81.85±0.48 A	a 158.94±0.97 B	312.36±1.44 B	a 370.67±2.27 B

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (T-testi; $P \leq 0.05$).

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (T-testi; $P \leq 0.05$).

4.2.4. Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO₄ Uygulamasının 2. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları ile Aynı Dokularda Belirlenen Fitokelatin Miktarları Arasındaki İlişki

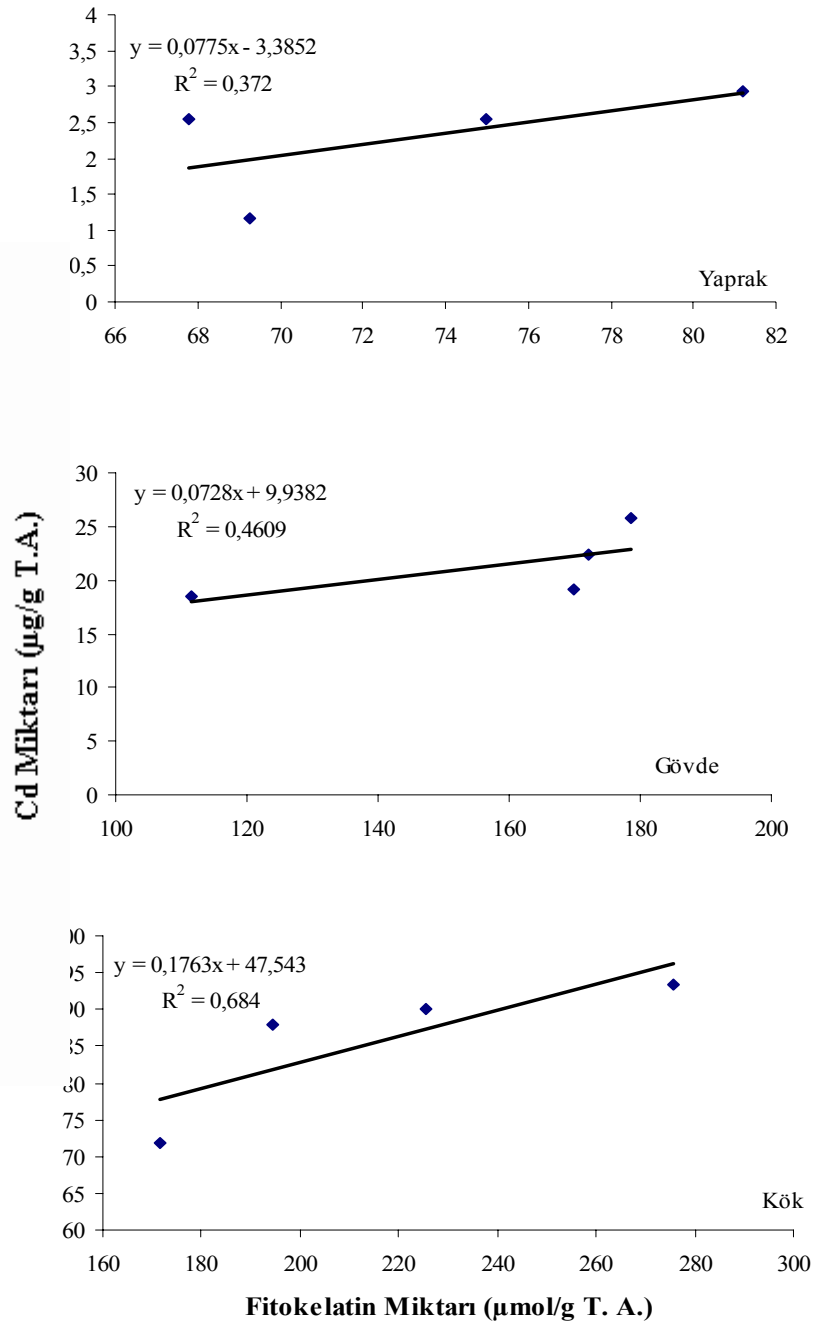
Dayanıklı Meriç çeşidinde 2 gün süreyle yapılan CdSO₄ uygulamasında dokularda biriken Cd miktarları ile Cd uygulama konsantrasyonları bu dokularda sentezlenen fitokelatin miktarları arasındaki ilişkiyi tanımlayan regresyon eğrisi ve bu eğriye ait denklem Şekil 4.11’ de verilmiştir.



Şekil 4.11. Meriç çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd birikimleri ile aynı dokularda belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki ilişki.

CdSO₄ uygulamasına dayanıklı olan Meriç eşidinde, 2 gün süresince yapılan CdSO₄ uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin düzeyleri ile aynı dokularda biriken Cd miktarları arasında doğrusal bir ilişki bulunmuş ve R² değerleri yaprak, gövde ve kök dokuları için sırasıyla 0.88, 0.99 ve 0.90 olarak belirlenmiştir. Bu ilişkiye göre Meriç eşidinin ortamdaki metal stresine bağlı olarak dokulara giren Cd karşısında hızlı bir şekilde fitokelatin sentezlediği bu sayede Cd’u kelatlayarak kendisi için zararsız hale dönüştürebildiği saptanmıştır.

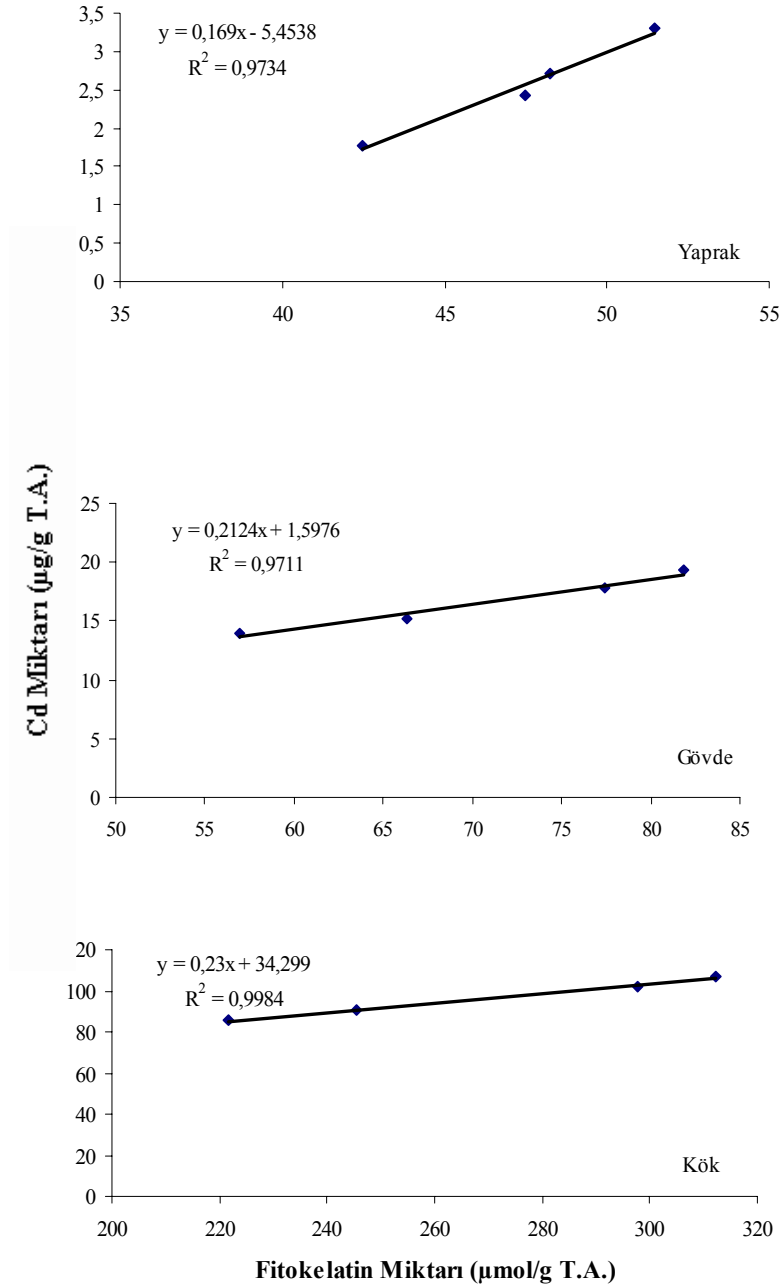
Duyarlı Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinde 2 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında tespit edilen fitokelatin düzeyleri her uygulama konsantrasyonu için dayanıklı Meriç çeşidinden daha yüksek bulunmuş ancak, bu çeşitte dokulardaki fitokelatin düzeyleri ile aynı dokularda biriken Cd miktarları arasında bir ilişki bulunamamıştır. İlişkiye ait R²değerleri yaprak, gövde ve kök dokuları için sırasıyla 0.37, 0.46 ve 0.68 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. Tarsan 1018 çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd birikimleri ile aynı dokularda belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki ilişki.

4.2.5. Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO₄ Uygulamasının 4. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları ile Aynı Dokularda Belirlenen Fitokelatin Miktarları Arasındaki İlişki

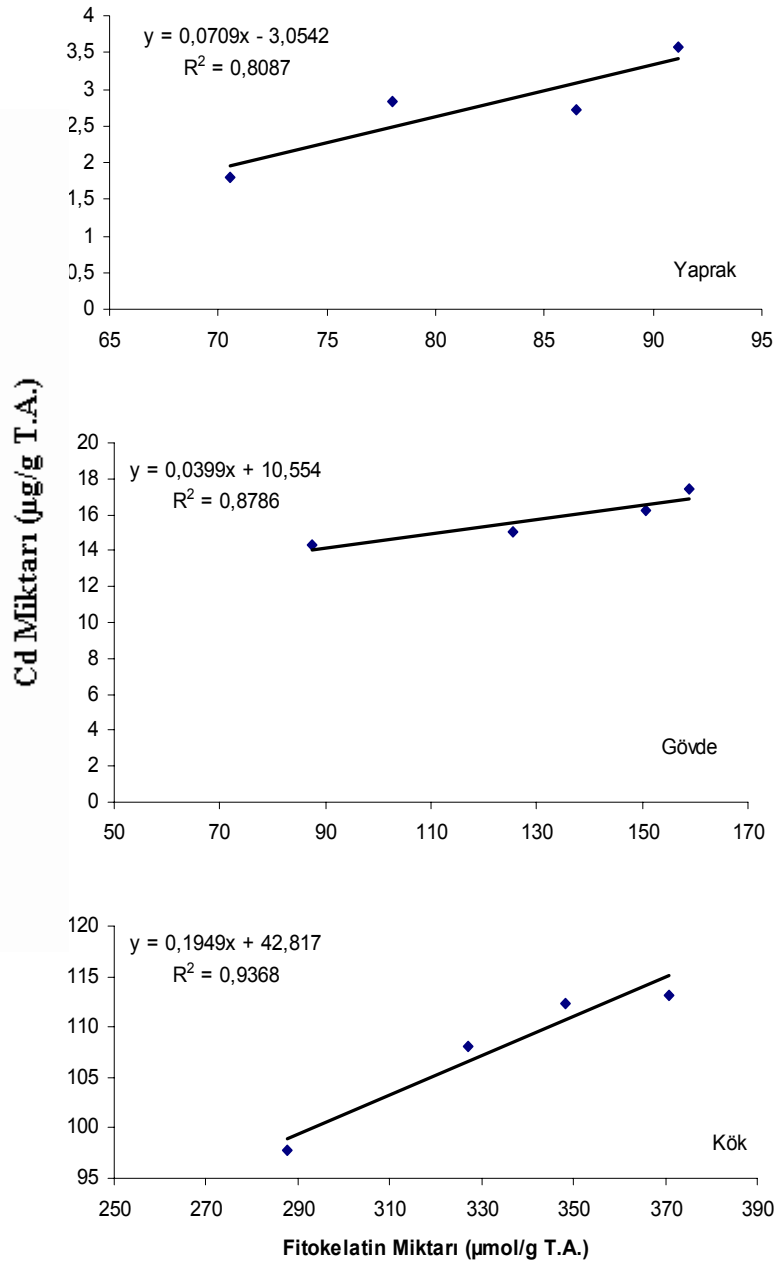
Meriç çeşidinde, 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarlarının ve tespit edilen fitokelatin düzeylerinin 2 günlük uygulamadan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.13.).



Şekil 4.13. Meriç çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd birikimleri ile aynı dokularda belirlenen fitokelatin miktarları arasındaki ilişki.

Meriç eşidinde 4 günlük CdSO₄ uygulama süresinde yaprak, gövde ve kök dokularında fitokelatin düzeyleri ile aynı dokularda biriken Cd miktarları arasında çok g  l  bir lineer regresyon bulunduğu ve dokulardaki fitokelatin miktarının ortamdaki metal birikimindeki artışa paralel olarak arttığı saptanmıştır (şekil 4.13.).

Duyarlı olan Tarsan 1018 eşidinde 4 günlük CdSO₄ uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında fitokelatin düzeyleri ile aynı dokularda biriken Cd miktarları arasında 2 günlük uygulamadaki ilişki değerlerinin aksine doğrusal bir ilişki tespit edilmiş ve R² değerleri yaprak, gövde ve kök dokuları için sırasıyla 0.80, 0.87 ve 0.93 olarak belirlenmiştir (şekil 4.14.).



Şekil 4.14. Tarsan 1018 çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd birikimleri ile aynı dokulardaki fitokelatin miktarları arasındaki ilişki.

4.3. Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ Uygulanmış Ayçiçeği Bitkilerinin Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak Toplam Çözünebilir Protein Miktarları

Meriç ve Tarsan 1018 ayçiçeği çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları, genel olarak uygulanan tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında kontrole göre azalma göstermiş ve bu azalma üzerinde uygulanan CdSO₄ konsantrasyonları sonucu dokularda biriken Cd miktarlarının ve uygulamanın süresinin etkili olduğu belirlenmiştir.

4.3.1. Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ Uygulamasının 2. gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Toplam Çözünebilir Protein Miktarları

Dayanıklı Meriç çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları sırasıyla 54.10 $\pm$ 3.96 mg/mL, 55.60 $\pm$ 7.10 mg/mL, 55.63 $\pm$ 5.73 mg/mL, 64.50 $\pm$ 8.15 mg/mL ve 53.80 $\pm$ 2.73 mg/mL olarak belirlenmiştir. Meriç çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük toplam çözünebilir protein miktarının 300 μ M CdSO₄ konsantrasyonunda 53.80 $\pm$ 2.73 mg/mL, en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının ise 250 μ M'da 64.50 $\pm$ 8.15 mg/mL olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.7., Şekil 4.15.). Yapılan istatistik analize göre, yaprak dokusunda konsantrasyonlar arasında meydana gelen toplam çözünebilir protein miktarlarındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 17).

Meriç çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde gövde dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları sırasıyla 48.50 $\pm$ 0.20 mg/mL, 48.23 $\pm$ 0.08 mg/mL, 48.10 $\pm$ 0.10 mg/mL, 48.36 $\pm$ 0.14 mg/mL ve 46.93 $\pm$ 0.60 mg/mL olarak belirlenmiştir. Gövde dokularında en düşük toplam çözünebilir protein miktarının 200 μ M CdSO₄ uygulamasında 48.10 $\pm$ 0.10 mg/mL, en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının ise kontrol grubunda 48.50 $\pm$ 0.20 mg/mL olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.7., Şekil 4.15). Yapılan istatistiksel analize göre, gövde dokusunda artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak toplam çözünebilir protein miktarları arasındaki değişimlerin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (kontrol ile 300 μ M konsantrasyondaki toplam çözünebilir protein miktarı arasındaki fark hariç) (Ek 17).

Çizelge 4.7. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları (Ortalama mg/mL±S. H.).

CdSO ₄ Konsantrasyonu (µM)											
Kontrol			150 µM		200 µM		250 µM		300 µM		
Cd ²⁺ Miktarı			(249 mg/5L)		(332.5 mg/5L)		(415 mg/5L)		(498 mg/5L)		
Meriç											
Yaprak	54.10±3.96	a*	55.60±7.10	a	55.63±5.73	a	64.50±8.15	a	53.80±2.73	a	
	A**		A**		A		A		A		
Gövde	48.50±0.20	a	48.23±0.08	a	48.10±0.10	a	48.36±0.14	a	46.93±0.60	b	
	A		A		A		A		A		
Kök	52.10±0.95	a	50.00±0.26	ab	47.76±1.13	abc	46.60±0.47	bc	43.66±2.83	c	
	A		A		A		A		A		
Tarsan 1018											
Yaprak	65.33±6.68	b	88.10±4.37	a	80.43±4.94	ab	79.00±5.99	ab	69.10±6.25	ab	
	A		A		A		A		A		
Gövde	46.83±0.32	a	43.64±0.48	a	42.86±0.72	a	40.76±2.97	a	43.66±2.72	a	
	B		B		B		B		B		
Kök	49.60±0.05	a	47.70±0.51	b	41.03±3.05	bc	40.80±3.26	bc	39.00±1.51	c	
	B		B		B		B		B		

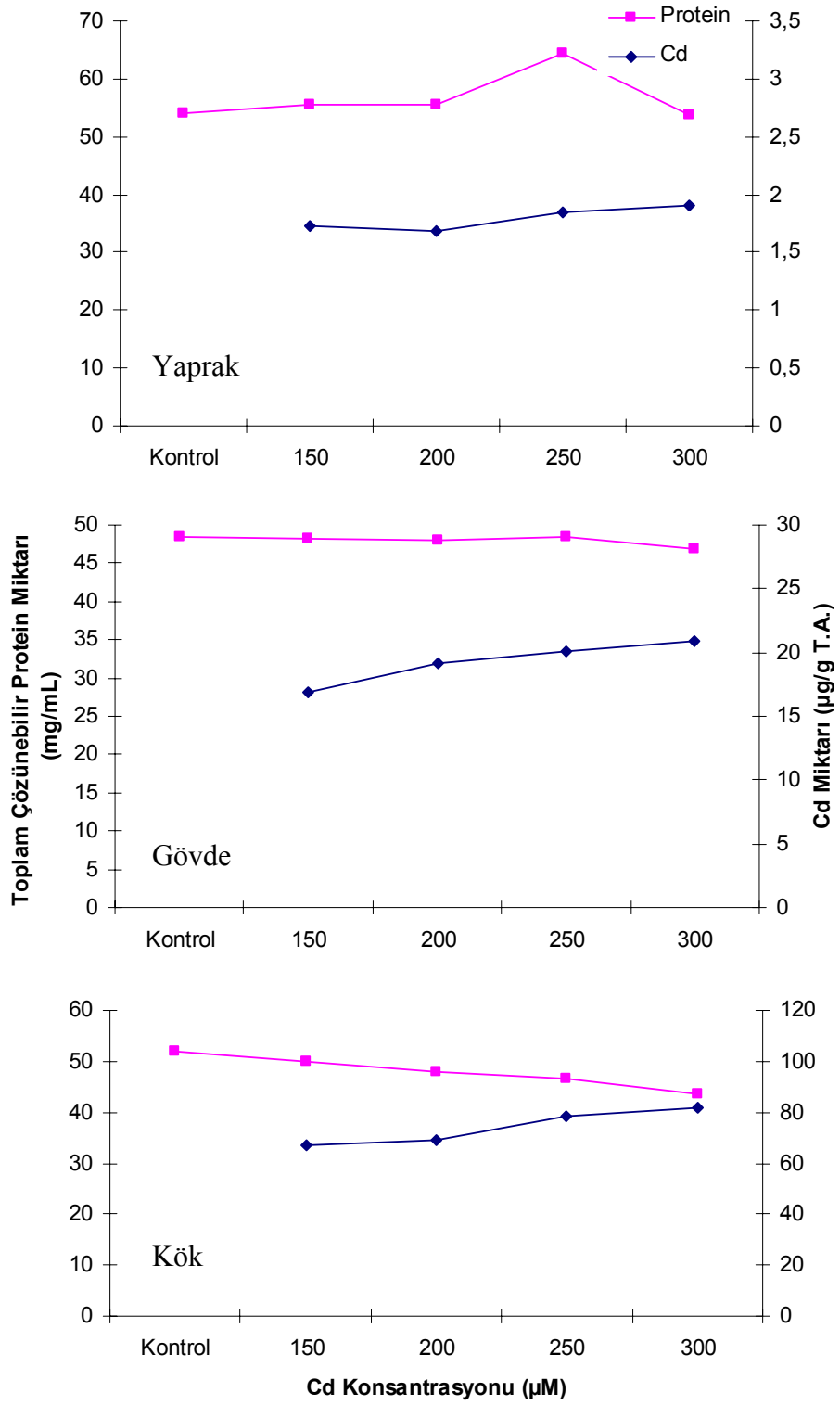
n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

Meriç çeşidinin kök dokularında kontrol, 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ uygulamasına bağlı olarak belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları sırası ile 52.10±0.95 mg/mL, 50.00±0.26 mg/mL, 47.76±1.13 mg/mL, 46.60±0.47 mg/mL ve 43.66±2.83 mg/mL olarak saptanmıştır. Kök dokularındaki en düşük toplam çözünebilir protein miktarının 300 µM konsantrasyonda 43.66±2.83 mg/mL ve en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının ise kontrol grubunda 52.10±0.95 mg/mL olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.15). Meriç çeşidinin kök dokusunda 150 µM ve 200 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarının kontrol grubundan daha düşük olmasına rağmen kontrole göre istatistiksel olarak önemli olmadığı, buna rağmen 250 µM ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonlarındaki toplam çözünebilir protein miktarlarındaki farklılıkların kontrole göre istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 17).

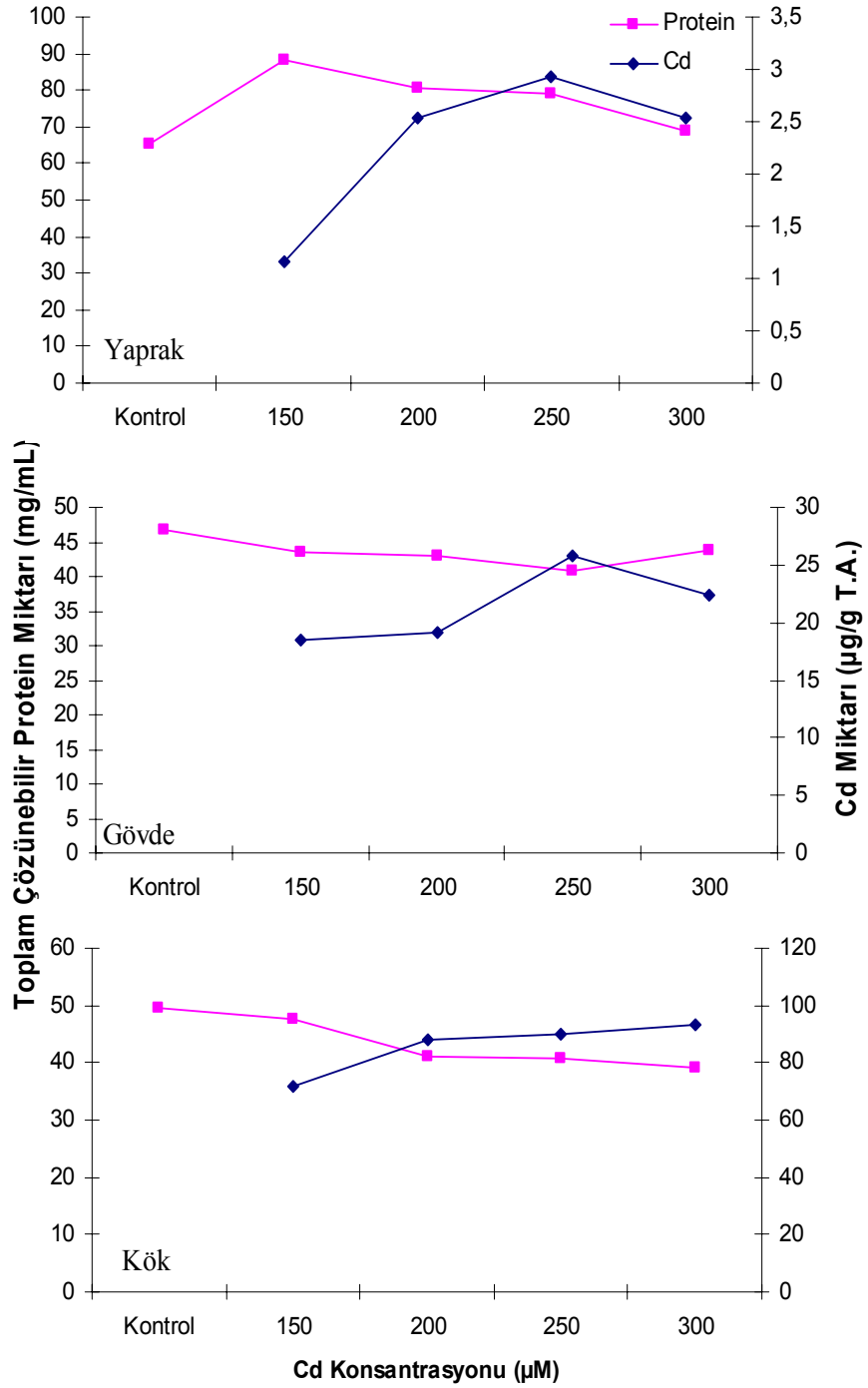
Meriç çeşidinde Cd'un farklı konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında en fazla toplam çözünebilir protein miktarlarının yaprak dokularında olduğu belirlenmiştir. Yaprak dokusunu sırasıyla gövde ve kök dokuları takip etmiştir. Yaprak dokusundaki en fazla toplam çözünebilir protein miktarı 250 µM konsantrasyonda 64.50±8.15 mg/mL, gövde ve kök dokusunda kontrol grubunda sırası ile 48.50±0.20 mg/mL ve 52.10±0.95 mg/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7.).



Şekil 4.15. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularındaki toplam çözünbilir protein ve Cd miktarı.

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları sırasıyla 65.33±6.68 mg/mL, 88.10±4.37 mg/mL, 80.43±4.94 mg/mL, 79.00±5.99 mg/mL ve 69.10±6.25 mg/mL olarak belirlenmiştir.

Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokusunda en düşük toplam çözünebilir protein miktarının kontrol grubunda 65.33±6.68 mg/mL ve en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının ise 200 µM konsantrasyonda 88.10±4.37 mg/mL olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7., Şekil 4.16). Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak azalma gösterdiği ancak, toplam çözünebilir protein miktarlarında belirlenen bu artma ya da azalmaların istatistik olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 17).



Şekil 4.16. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularındaki toplam çözünabilir protein ve Cd miktarı.

Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusunda kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 2. günündeki toplam çözünabilir protein miktarları sırası ile 46.83±0.32 mg/mL, 43.64±0.48 mg/mL,

42.86±0.72 mg/mL, 40.76±2.97 mg/mL ve 43.66±2.72 mg/mL olarak saptanmıştır (Çizelge 4.7., Şekil 4.16). Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusundaki en düşük toplam çözünebilir protein miktarı 250 µM konsantrasyonda 40.76±2.97 mg/mL ve en yüksek toplam çözünebilir protein miktarı kontrol grubunda 46.83±0.32 mg/mL olarak saptanmıştır. Gövde dokusunda tüm konsantrasyonlarda toplam çözünebilir protein miktarlarında kontrole göre bir azalma olduğu ancak, bu azalmaların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 17).

Tarsan 1018 çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 2. gününde kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları sırası ile 49.60±0.05 mg/mL, 47.70±0.51 mg/mL, 41.03±3.05 mg/mL, 40.80±3.26 mg/mL ve 39.00±1.51 mg/mL olarak belirlenmiştir. Tarsan 1018 çeşidinin kök dokusunda en düşük toplam çözünebilir protein miktarının 300 µM konsantrasyonda 39.00±1.51 mg/mL ve en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının ise kontrol grubunda 49.60±0.05 mg/mL olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.7., Şekil 4.16). Kök dokusunda toplam çözünebilir protein miktarının artan CdSO₄ konsantrasyonu bağlı olarak azaldığı ve toplam çözünebilir protein miktarlarında görülen bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Çizelge 4.7.).

Tarsan 1018 çeşidinde kontrol grubunda ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının birbirlerinden önemli derece farklı olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak da önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 18). Kontrol grubunda ve uygulanan tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında en yüksek toplam çözünebilir protein miktarı yaprak dokusunda belirlenmiştir (Çizelge 4.7., Şekil 4.16.).

4.3.2. Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ Uygulamasının 4. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki Toplam Çözünebilir Protein Miktarları

Dayanıklı Meriç çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları sırası ile 77.30±1.06 mg/mL, 76.26±2.63 mg/mL, 73.36±1.79 mg/mL, 67.96±1.48 mg/mL ve 64.56±0.83 mg/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8., Şekil 4.17.). Meriç çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük toplam çözünebilir protein miktarının 300 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 64.56±0.83 mg/mL

ve en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının ise kontrol grubunda 77.30 ± 1.06 mg/mL olduğu saptanmıştır. Meriç çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının uygulanan tüm Cd konsantrasyonlarında kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Yaprak dokularında $150 \mu\text{M}$ ve $200 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonlarında toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrole göre azalma gösterdiği, fakat bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Ek 19). Ancak $250 \mu\text{M}$ ve $300 \mu\text{M}$ CdSO_4 konsantrasyonlarında toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrole göre belirgin olarak azalma gösterdiği ve bu azalmanın istatistik olarak da önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 19).

Çizelge 4.8. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları (Ortalama mg/mL $\pm$ S. H.).

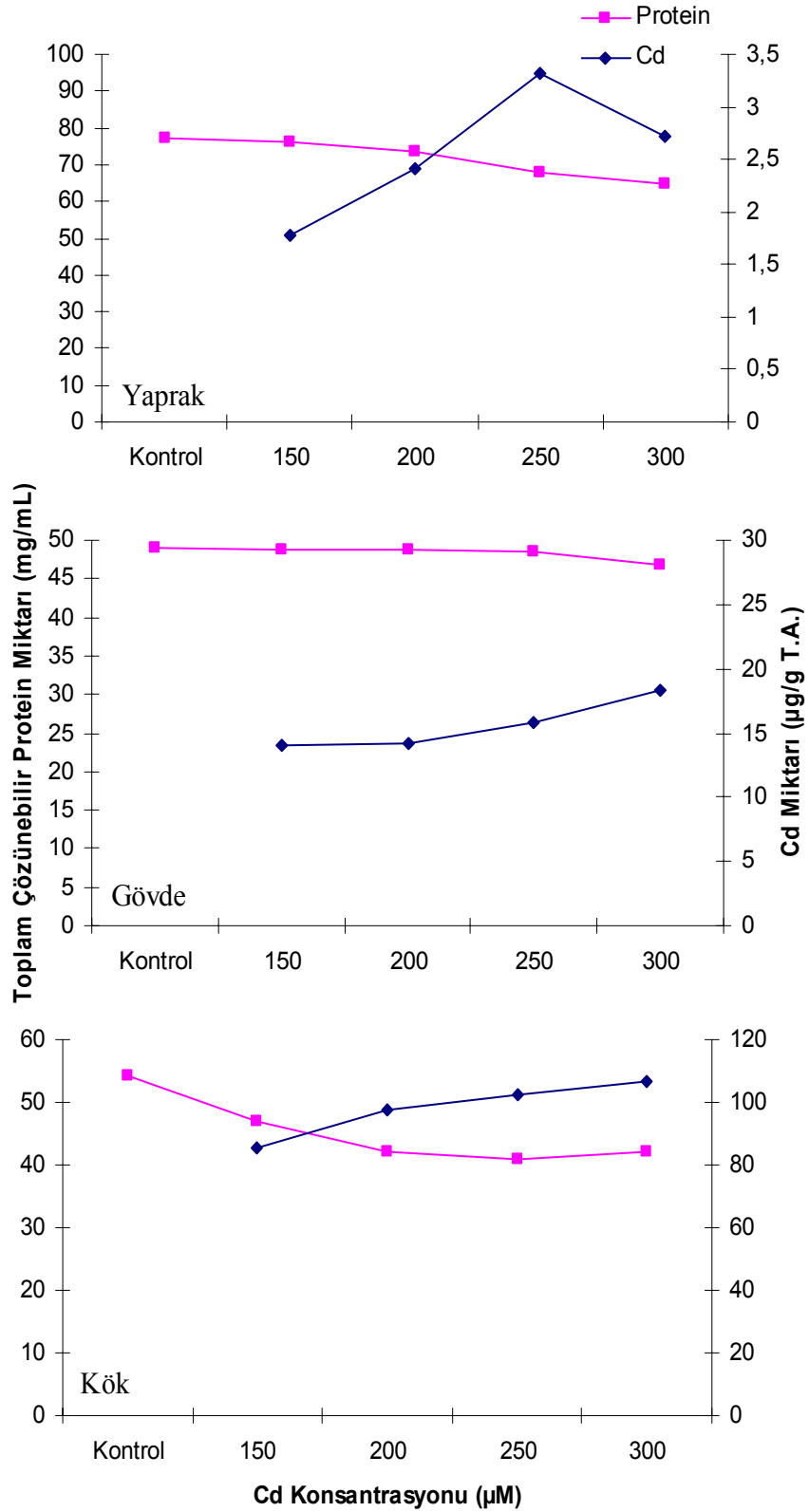
CdSO ₄ Konsantrasyonu (μM)										
Kontrol			150 μM		200 μM		250 μM		300 μM	
Cd ²⁺ Miktarı			(249 mg/5L)		(332.5 mg/5L)		(415 mg/5L)		(498 mg/5L)	
Meriç										
Yaprak	77.30±1.06	a*	76.26±2.63	a	73.36±1.79	a	67.96±1.48	b	64.56±0.83	b
	A**		A		A		A		A	
Gövde	48.90±0.28	a	48.83±0.16	a	48.80±0.15	a	48.40±0.05	a	46.73±0.68	b
	C		B		B		B		B	
Kök	54.36±2.49	a	47.00±3.87	b	42.13±0.46	b	41.03±1.08	b	42.15±0.50	b
	B		B		C		C		C	
Tarsan 1018										
Yaprak	85.83±4.66	a	81.20±1.95	b	70.63±3.89	bc	64.74±3.65	cd	57.43±3.08	d
	A		A		A		A		A	
Gövde	47.16±0.43	a	44.03±0.34	a	40.00±4.53	a	43.50±3.77	a	42.00±0.94	a
	B		B		B		B		B	
Kök	50.76±0.99	a	40.47±5.14	b	32.73±0.49	bc	29.00±1.47	c	30.13±1.33	c
	B		B		B		C		C	

n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

Meriç çeşidinin gövde dokularında kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde toplam çözünebilir protein miktarları sırası ile 48.90 ± 0.28 mg/mL, 48.83 ± 0.16 mg/mL, 48.80 ± 0.15 mg/mL, 48.40 ± 0.05 mg/mL ve 46.73 ± 0.68 mg/mL olarak belirlenmiştir. Gövde dokusundaki en düşük toplam çözünebilir protein miktarı $300 \mu\text{M}$ konsantrasyonda 46.73 ± 0.68 mg/mL ve en yüksek toplam çözünebilir protein miktarı kontrol grubunda 48.90 ± 0.28 mg/mL olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.17. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularındaki toplam çözünabilir protein ve Cd miktarı.

Meriç çeşidinde gövde dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre azalma gösterdiği, kontrol ile 150 μM , 200 μM ve 250 μM CdSO_4 konsantrasyonlarında toplam çözünebilir protein miktarları arasında istatistiksel olarak fark olmadığı, 300 μM konsantrasyonda belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının ise tüm CdSO_4 konsantrasyonlarına ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 19).

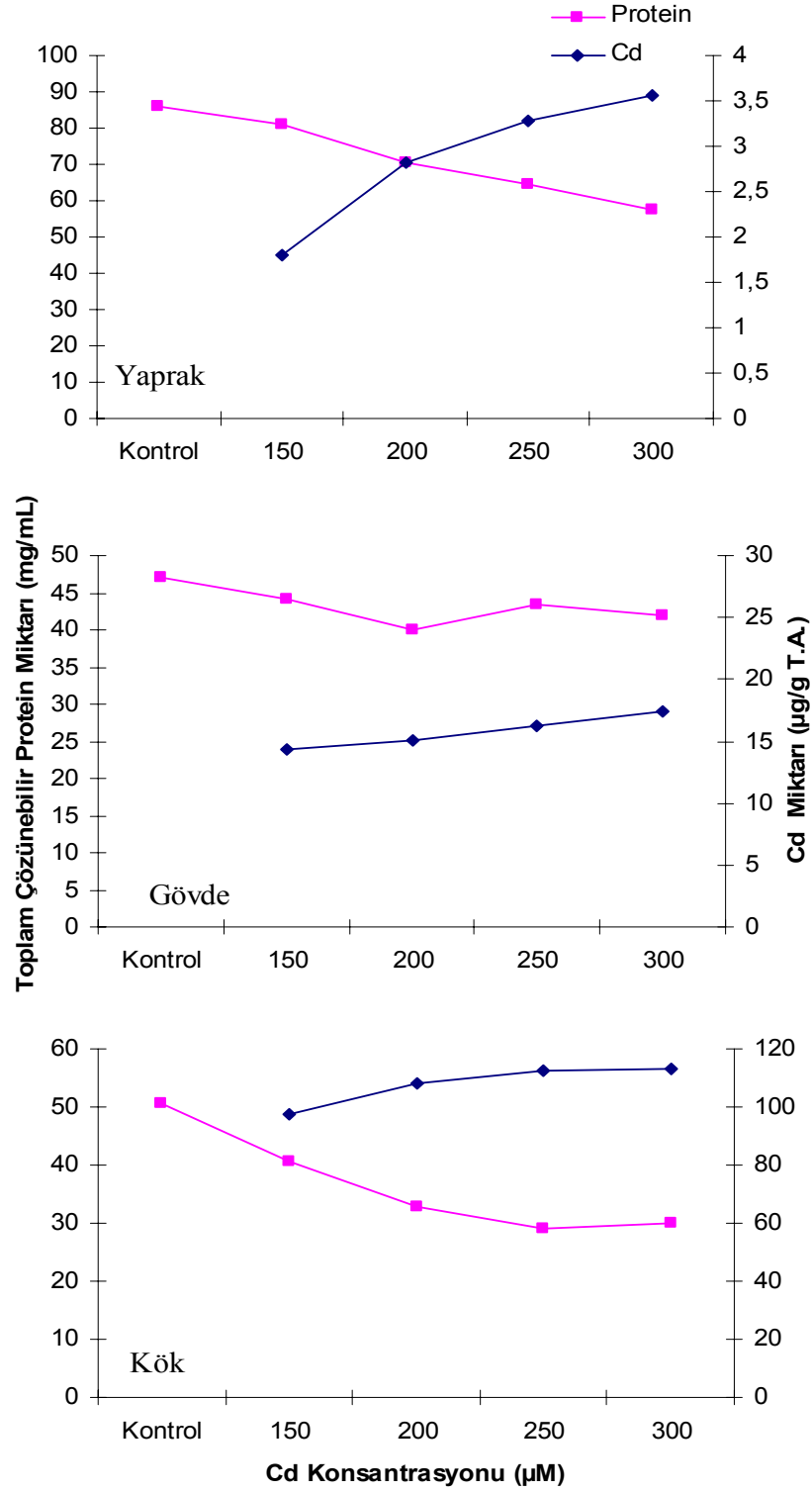
Meriç çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) CdSO_4 uygulamasının 4. gününde kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarları sırası ile 54.36 ± 2.49 mg/mL, 47.00 ± 3.87 mg/mL, 42.13 ± 0.46 mg/mL, 41.03 ± 1.08 mg/mL ve 42.15 ± 0.50 mg/mL olarak belirlenmiştir.

Kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarının en düşük değerinin 250 μM konsantrasyonda 41.03 ± 1.08 mg/mL ve en yüksek değerinin kontrol grubunda 54.36 ± 2.49 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının artan CdSO_4 konsantrasyonuna bağlı olarak azalma gösterdiği ve tüm Cd konsantrasyonlarında kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.8., Şekil 4.17). Farklı CdSO_4 konsantrasyonlarında kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları kendi içlerinde çok az değişiklikler göstermekle beraber bu değerlerin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 19).

Meriç çeşidinde uygulanan tüm CdSO_4 konsantrasyonlarında dokulardaki en yüksek toplam çözünebilir protein miktarı yaprak dokularında belirlenmiştir. Gövde dokularında toplam çözünebilir protein miktarının uygulanan tüm CdSO_4 konsantrasyonlarında kontrole göre azalma gösterdiği saptanmıştır. Yaprak, gövde ve kök dokuları birlikte incelendiğinde, toplam çözünebilir protein miktarındaki en düşük değerlerin (150 μM CdSO_4 konsantrasyonu hariç) kök dokularında olduğu belirlenmiştir. Tüm Cd konsantrasyonlarında bu farkın istatistiksel olarak da önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 20). 150 μM CdSO_4 uygulamasında ise kök ve gövde dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarının istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 20).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları sırasıyla 85.83 ± 4.66 mg/mL, 81.20 ± 1.95 mg/mL, 70.63 ± 3.89 mg/mL, 64.74 ± 3.65 mg/mL ve 57.43 ± 3.08 mg/mL olarak belirlenmiştir. Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük toplam çözünebilir protein

miktarının 300 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 57.43 ± 3.08 mg/mL ve en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının ise, kontrol grubunda 85.83 ± 4.66 mg/mL olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.8. ve Şekil 4.18.).



Şekil 4.18. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularındaki toplam çözünebilir protein ve Cd miktarı.

Tarsan 1018 çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 4. gününde yaprak dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının uygulanan tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Uygulanan CdSO₄ konsantrasyonlarının tamamında yaprak dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$, Ek 19).

Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokularında kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde toplam çözünebilir protein miktarları sırası ile 47.16±0.43 mg/mL, 44.03±0.34 mg/mL, 40.00±4.53 mg/mL, 43.50±3.77 mg/mL ve 42.00±0.94 mg/mL olarak belirlenmiştir. Gövde dokusunda toplam çözünebilir protein miktarının en düşük değerinin 200 µM konsantrasyonda 40.00±4.53 mg/mL ve en yüksek değerinin ise kontrol grubunda 47.16±0.43 mg/mL olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8., Şekil 4.18.). Farklı CdSO₄ konsantrasyonlarının, Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları üzerinde istatistiksel olarak önemli bir fark oluşturmadığı belirlenmiştir (Ek 19).

Tarsan 1018 çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarları sırası ile 50.76±0.99 mg/mL, 40.47±5.14 mg/mL, 32.73±0.49 mg/mL, 29.00±1.47 mg/mL ve 30.13±1.33 mg/mL olarak belirlenmiştir. Kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarının en düşük değerinin 250 µM konsantrasyonda 29.00±1.47 mg/mL ve en yüksek değerinin ise kontrol grubunda 50.76±0.99 mg/mL olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8. ve Şekil 4.18.). Yapılan istatistiksel analize göre, uygulanan tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrole göre istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 19).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde uygulanan tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında ve dokulardaki en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının yaprak dokularında olduğu, yaprak dokusunu sırası ile gövde ve kök dokularının (kontrol grubu hariç) izlediği saptanmıştır. Gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarının 150 µM ve 200 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemsiz olduğu ve bu değerlerin yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarından önemli ölçüde düşük oldukları belirlenmiştir (Ek 20). Tarsan 1018 çeşidinde yaprak, gövde ve kök dokularında (150 µM, 200 µM ve 250 µM konsantrasyonlarda kök ve gövde dokuları hariç) toplam çözünebilir protein miktarları arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 20).

4.3.3. Farklı CdSO₄ Konsantrasyonlarında Ayçiçeği Bitkisinde Çeşit Farklılığının ve Uygulama Zamanının Yaprak, Gövde ve Kök Dokularındaki Toplam Çözünebilir Protein Miktarları Üzerine Etkisi

Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. ve 4. günlerinde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları Çizelge 4.9'da görülmektedir. Buna göre, Meriç çeşidinin yaprak dokularında kontrol ve tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında toplam çözünebilir protein miktarlarının zamana bağlı olarak arttığı, Tarsan 1018 çeşidinde ise, kontrol grubu hariç zamana bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde zamana bağlı olarak toplam çözünebilir protein miktarları arasındaki farkların (Tarsan 1018 çeşidinde 150 µM CdSO₄ uygulanan grup hariç) istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları karşılaştırıldığında, kontrol ve tüm Cd konsantrasyonlarında Tarsan 1018 çeşidinin Meriç çeşidinden daha fazla toplam çözünebilir protein içerdiği, ancak bu değerlerin (150 µM 2. gün, 200, 250 ve 300 µM 4. gün hariç) istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Ek 21 ve 22). Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin gövde dokularında toplam çözünebilir protein miktarları birlikte incelendiğinde, Meriç çeşidinde 300 µM CdSO₄ konsantrasyonu hariç tüm konsantrasyonlarda zamana bağlı olarak toplam çözünebilir protein miktarlarının arttığı, Tarsan 1018 çeşidinde ise, 200 ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonları hariç, zamana bağlı olarak azaldığı görülmektedir. Yapılan istatistiksel analize göre, Meriç çeşidinde 150 ve 200 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında, Tarsan 1018 çeşidinde ise kontrol grubunda zamana bağlı olarak toplam çözünebilir protein miktarlarının istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$). Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasında Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin gövde dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının (2. günde 300 µM CdSO₄ uygulanan grup hariç) birbirinden istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 23 ve 24).

Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının, kontrol grubu hariç, tüm Cd konsantrasyonlarında zamana bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Meriç çeşidinde, 200 ve 250 µM CdSO₄ konsantrasyonu hariç, bu azalmaların istatistiksel olarak önemli olmadığı, Tarsan 1018 çeşidinde ise kontrol ve 150 µM CdSO₄ konsantrasyonu hariç, önemli olduğu belirlenmiştir. Kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 23 ve 24).

Çizelge 4.9. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasına bağlı olarak Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında Cd uygulamasının 2. ve 4. günlerinde belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları (Ortalama mg/mL±S.H.).

Kons. (µM)	Uygulama Zamanı	Yaprak			Gövde			Kök	
		Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018		
Kontrol	2. Gün	54.10±3.96 A**	a* 65.33±6.68 A	48.50±0.20 A	a 46.83±0.32 A	b 52.10±0.95 A	a 49.60±0.05 A		
	4. Gün	77.30±1.06 B	a 85.83±4.66 B	48.90±0.28 A	a 47.16±0.43 B	b 54.36±2.49 A	a 50.76±0.99 A		
150	2. Gün	55.60±7.10 A	a 88.10±4.37 A	48.23±0.08 A	a 43.64±0.48 A	b 50.00±0.26 A	a 47.70±0.51 A		
	4. Gün	76.26±2.63 B	a 81.20±1.95 A	48.83±0.16 B	a 44.03±0.34 A	b 47.00±3.87 A	a 40.47±5.14 A		
200	2. Gün	55.63±5.73 A	a 80.43±4.94 A	48.10±0.10 A	a 42.86±0.72 A	b 47.76±1.13 A	a 41.03±3.05 A		
	4. Gün	73.36±1.79 B	a 70.63±3.89 B	48.80±0.15 B	a 40.00±4.53 A	b 42.13±0.46 B	a 32.73±0.49 B		
250	2. Gün	64.50±8.15 A	a 79.00±5.99 A	48.36±0.14 A	a 40.76±2.97 A	b 46.60±0.47 A	a 40.80±3.26 A		
	4. Gün	67.96±1.48 A	a 64.74±3.65 B	48.40±0.05 A	a 43.50±3.77 A	b 41.03±1.08 B	a 29.00±1.47 B		
300	2. Gün	53.80±2.73 A	a 69.10±6.25 A	46.93±0.60 A	a 43.66±2.72 A	b 43.66±2.83 A	a 39.00±1.51 A		
	4. Gün	64.56±0.83 B	a 57.43±3.08 B	46.73±0.68 A	a 42.00±0.94 A	b 42.15±0.50 A	a 30.13±1.33 B		

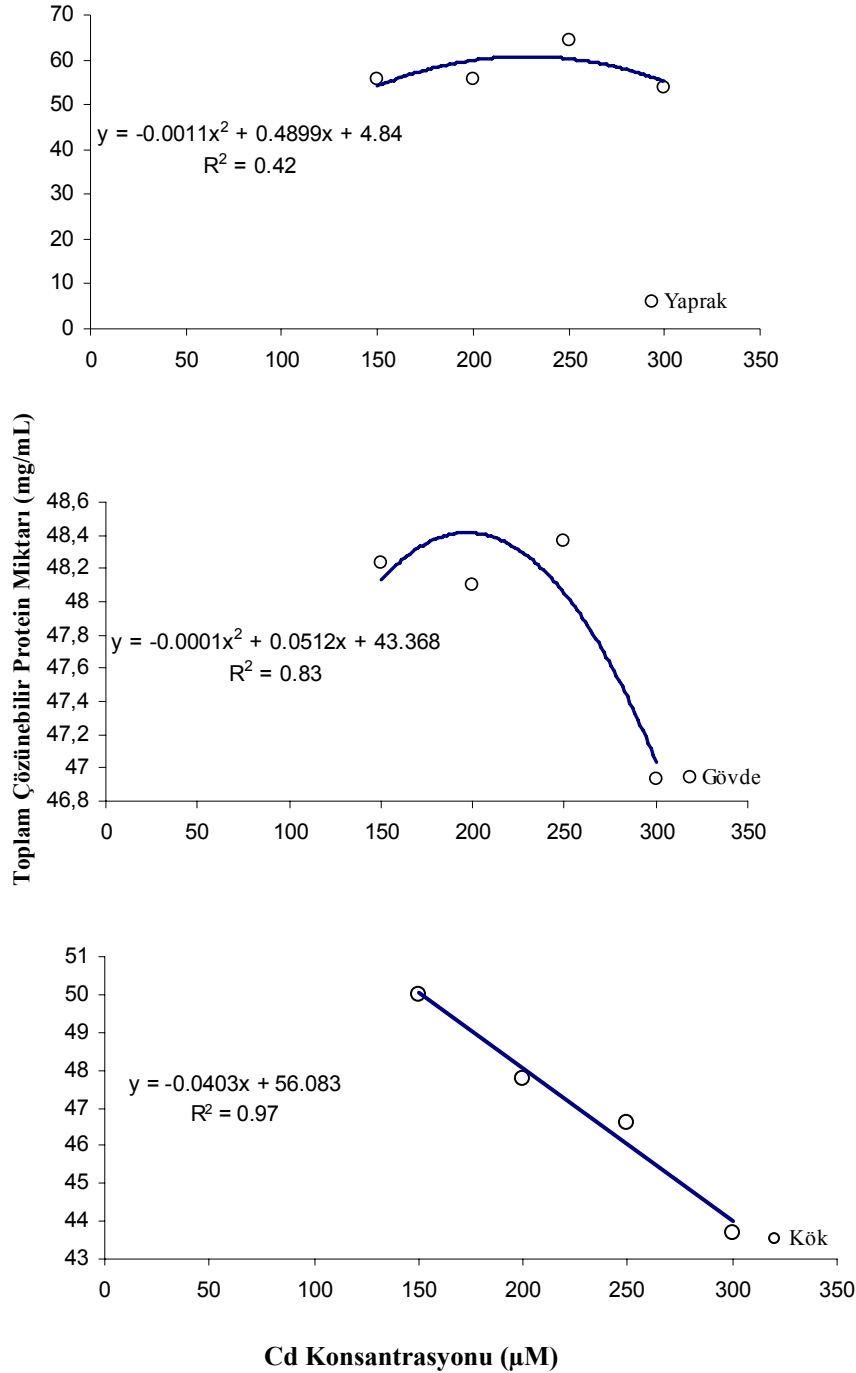
n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (T-testi: $P \leq 0.05$).

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (T-testi: $P \leq 0.05$).

4.3.4. Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO₄ Uygulamasının 2. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Cd Konsantrasyonları ile Aynı Dokularda Belirlenen Toplam Çözünebilir Protein Miktarları Arasındaki İlişki

Dayanıklı Meriç çeşidinde 2 günlük uygulama sonucunda CdSO₄ uygulamaları ile yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları arasında bir ilişki bulunmamıştır ($R^2=0.42$).



Şekil 4.19. Meriç çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında Cd konsantrasyonları ile aynı dokularda belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları arasındaki ilişki.

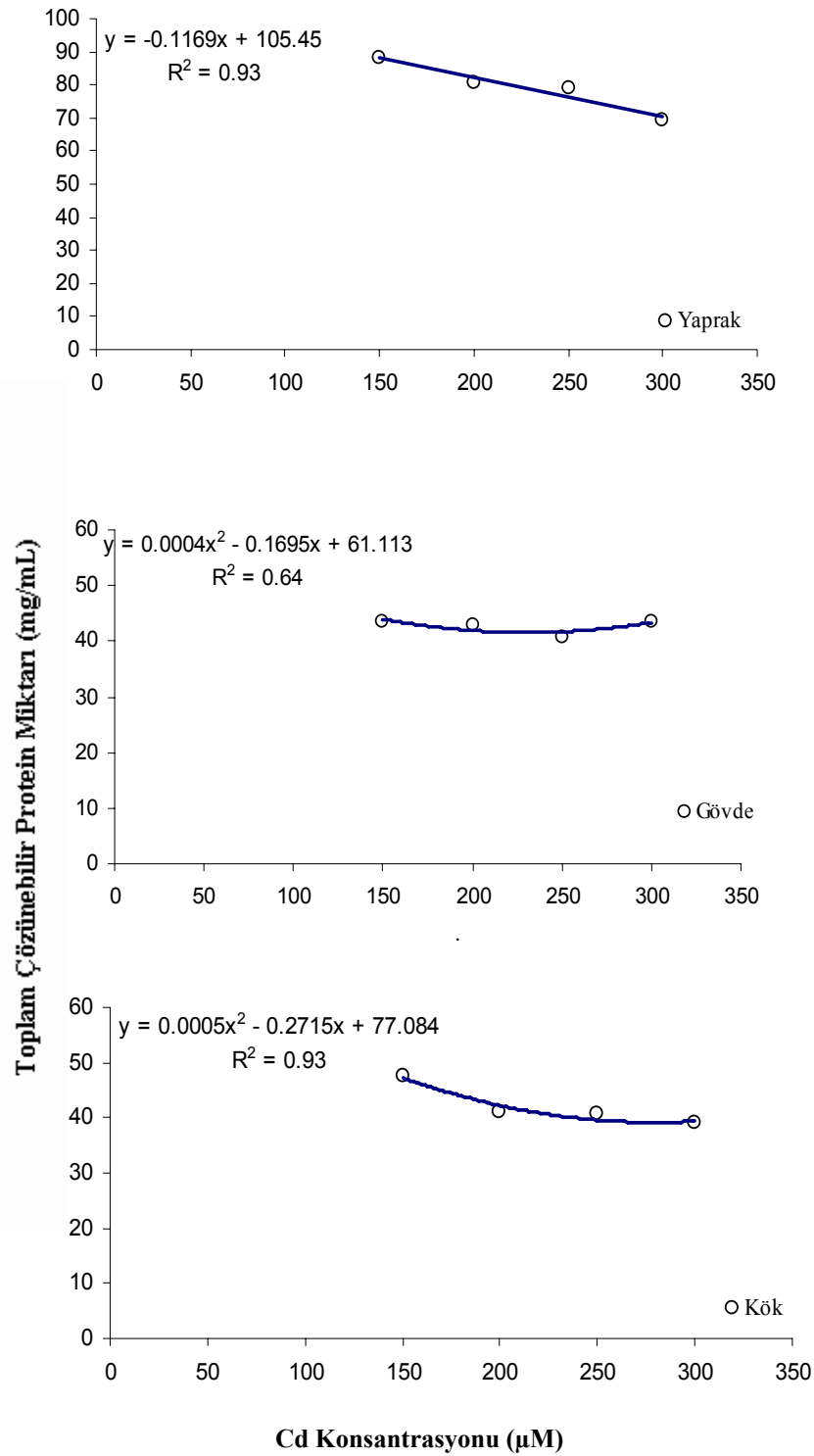
Meriç çeşidinde gövde dokularında CdSO₄ uygulamasının 2. gününde belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları farklı konsantrasyonlarda artan ve azalan bir seyir göstermiştir (Şekil 4.19). Yapılan istatistiksel analize göre, bu artma ve azalmaların CdSO₄ uygulama konsantrasyonlarına bağlı olduğu belirlenmiş ve CdSO₄ konsantrasyonları ile gövde dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları arasında “S” regresyon bulunmuştur ($R^2=0.83$, $P\leq 0.05$).

Kök dokularda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları ile CdSO₄ uygulama konsantrasyonları arasında bir ilişkinin olduğu belirlenmiş ve konsantrasyonlar arttıkça dokularda belirlenen toplam çözünebilir protein miktarının doğrusal bir şekilde azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.19). Belirlenen ilişkinin doğrusal regresyon oluşturduğu ve istatistiksel olarak da önemli olduğu saptanmıştır ($R^2=0.97$, $P\leq 0.05$).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde yaprak dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları ile CdSO₄ uygulama konsantrasyonları arasında bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.20.) ($R^2=0.97$, $P\leq 0.05$). Buna göre, artan CdSO₄ konsantrasyonlarına bağlı olarak yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarının doğrusal olarak azaldığı ve sonuç olarak duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde yaprak dokularının, kök ve gövde dokularına kıyasla CdSO₄ uygulamasından daha fazla etkilendiği saptanmıştır.

Gövde dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları ile CdSO₄ uygulama konsantrasyonları arasında ilişki olmadığı belirlenmiştir ($R^2=0.64$).

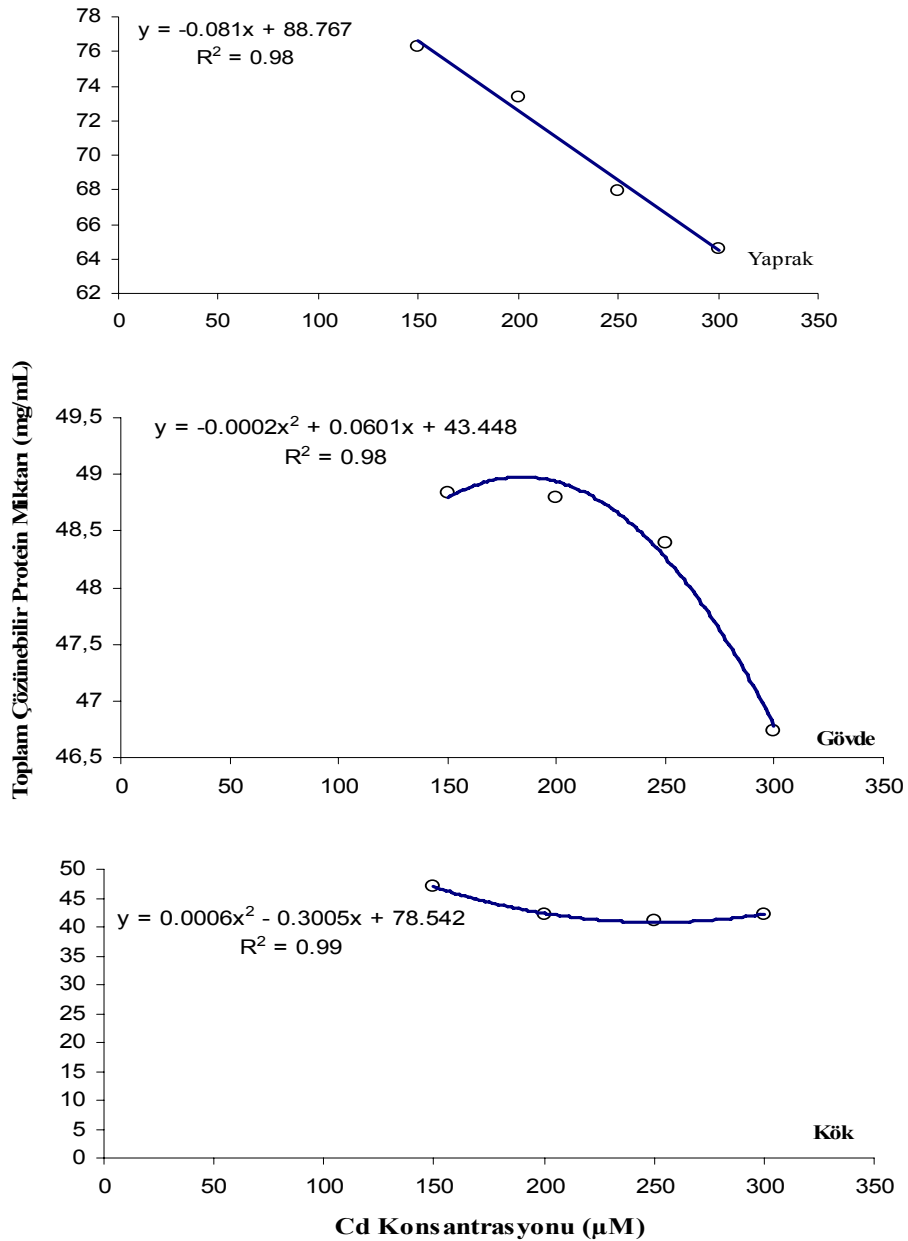
Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları 150 µM Cd konsantrasyonundan başlayarak, 200 ve 250 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonuna kadar azalma gösterdiği belirlenmiştir. Kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları ile CdSO₄ uygulama konsantrasyonları arasında bir ilişki belirlenmiş ve bu ilişki istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($R^2=0.93$, $P\leq 0.05$). Bu ilişki ile Tarsan 1018 çeşidinin kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının 250 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonundan daha düşük konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasına maruz kaldıklarında azalabileceği, daha yüksek konsantrasyonlarda ise azalmanın yavaşlayarak bir noktada durabileceği sonucuna varılmıştır (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Tarsan 1018 çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında Cd konsantrasyonları ile aynı dokularda belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları arasındaki ilişki.

4.3.5. Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO₄ Uygulamasının 4. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Cd Konsantrasyonları ile Aynı Dokularda Belirlenen Toplam Çözünabilir Protein Miktarları Arasındaki İlişki

Dokularda belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları ile CdSO₄ uygulama konsantrasyonları arasındaki ilişkinin düzeyi CdSO₄ uygulama süresinin artmasıyla doğru orantılı olarak artış göstermiştir (Şekil 4.21. ve 4.22.).



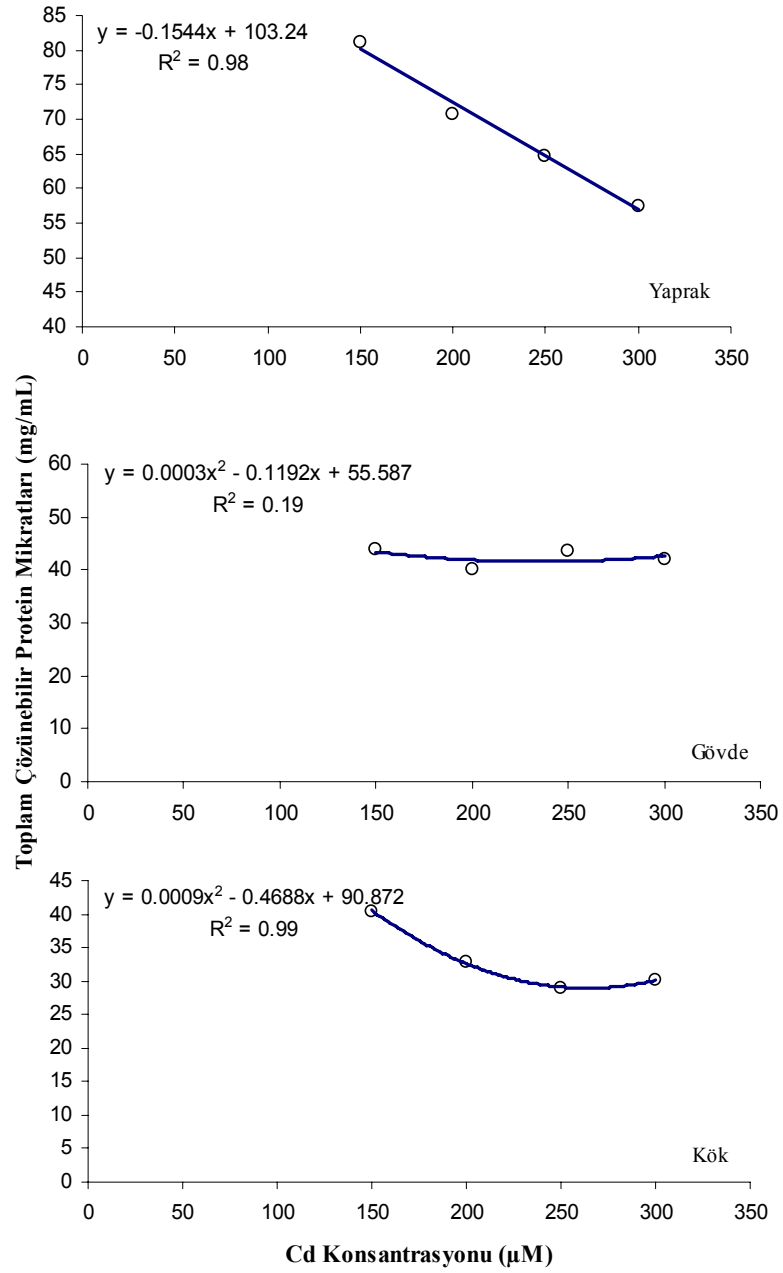
Şekil 4.21. Meriç çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında Cd konsantrasyonları ile aynı dokularda belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları arasındaki ilişki.

Dayanıklı Meriç çeşidinde yaprak dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının CdSO₄ uygulama konsantrasyonlardaki artışa paralel olarak azaldığı saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analizde CdSO₄ uygulama konsantrasyonları ile toplam çözünebilir protein miktarları arasında ilişkinin olduğu belirlenmiş ve bu ilişki istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($R^2=0.98$, $P\leq 0.05$). Belirlenen regresyona göre Meriç çeşidinde 4 günlük CdSO₄ uygulamasında, dokulardaki toplam çözünebilir protein miktarlarının CdSO₄ konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.21).

Meriç çeşidinin gövde dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. CdSO₄ konsantrasyonları ile toplam çözünebilir protein miktarları arasındaki ilişki doğrusal olmayan polinomial regresyon ile ifade edilmiştir ($R^2=0.98$, $P\leq 0.05$). Bu regresyona göre, gövde dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının, 200 µM CdSO₄ konsantrasyonlarına kadar olan konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamalarından düşük düzeyde etkilendiği ancak CdSO₄ konsantrasyonu yükseltildiğinde bir azalma eğilimi gösterebileceği belirlenmiştir (Şekil 4.21).

Meriç çeşidinde kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının, 150 µM Cd konsantrasyonundan başlayarak, 200 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonuna kadar önemli bir azalma gösterdiği ancak 250 ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonunda bu azalmanın düz bir seyir izlediği belirlenmiştir (Şekil 4.21.). Kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları ile CdSO₄ uygulama konsantrasyonları arasında bir ilişki belirlenmiş ve bu ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0.99$, $P\leq 0.05$).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde CdSO₄ konsantrasyonlarına bağlı olarak, yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarının azaldığı, belirlenen ilişkinin doğrusal regresyon oluşturduğu ve istatistiksel olarak da önemli olduğu bulunmuştur (Şekil 4.22.) ($R^2=0.97$, $P\leq 0.05$). Oluşturulan regresyon modeline göre Tarsan 1018 çeşidinde, Meriç çeşidindekine benzer şekilde 4 günlük CdSO₄ uygulamasında, dokulardaki toplam çözünebilir protein miktarlarının Cd konsantrasyonlarındaki artış ile sürekli düşebileceği belirlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Tarsan 1018 çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında Cd konsantrasyonları ile aynı dokularda belirlenen toplam çözünabilir protein miktarları arasındaki ilişki.

Tarsan 1018 çeşidinde gövde dokularındaki toplam çözünabilir protein miktarlarının, CdSO_4 uygulama konsantrasyonlarından az miktarda etkilendiği artma ve azalmalar gösterdiği belirlenmiştir. Bu artma ve azalmalar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Yapılan analizde, Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokularındaki toplam

çözünebilir protein miktarları ile Cd konsantrasyonları arasında bir ilişki belirlenmemiştir ($R^2=0.19$).

Tarsan 1018 çeşidinde kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları Cd konsantrasyonlarına bağlı olarak bu uygulama süresinde 2 günlük uygulama süresine paralel bir değişim göstermiştir. Kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarı 150 μM Cd konsantrasyonundan başlayarak, 200 ve 250 μM CdSO_4 uygulama konsantrasyonuna kadar bir azalma göstermiş, ancak bu hızlı azalma 300 μM Cd konsantrasyonunda azalarak düz bir seyir izlemiştir (Şekil 4.22). Kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları ile CdSO_4 uygulama konsantrasyonları arasında doğrusal olmayan polinomial regresyon oluşmuş ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0.99$, $P\leq 0.05$).

4.4. Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ Uygulanmış Ayçiçeği Bitkilerinin Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Konsantrasyona ve Zamana Bağlı Olarak NO Düzeyleri

Meriç ve Tarsan 1018 ayçiçeği çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeyleri, genel olarak uygulanan tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında kontrole göre artış göstermiş ve bu artış üzerinde, uygulanan CdSO₄ konsantrasyonları sonucu dokularda biriken Cd miktarlarının ve uygulamanın süresinin etkili olduğu belirlenmiştir.

4.4.1. Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ Uygulamasının 2. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 Çeşitlerinin Farklı Dokularındaki NO Düzeyleri

Dayanıklı Meriç çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak dokularındaki NO düzeyleri sırasıyla 66.06±2.66 µM, 70.54±0.86 µM, 83.95±0.90 µM, 88.33±0.72 µM ve 94.98±1.49 µM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.23). Meriç çeşidinin yaprak dokularında, artan CdSO₄ konsantrasyonlarında NO düzeyleri bu dokuda biriken Cd miktarlarındaki artışa bağlı olarak artış göstermiştir. Yapılan istatistiksel analize göre, yaprak dokusunda (kontrol ve 150 µM ile 200 ve 250 µM CdSO₄ uygulanan gruplar hariç) konsantrasyonlar arasında meydana gelen NO düzeylerindeki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P≤0.05, Ek 25).

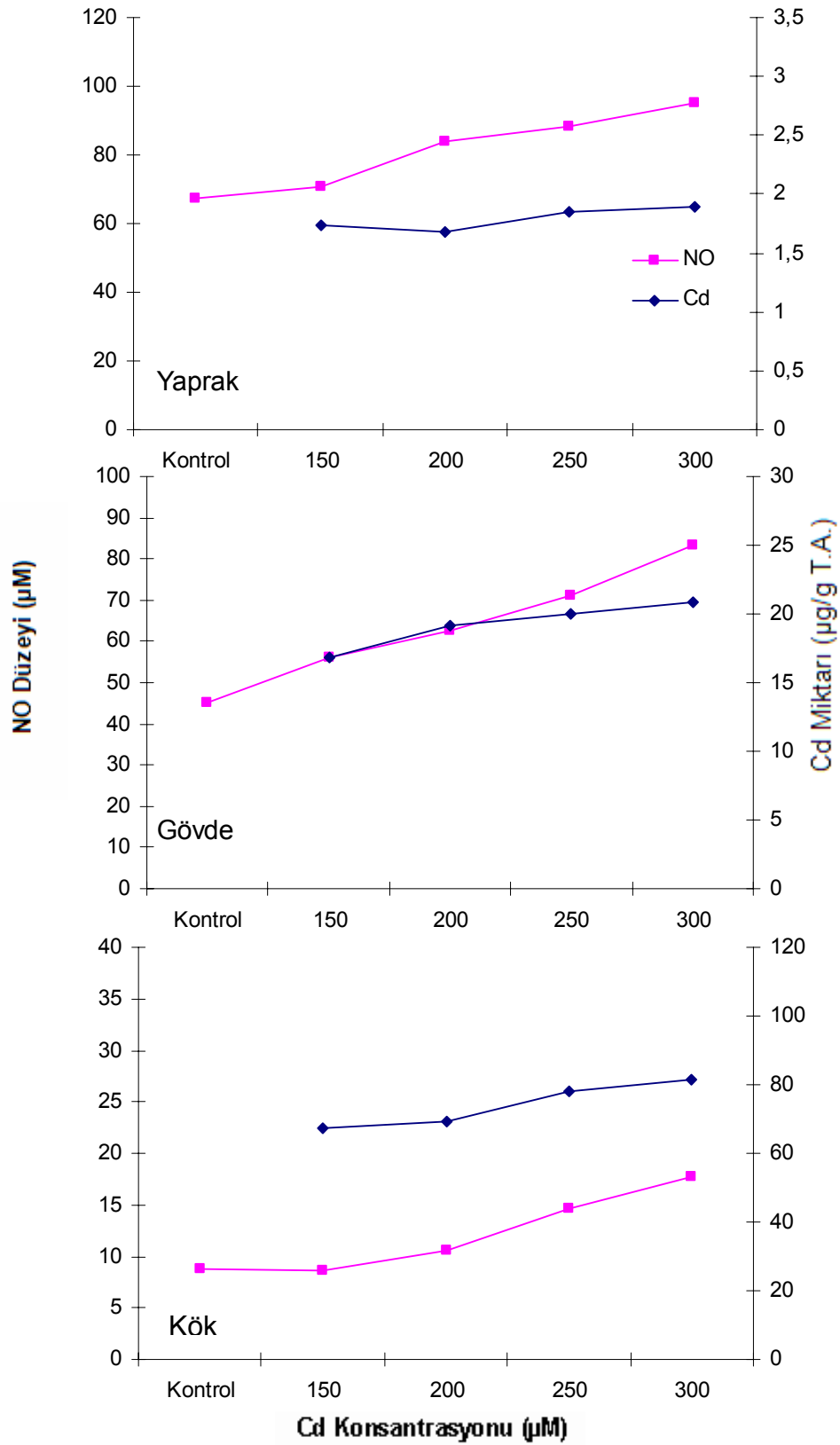
Çizelge 4.10. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen NO düzeyleri (Ortalama µM±S.H.).

CdSO ₄ Konsantrasyonu (µM)										
Kontrol			150 µM		200 µM		250 µM		300 µM	
Cd ²⁺ Miktarı			(249 mg/5L)		(332.5 mg/5L)		(415 mg/5L)		(498 mg/5L)	
Meriç										
Yaprak	66.06±2.66	a*	70.54±0.86	a	83.95±0.9	b	88.33±0.72	b	94.98±1.49	c
	A**		A		A		A		A	
Gövde	45.30±1.32	a	56.09±1.87	b	62.66±0.50	c	71.04±0.84	d	83.40±2.41	e
	B		B		B		B		B	
Kök	8.75±0.31	a	8.62±0.29	a	10.59±0.69	a	14.69±1.58	b	17.76±0.72	c
	C		C		C		C		C	
Tarsan 1018										
Yaprak	40.30±0.49	a	41.50±0.67	ab	45.62±3.47	ab	46.45±0.73	b	54.95±0.61	c
	A		A		A		A		A	
Gövde	36.52±1.68	c	22.08±0.39	a	26.76±2.16	b	28.44±0.55	b	30.72±1.29	b
	B		B		B		B		B	
Kök	4.24±0.56	a	4.16±0.84	a	6.66±0.67	b	9.74±1.00	c	8.73±0.58	bc
	C		C		C		C		C	

n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, P≤ 0.05)

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, P≤ 0.05)



Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularındaki NO düzeyi ve Cd miktarı.

Meriç çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde gövde dokularındaki NO düzeylerinin yaprak dokusuna benzer şekilde artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı ve sırasıyla 45.30±1.32 µM, 56.09±1.87 µM, 62.66±0.50 µM, 71.04±0.84 µM ve 83.40±2.41 µM olduğu belirlenmiştir. Gövde dokularında en düşük NO düzeyinin kontrol grubunda 45.30±1.32 µM, en yüksek NO düzeyinin ise 300 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 83.40±2.41 µM olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.10, Şekil 4.23). Yapılan istatistik analize göre, Meriç çeşidinin gövde dokusunda artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak NO düzeylerindeki artışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır (P<0.05, Ek 25).

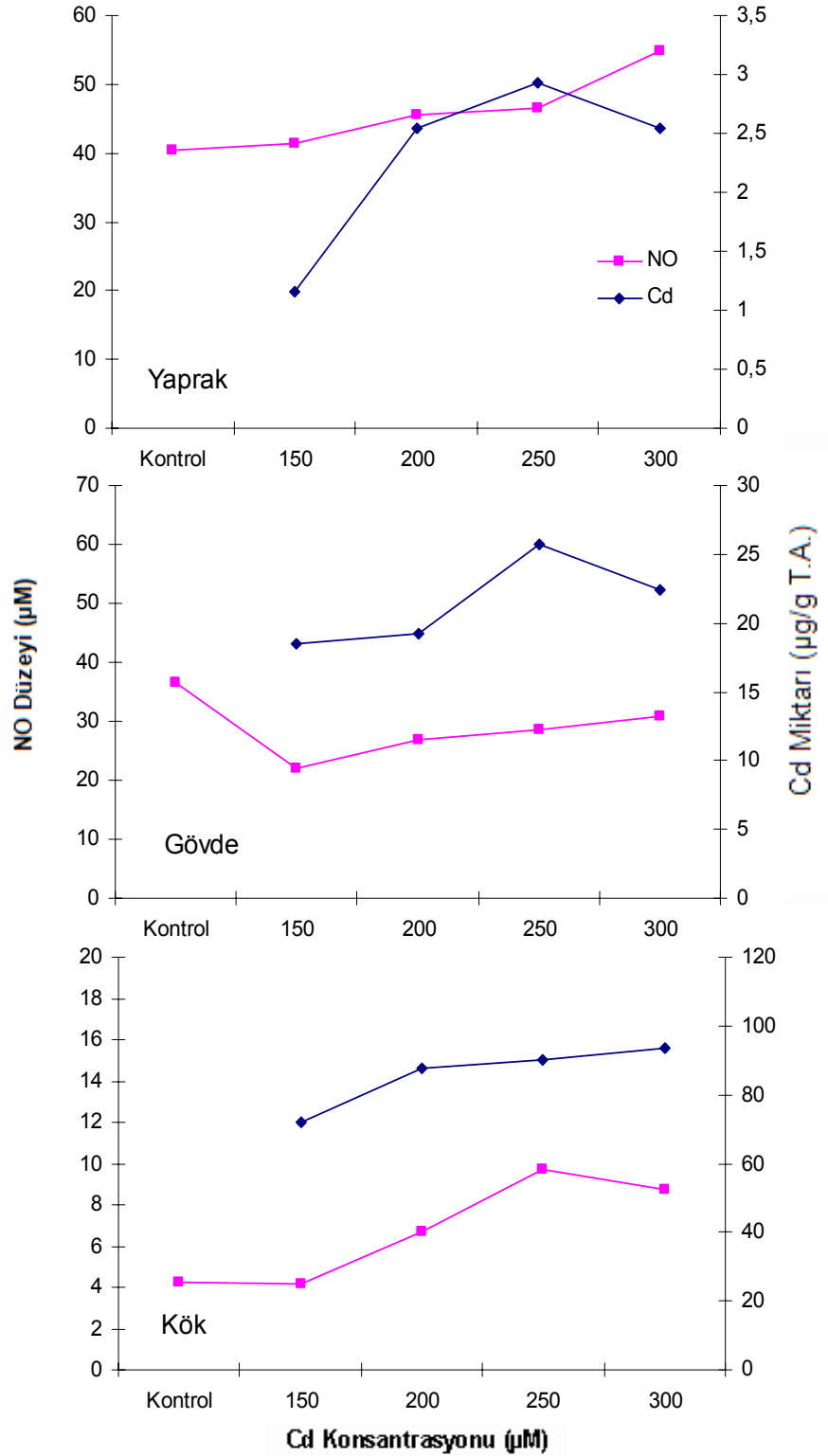
Meriç çeşidinin kök dokularında, NO düzeyinin artan Cd konsantrasyonu ile birlikte dokularda biriken Cd miktarları (150 µM CdSO₄ uygulanan grup hariç) ile paralel bir artış gösterdiği saptanmıştır. Kök dokularındaki en düşük NO düzeyinin kontrol grubunda 8.75±0.31 µM olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.23). Kontrol grubunda belirlenen NO düzeyi 150 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonunda düşüş göstermiş, 200 µM CdSO₄ uygulamasında ise yükselerek 10.59±0.69 µM düzeyine gelmiştir. Bu konsantrasyondan sonra NO düzeyleri hızla yükselmiş ve 250 ve 300 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonlarında sırasıyla 14.69±1.58 µM, 17.76±0.72 µM olarak saptanmıştır. Yapılan istatistik analize göre, kök dokusunda 150 µM ve 200 µM CdSO₄ konsantrasyonunda belirlenen NO düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olmadığı, 250 ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında elde edilen NO düzeylerinin ise birbirine ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05, Ek 25).

Meriç çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde tüm konsantrasyonlarda yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeylerinin istatistiksel olarak önemli olduğu, en yüksek NO düzeyinin yaprak dokularında olduğu, bu dokuyu sırasıyla gövde ve kök dokularının izlediği belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak dokularındaki NO düzeylerinin kontrole göre arttığı ve sırası ile 40.30±0.49, 41.50±0.67, 45.62±3.47, 46.45±0.73 ve 54.95±0.61 µM olduğu belirlenmiştir. Yaprak dokusundaki en yüksek NO düzeyinin 300 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 54.95±0.61 µM olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.10. ve Şekil 4.24).

Yapılan istatistik analize göre, Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokusunda 300 µM Cd konsantrasyonunda belirlenen NO düzeylerinin diğer CdSO₄ konsantrasyonlarına göre istatistiksel olarak önemli olduğu (P≤0.05), kontrol ve diğer uygulama

konsantrasyonlarında belirlenen NO düzeylerinin ise, istatistiksel olarak birbirlerinden önemli olmadığı belirlenmiştir (Ek 25).



Şekil 4.24. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularındaki NO düzeyi ve Cd miktarı.

Tarsan 1018 eşidinin gövde dokusunda kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 2. günündeki NO düzeyleri sırası ile 36.52±1.68 µM, 22.08±0.39 µM, 26.76±2.16 µM, 28.44±0.55 µM ve 30.72±1.29 µM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.24.). Tarsan 1018 eşidinin gövde dokusunda NO düzeylerinin kontrole göre azalma gösterdiği ve en düşük NO düzeyinin 150 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 22.08±0.39 µM olduğu saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analize göre, gövde dokusunda tüm konsantrasyonlarda NO düzeylerinde kontrole göre bir azalma olduğu ve bu azalmaların kontrolden istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05, Ek 25) .

Tarsan 1018 eşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 2. gününde kök dokularındaki NO düzeyleri sırasıyla 4.24±0.56 µM, 4.16±0.84 µM, 6.66±0.67 µM, 9.74±1.00 µM ve 8.73±0.58 µM olarak belirlenmiştir. Tarsan 1018 eşidinin kök dokusunda, 150 µM CdSO₄ konsantrasyonu hariç, artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak NO düzeylerinin kontrole göre arttığı ve en yüksek değerin 250 µM CdSO₄ konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10. ve Şekil 4.24.).

Tarsan 1018 eşidinde kontrol grubunda ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeylerinin birbirlerinden önemli derece farklı olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak da önemli olduğu belirlenmiştir (P≤0.05, Ek 26). Kontrol grubunda ve uygulanan tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında en yüksek NO düzeyi yaprak dokularında belirlenirken, en düşük NO sentezinin kök dokularında gerçekleştiği saptanmıştır (Çizelge 4.10).

4.4.2. Kontrol ve Farklı Konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ Uygulamasının 4. Gününde Ayçiçeği Bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 eşitlerinin Farklı Dokularındaki NO Düzeyleri

Dayanıklı Meriç eşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde yaprak dokularındaki NO düzeyleri sırası ile 66.77±0.9 µM, 84.20±1.87 µM, 93.95±0.93 µM, 98.85±0.89 µM ve 104.31±0.9 µM olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.11.'den de görüldüğü gibi tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında yaprak dokusundaki NO düzeylerinin kontrole göre artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak da önemli olduğu belirlenmiştir (P≤0.05, Ek

27). Meriç çeşidinin yaprak dokularındaki en düşük NO düzeyi kontrol grubunda belirlenirken, en yüksek NO düzeyi ise 300 µM Cd konsantrasyonunda saptanmıştır.

Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde Meriç çeşidinin gövde dokularındaki NO düzeylerinin artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiği ve sırası ile 46.30±1.72 µM, 58.76±0.28 µM, 70.04±0.81 µM, 80.70±0.51 µM ve 85.06±1.86 µM olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11., Şekil 4.25.). Yapılan istatistiksel analize göre, gövde dokusunda tüm konsantrasyonlarda belirlenen NO düzeylerinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 27).

Çizelge 4.11. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin farklı dokularında belirlenen NO düzeyleri (Ortalama µM±S.H.).

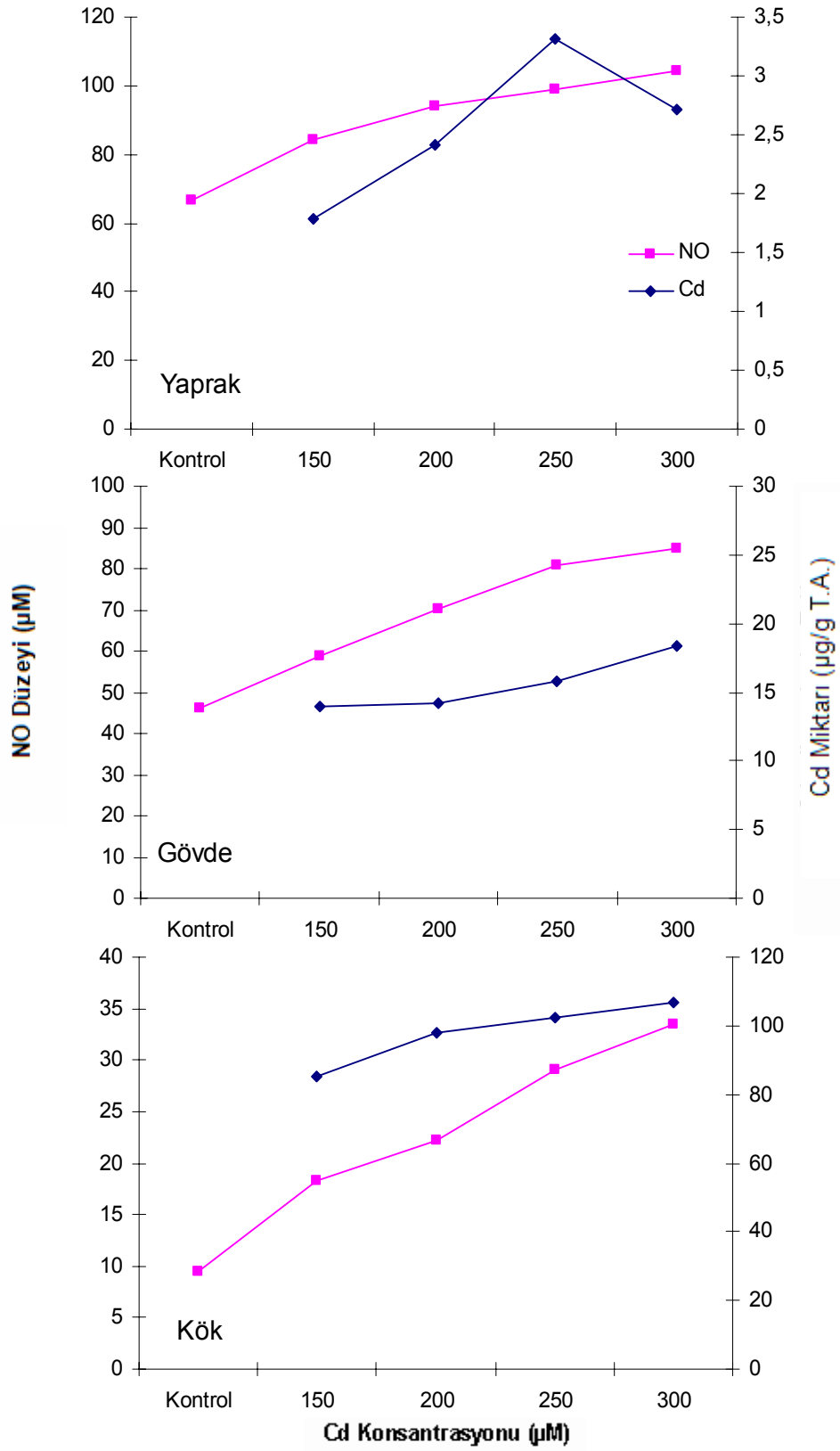
Cd Konsantrasyonu (µM)										
Kontrol			150 µM		200 µM		250 µM		300 µM	
Cd ²⁺ Miktarı			(249 mg/5L)		(332.5 mg/5L)		(415 mg/5L)		(498 mg/5L)	
Meriç										
Yaprak	66.77±0.9 A**	a*	84.20±1.87 A	b	93.95±0.93 A	c	98.85±0.89 A	d	104.31±0.9 A	e
Gövde	46.30±1.72 B	a	58.76±0.28 B	b	70.04±0.81 B	c	80.70±0.51 B	d	85.06±1.86 B	e
Kök	9.40±1.16 C	a	18.29±0.51 C	b	22.26±0.97 C	c	29.02±0.85 C	d	33.43±0.61 C	e
Tarsan 1018										
Yaprak	44.97±2.68 A	a	45.83±0.35 A	a	47.96±2.71 A	ab	52.79±3.90 A	ab	55.62±0.86 A	b
Gövde	34.87±0.80 B	b	24.75±0.51 B	a	25.35±0.57 B	a	41.77±3.68 B	c	64.05±2.73 B	d
Kök	5.64±1.32 C	a	14.16±0.84 C	b	15.33±1.25 C	b	16.07±0.86 C	b	16.40±0.26 C	b

n=3

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar istatistik olarak önemlidir (Duncan testi, $P \leq 0.05$)

Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde Meriç çeşidinin kök dokusundaki NO düzeyleri sırası ile 9.40±1.16 µM, 18.29±0.51 µM, 22.26±0.97 µM, 29.02±0.85 µM ve 33.43±0.61 µM olarak belirlenmiştir. Kök dokusunda da gövde ve yaprak dokusuna benzer şekilde artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak NO düzeylerinin belirgin bir artış gösterdiği ve bu artışların istatistiksel olarak da önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 27). Kök dokusunda en düşük NO düzeyinin kontrol grubunda 9.40±1.16 µM iken, en yüksek NO düzeyinin 300 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 33.43±0.61 µM olduğu saptanmıştır.

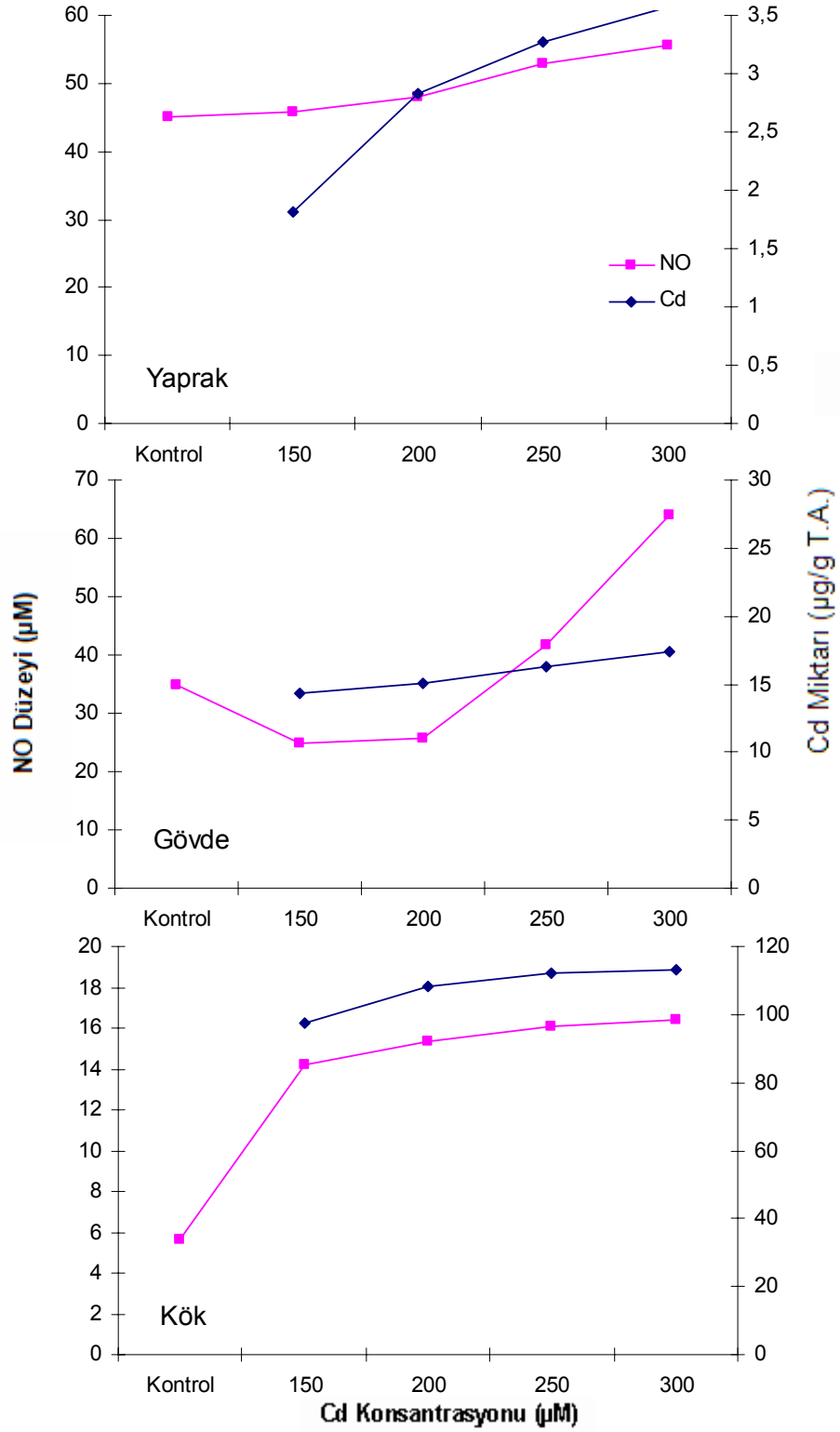


Şekil 4.25. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç çeşidinin farklı dokularındaki NO düzeyi ve Cd miktarı.

Meriç eşidinde uygulanan tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında en yüksek NO düzeyinin yaprak dokusunda olduğu ve bu dokuyu sırası ile gövde ve kök dokularının izlediği belirlenmiştir (izelge 4.11). Yapılan istatistiksel analize göre, kontrol ve tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeylerin arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 28). Meriç eşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde en yüksek NO düzeyinin yaprak dokusunda 300 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 104.31 ± 0.9 µM ve en düşük NO düzeyinin ise kök dokusunda kontrol grubunda 9.40 ± 1.16 µM olduğu belirlenmiştir.

Tarsan 1018 eşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde yaprak dokusundaki NO düzeyleri sırası ile 44.97 ± 2.68 µM, 45.83 ± 0.35 µM, 47.96 ± 2.71 µM, 52.79 ± 3.90 µM ve 55.62 ± 0.86 µM olarak belirlenmiştir (izelge 4.11. ve Şekil 4.26.). Yaprak dokularında artan CdSO₄ konsantrasyonunun dokularda sentezlenen NO düzeyleri üzerinde artırıcı bir etki gösterdiği belirlenmiş ancak bu artış 250 µM CdSO₄ uygulama konsantrasyonuna kadar sınırlı düzeyde kalmıştır. Yaprak dokusunda en yüksek NO düzeyi 300 µM Cd uygulama konsantrasyonunda 55.62 ± 0.86 µM olarak belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analize göre, kontrol ve 150 µM ile 300 µM CdSO₄ konsantrasyonu arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$, Ek 27).

Tarsan 1018 eşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde gövde dokusundaki NO düzeyleri sırası ile 34.87 ± 0.80 µM, 24.75 ± 0.51 µM, 25.35 ± 0.57 µM, 41.77 ± 3.68 µM, 64.05 ± 2.73 µM olarak belirlenmiştir. Gövde dokusunda NO düzeylerinin 150 ve 200 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında kontrole göre bir azalma gösterdiği, 250 ve 300 µM Cd konsantrasyonlarında ise kontrole göre bir artış gösterdiği saptanmıştır (izelge 4.11. ve Şekil 4.26.). Tarsan 1018 eşidinin gövde dokularındaki en düşük NO düzeyi 150 µM Cd konsantrasyonunda 24.75 ± 0.51 µM, en yüksek NO düzeyi ise, 300 µM Cd konsantrasyonunda 64.05 ± 2.73 µM olarak saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analize göre, tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında (150 ve 200 µM CdSO₄ konsantrasyonları arası hariç) belirlenen NO düzeyleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 27).



Şekil 4.26. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Tarsan 1018 çeşidinin farklı dokularındaki NO düzeyi ve Cd miktarı.

Tarsan 1018 çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde kök dokularında NO düzeyleri sırası ile 5.64 $\pm$ 1.32 μ M, 14.16 $\pm$ 0.84 μ M, 15.33 $\pm$ 1.25 μ M, 16.07 $\pm$ 0.86 μ M ve 16.40 $\pm$ 0.26 μ M olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.26.). Kök dokularında en düşük NO düzeyinin kontrol grubunda (5.64 $\pm$ 1.32 μ M), en yüksek NO düzeyinin ise 300 μ M CdSO₄ konsantrasyonunda (16.40 $\pm$ 0.26 μ M) olduğu bulunmuştur. Yapılan istatistik analize göre, NO düzeylerinin artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre bir artış gösterdiği ve tüm konsantrasyonlarda belirlenen NO düzeyleri arasındaki farklılıkların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 27).

Tarsan 1018 çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamalarında en yüksek NO düzeyinin yaprak dokularında olduğu, yaprak dokusunu sırası ile gövde ve kök dokularının izlediği saptanmıştır. Kontrol ve tüm Cd konsantrasyonlarında yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeyleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 28).

4.4.3. Farklı CdSO₄ Konsantrasyonlarında Ayçiçeği Bitkisinde Çeşit Farklılığının ve Uygulama Zamanının Yaprak, Gövde ve Kök Dokularındaki NO Düzeyleri Üzerine Etkisi

Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulanmış Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak dokularında NO düzeylerinin zamana bağlı olarak değişimi incelendiğinde (Çizelge 4.12), her iki çeşidin yaprak dokularında belirlenen NO düzeylerinin zamana bağlı olarak artış gösterdiği, dayanıklı Meriç çeşidinde kontrol hariç bu artışların istatistiksel olarak önemli olmasına karşın duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde sadece 150 μ M CdSO₄ konsantrasyonunda istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$, Ek 29 ve 30). Çizelge 4.12 incelendiğinde, kontrol ve farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamalarının hem 2. hem de 4. günlerinde Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak dokularında belirlenen NO düzeyleri karşılaştırıldığında, bu çeşitlerin yaprak dokularında belirlenen NO düzeylerinin istatistiksel olarak önemli olduğu ($P \leq 0.05$) ve Meriç çeşidinde NO düzeylerinin tüm konsantrasyonlarda Tarsan 1018 çeşidinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Meriç eşidinin gövde dokularında tüm konsantrasyonlarda uygulama zamanına bağlı olarak NO düzeylerinin arttığı ancak bu artışın 200 ve 250 µM CdSO₄ uygulanan grup dışında istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır. Tarsan 1018 eşidinde ise, NO düzeylerinin zamana bağlı olarak artış gösterdiği ve bu artışların (kontrol ve 200 µM CdSO₄ konsantrasyonları hariç) istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Her iki çeşit karşılaştırıldığında tüm Cd konsantrasyonlarında ve tüm uygulama zamanlarında gövde dokularında belirlenen NO düzeyleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$, Ek 31 ve 32).

Meriç ve Tarsan 1018 eşitlerinin kök dokularında uygulama zamanına bağlı olarak NO düzeylerinin arttığı (Tarsan 1018 eşidinde 300 µM CdSO₄ uygulanan grup hariç) ve bu artışların Meriç eşidinde Tarsan 1018 çeşidine göre daha belirgin olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistik analize göre, hem Meriç hem de Tarsan 1018 eşitlerinde, kontrol grubu hariç, tüm CdSO₄ konsantrasyonlarında zamana bağlı olarak NO düzeylerindeki artışın önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Her iki çeşit karşılaştırıldığında kök dokularında tüm Cd konsantrasyonları ve uygulama sürelerinde belirlenen NO düzeyleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$).

Çizelge 4.12. Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasına bağlı olarak Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında Cd uygulamasının 2. ve 4. günlerinde belirlenen NO düzeyleri (Ortalama $\mu\text{M}\pm\text{S.H.}$).

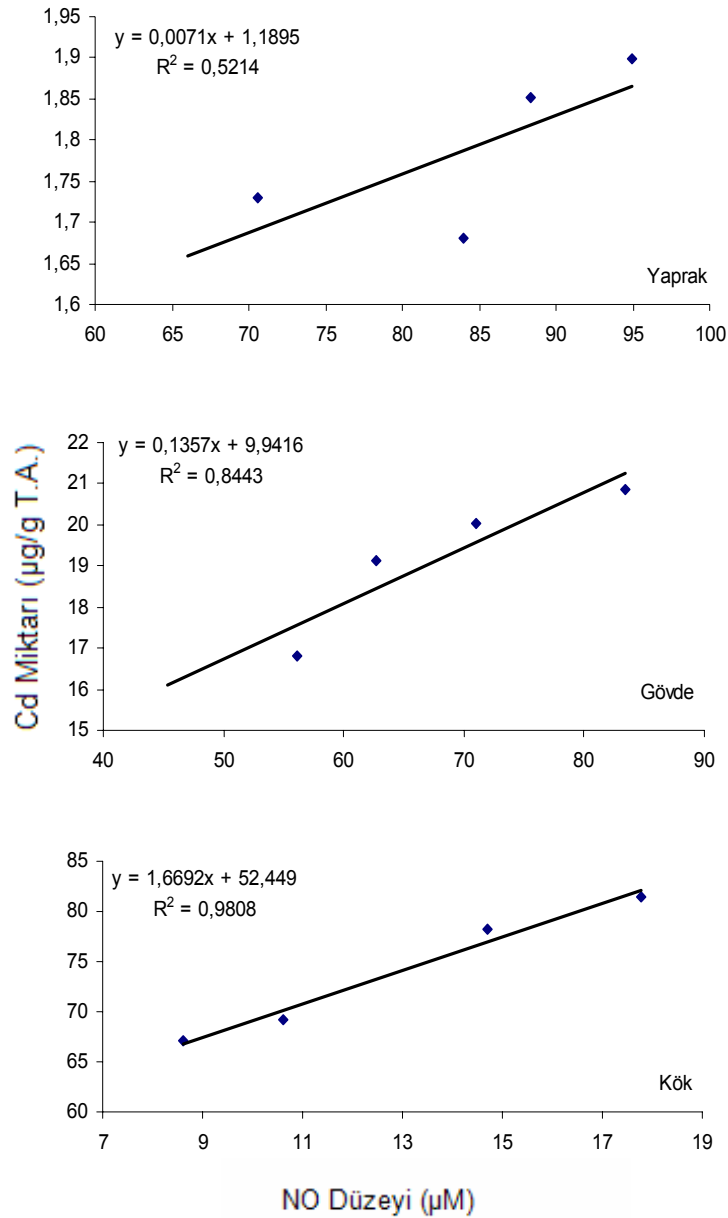
Kons. (μM)	Uygulama Zamanı	Yaprak				Gövde				Kök	
		Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018	Meriç	Tarsan 1018
Kontrol	2. Gün	66.06 $\pm$ 2.66 A	a 40.30 $\pm$ 0.49 A	b 45.30 $\pm$ 1.32 A	a 36.52 $\pm$ 1.68 A	b 8.75 $\pm$ 0.31 A**	a* 4.24 $\pm$ 0.56 A	b			
	4. Gün	66.77 $\pm$ 0.90 A	a 44.97 $\pm$ 2.68 A	b 46.30 $\pm$ 1.72 A	a 34.87 $\pm$ 0.80 A	b 9.40 $\pm$ 1.16 A	a 5.64 $\pm$ 1.32 A	a			
150	2. Gün	70.54 $\pm$ 0.86 A	a 41.50 $\pm$ 0.67 A	b 56.09 $\pm$ 1.87 A	a 22.08 $\pm$ 0.39 A	b 8.62 $\pm$ 0.29 A	a 4.16 $\pm$ 0.84 A	b			
	4. Gün	84.20 $\pm$ 1.87 B	a 45.83 $\pm$ 0.35 B	b 58.76 $\pm$ 0.28 A	a 24.75 $\pm$ 0.51 B	b 18.29 $\pm$ 0.51 B	a 14.16 $\pm$ 0.84 B	b			
200	2. Gün	83.95 $\pm$ 0.09 A	a 45.62 $\pm$ 3.47 A	b 62.66 $\pm$ 0.50 A	a 26.76 $\pm$ 2.16 A	b 10.59 $\pm$ 0.69 A	a 6.66 $\pm$ 0.67 A	b			
	4. Gün	93.95 $\pm$ 0.93 B	a 47.96 $\pm$ 2.71 A	b 70.04 $\pm$ 0.81 B	a 25.35 $\pm$ 0.57 A	b 22.26 $\pm$ 0.97 B	a 15.33 $\pm$ 1.25 B	b			
250	2. Gün	88.33 $\pm$ 0.72 A	a 46.45 $\pm$ 0.73 A	b 71.04 $\pm$ 0.84 A	a 28.44 $\pm$ 0.55 A	b 14.69 $\pm$ 1.58 A	a 9.74 $\pm$ 1.00 A	b			
	4. Gün	98.85 $\pm$ 0.89 B	a 52.79 $\pm$ 3.90 A	b 80.70 $\pm$ 0.51 B	a 41.77 $\pm$ 3.68 B	b 29.02 $\pm$ 0.85 B	a 16.07 $\pm$ 0.86 B	b			
300	2. Gün	94.98 $\pm$ 1.49 A	a 54.95 $\pm$ 0.61 A	b 83.40 $\pm$ 2.41 A	a 30.72 $\pm$ 1.29 A	b 17.76 $\pm$ 0.72 A	a 8.73 $\pm$ 0.58 A	b			
	4. Gün	104.31 $\pm$ 0.90 B	a 55.62 $\pm$ 0.86 A	b 85.06 $\pm$ 1.86 A	a 64.05 $\pm$ 2.73 B	b 33.43 $\pm$ 0.61 B	a 6.40 $\pm$ 0.26 B	b			

* Aynı satırda farklı küçük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (T-testi: $P\leq 0.05$).

** Aynı sütunda farklı büyük harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (T-testi: $P\leq 0.05$).

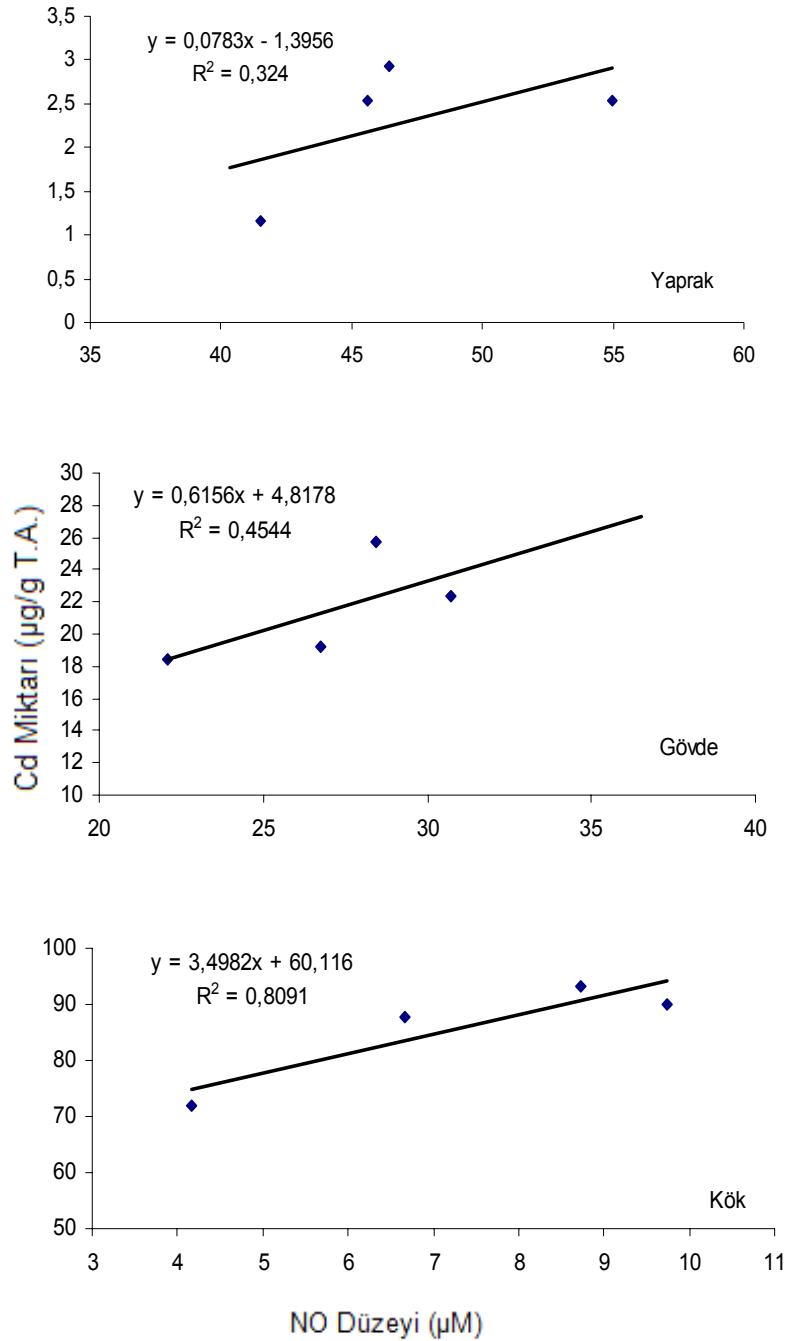
4.4.4. Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO₄ Uygulamasının 2. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları ile Aynı Dokularda Belirlenen NO Düzeyleri Arasındaki İlişki

Dayanıklı Meriç ve duyarlı Tarsan 1018 çeşitlerinde 2 gün süreyle yapılan CdSO₄ uygulamasında dokularda biriken Cd miktarları ile dokularda belirlenen NO düzeyleri arasındaki ilişkiyi tanımlayan regresyon eğrileri ve bu eğrilere ait denklemler Şekil 4.27. ve 4.28.'de verilmiştir.



Şekil 4.27. Meriç çeşidinde CdSO₄ uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları ile aynı dokularda belirlenen NO düzeyleri arasındaki ilişki.

Meriç çeşidinde 2 gün süre ile yapılan CdSO_4 uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında tespit edilen NO düzeyleri ile aynı dokularda biriken Cd miktarları arasında doğrusal bir ilişki bulunmuş ve R^2 değerleri yaprak, gövde ve kök dokuları için sırasıyla 0.52, 0.84 ve 0.98 olarak belirlenmiştir. Yaprak dokuları çalışmada NO sentezi bakımından en hassas dokular olarak belirlenmiştir. Bunu gövde ve kök dokuları takip etmiştir.

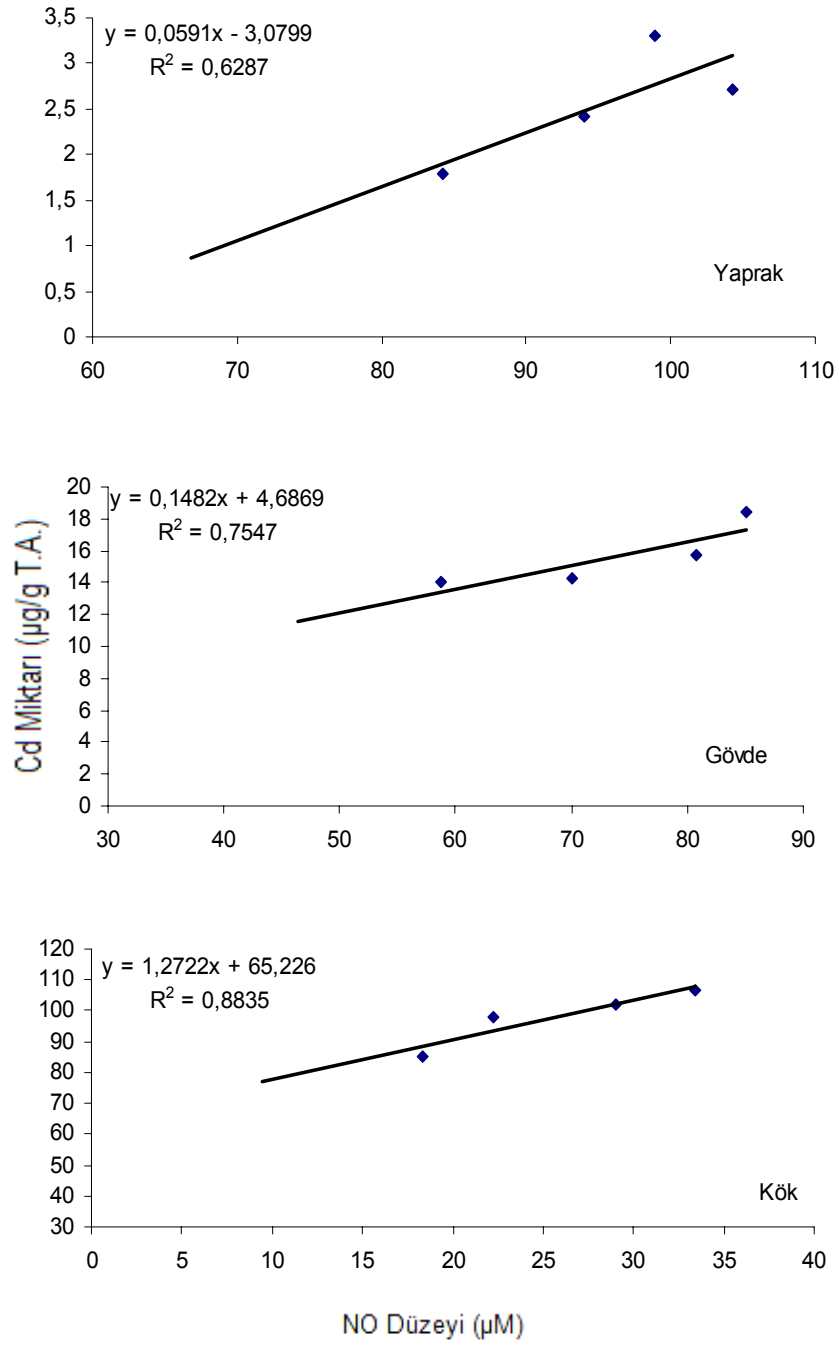


Şekil 4.28. Tarsan 1018 çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 2. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları ile aynı dokularda belirlenen NO düzeyleri arasındaki ilişki.

Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinde 2 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında tespit edilen NO düzeyleri her uygulama konsantrasyonu için dayanıklı Meriç çeşidinden daha düşük bulunmuştur. Ayrıca bu çeşitte dokulardaki Cd birikimi ile aynı dokularda belirlenen NO düzeyleri arasında ilişki belirlenememiş ve bu sebeple Tarsan 1018 çeşidinde Cd birikimleri ve NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. İlişkiye ait R² değerleri yaprak, gövde ve kök dokuları için sırasıyla 0.32, 0.45 ve 0.80 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.28).

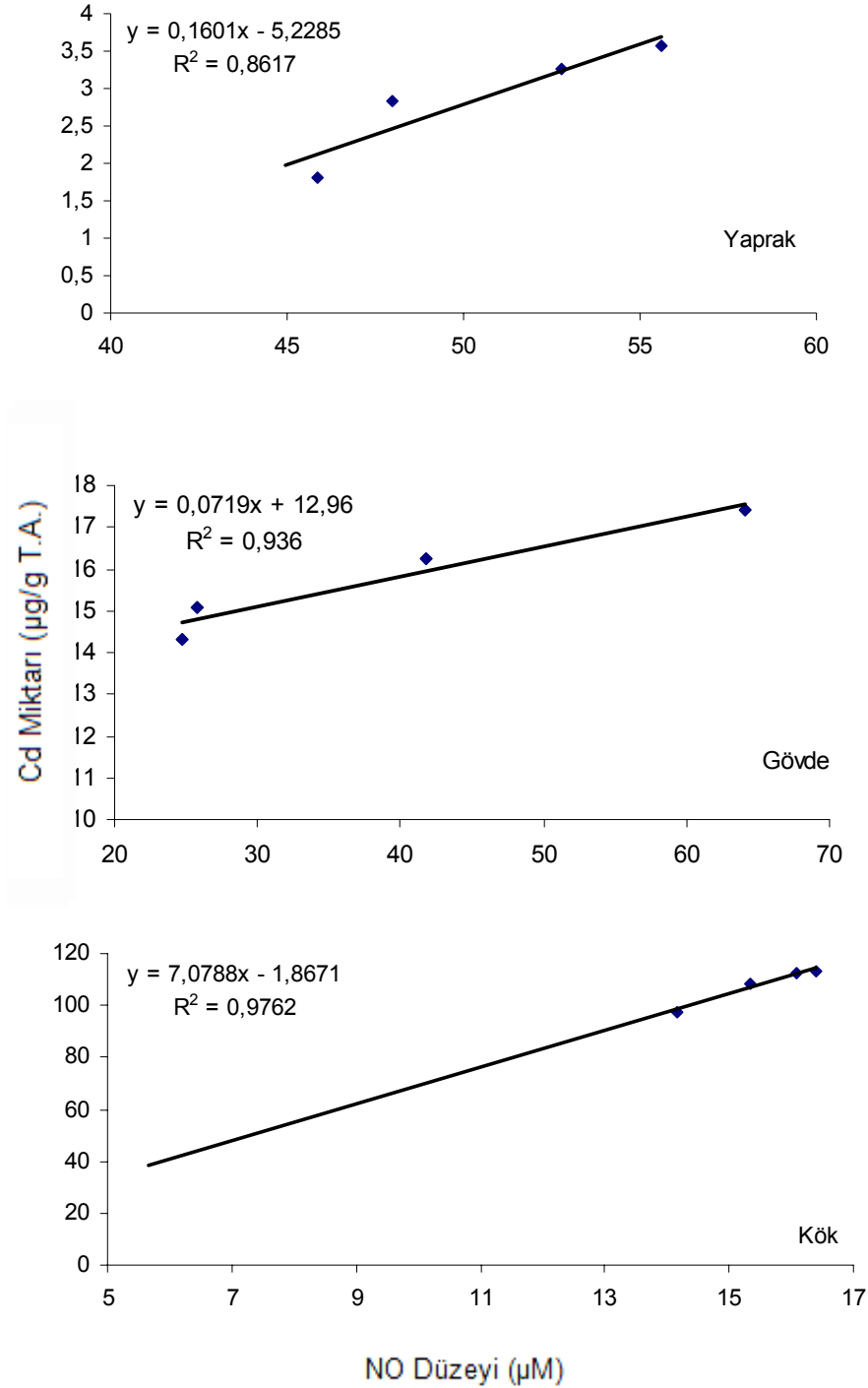
4.4.5. Meriç ve Tarsan 1018 Ayçiçeği Çeşitlerinde, CdSO₄ Uygulamasının 4. Gününde Yaprak, Gövde ve Kök Dokularında Biriken Cd Miktarları ile Aynı Dokularda Belirlenen NO Düzeyleri Arasındaki İlişki

Meriç çeşidinde, 4 gün süre ile yapılan Cd uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarlarının ve tespit edilen NO düzeylerinin 2 günlük uygulamadan daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu uygulama süresinde de yaprak, gövde ve kök dokularında NO düzeyleri ile aynı dokularda biriken Cd miktarları arasında doğrusal bir regresyon bulunduğu ve dokulardaki NO düzeylerinin ortamdaki metal birikimindeki artışa paralel olarak arttığı saptanmıştır (Şekil 4.29).



Şekil 4.29. Meriç çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları ile aynı dokularda belirlenen NO düzeyleri arasındaki ilişki.

Tarsan 1018 çeşidinde 4 günlük CdSO_4 uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında NO düzeyleri ile aynı dokularda biriken Cd miktarları arasında doğrusal bir ilişki belirlenmiş ve R^2 değerleri yaprak, gövde ve kök dokuları için sırasıyla 0.86, 0.93, 0.97 olarak saptanmıştır (Şekil 4.30).



Şekil 4.30. Tarsan 1018 çeşidinde CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları ile aynı dokularda belirlenen NO düzeyleri arasındaki ilişki.

Sonuç olarak, dayanıklı Meriç çeşidinde CdSO_4 uygulama konsantrasyonlarına bağlı olarak dokulara giriş yapan Cd'a karşı tüm dokularda hızlı bir NO sentezi gerçekleşmiştir. Aynı zamanda dokularda sentezlenen NO düzeylerinin dokularda biriken Cd miktarlarına bağlı olduğu belirlenmiştir. Tarsan 1018 çeşidinde ise, kısa süreli metal stresine maruz kalan dokularda sentezlenen NO'nun, dokularda biriken Cd'a bağlı olarak değişim göstermediği saptanmıştır ve Tarsan 1018 çeşidinin dokularında sentezlenen NO düzeylerinin, Meriç çeşidinin dokularında sentezlenen NO düzeylerinin yaklaşık yarısı kadar olduğu belirlenmiştir. Uygulanan metal stresinin süresi arttıkça yani, 4 günlük uygulamada her iki çeşitte de NO sentezinin dokularda biriken Cd miktarlarına bağlı olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Ancak 2 günlük uygulama süresinde olduğu gibi, 4 günlük uygulama süresinde de, Tarsan 1018 çeşidinde sentezlenen NO düzeyinin Meriç çeşidinden yaklaşık iki kat daha az olduğu belirlenmiştir.

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Sanayileşmenin artması ile birlikte günümüzün en önemli problemlerinden biri haline gelen çevre sorunlarının en önemlisi toprak, su ve atmosferin ağır metaller tarafından kirlenmesidir. Bazı ağır metallerin (Cu, Mn, Fe, Cu, Zn) bitkilerin büyüme ve gelişimleri için gerekli olan esasi besinler olmalarına rağmen bazılarının (Cd, Hg, Pb gibi) ise bitki büyüme ve gelişimi için hiçbir fonksiyonu olmadığı bilinmektedir. Kadmiyumun da bitkilerin büyüme ve gelişiminde fonksiyonu olmayan ayrıca bitki büyüme ve gelişimini olumsuz yönde etkileyen toksik bir ağır metal olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [1, 23, 24].

Çalışmamızda, farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) CdSO₄ uygulaması yapılmış ayçiçeği bitkisinin Cd'a duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşitlerinin yaprak dokularında 2. ve 4. günlerdeki Cd birikimleri incelenmiştir (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3 ve Şekil 4.1., 4.2). Farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşitlerinin yaprak dokularında belirlenen Cd miktarlarındaki farklılıkların artan Cd konsantrasyonlarına göre istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Ayçiçeği bitkilerinin 4 günlük Cd stresine maruz kalmaları sonucunda ise, dayanıklı Meriç çeşidinin yaprak dokularında belirlenen Cd miktarlarının, artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Ancak, Cd uygulamasının 4. gününde duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde Meriç çeşidinden farklı olarak yaprak dokularında belirlenen Cd miktarlarının 150 µM Cd konsantrasyonu hariç tüm konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.2. ve 4.3.). Cd uygulamasının 2. ve 4. günlerinde Tarsan 1018 ve Meriç çeşitlerinin yaprak dokularında biriken Cd miktarları ile uygulanan Cd konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi tanımlayan grafikler (Şekil. 4.3., 4.4. ve 4.5.) incelendiğinde yaprak dokularında biriken Cd miktarları ile uygulanan Cd konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak ilişki bulunmadığı saptanmıştır.

Konu ile ilgili yapılan bir çalışmada, 14 gün süre ile 25 ve 50 µM Cd uygulaması yapılan 5 haftalık *Arabidopsis thaliana* bitkilerinin yaprak dokularında belirlenen Cd miktarlarının sırası ile 0.44 ± 0.05 ve 0.43 ± 0.06 µg/g olduğu ve artan Cd konsantrasyonunun yaprak dokularında biriken Cd miktarlarını etkilemediği bildirilmiştir [162]. Benzer bir çalışmada, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mM Cd uygulanan *Brassica juncea* bitkisinin 10 farklı genotipinde uygulamadan 24., 48. ve 72. saatler sonra yaprak dokularında belirlenen Cd miktarlarının her üç uygulama süresinde Cd konsantrasyonuna göre istatistiksel olarak önemli olmayan değişiklikler gösterdiği rapor

edilmiştir [163]. Yapılan başka bir çalışmada, Sun vd. [164], su kültüründe yetiştirdikleri buğday bitkisine 2, 6, 18 ve 54 $\mu\text{mol/L}$ Cd uygulamışlar ve yaprak dokularında sırasıyla 0.089, 0.97, 0.173 ve 0.217 $\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık metal birikimi olduğunu ve Cd birikimindeki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığını rapor etmişlerdir [164].

Çalışma bulgularımız incelendiğinde, duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşitlerinin yaprak dokularında Cd uygulamasının 2. gününde belirlenen Cd birikimlerinin artan Cd konsantrasyonlarına bağlı olarak değişmemesinin sebebinin ayçiçeği bitkisinde Cd'un özellikle kök dokularında birikim göstererek bu dokuda fitokelatinler ile kelatlanarak hareketinin engellenmesi olduğunu söyleyebiliriz.

Yaptığımız çalışmada, CdSO_4 uygulamasına duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşitlerinde farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 2. ve 4. günlerinde gövde dokularında biriken Cd miktarları belirlenmiştir. Meriç çeşidinde metal stresinin 2. gününde gövde dokularındaki Cd birikiminin artan Cd konsantrasyonuna (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) paralel olarak arttığı ve sırasıyla, 16.81 ± 1.02 $\mu\text{g/g}$ T.A., 19.14 ± 0.28 $\mu\text{g/g}$ T.A., 20.03 ± 0.08 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve 20.84 ± 1.03 $\mu\text{g/g}$ T.A. olduğu belirlenmiş, aynı Cd konsantrasyonlarında Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusundaki Cd birikimleri de sırası ile 18.48 ± 0.19 $\mu\text{g/g}$ T.A., 19.16 ± 0.28 $\mu\text{g/g}$ T.A., 25.76 ± 0.97 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve 22.35 ± 5.16 $\mu\text{g/g}$ T.A. olarak saptanmıştır (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.). Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin gövde dokularında 4 gün süre ile Cd uygulaması sonucunda belirlenen Cd miktarlarının 2 günlük Cd uygulamasındakine benzer şekilde artan Cd konsantrasyonuna paralel olarak arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2). Meriç çeşidinin gövde dokularında en düşük Cd miktarının 150 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 14.00 ± 0.55 $\mu\text{g/g}$ T.A., en yüksek Cd miktarının ise 300 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 18.37 ± 0.03 $\mu\text{g/g}$ T.A. olduğu saptanmıştır. Tarsan 1018 çeşidinde de en düşük Cd miktarının 150 μM Cd konsantrasyonunda 14.31 ± 0.12 $\mu\text{g/g}$ T.A. ve en yüksek Cd miktarının 300 μM Cd konsantrasyonunda 17.42 ± 0.17 $\mu\text{g/g}$ T.A. olduğu saptanmıştır. Meriç çeşidinde gövde dokusunda 150 μM ve 200 μM CdSO_4 konsantrasyonlarında meydana gelen Cd birikimleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz iken, 250 μM ve 300 μM CdSO_4 konsantrasyonundaki Cd birikiminin diğer konsantrasyonlara göre istatistiksel olarak önemli olduğu ($P \leq 0.05$), Tarsan 1018 çeşidinde gövde dokusunda uygulanan tüm konsantrasyonlardaki Cd birikimleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde tüm uygulama konsantrasyonlarında gövde dokularında Cd

birikimlerinin, Cd uygulama süresi 2 günden 4 güne çıkarıldığında zamana bağlı olarak azalma gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.3.).

Oliviera vd. [124], iki farklı soya fasulyesi çeşidine (*Glycine max* L. Merrill cv. Doko ve Bossier) 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L Cd uygulamış ve farklı gelişme dönemlerinde (8 günlük ve 16 günlük) bitkilerin kök, gövde ve yaprak dokularındaki Cd miktarlarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, Bossier kùltivarında gövde dokusunda 8 günlük büyüme döneminde Cd miktarı 28.1 mg/kg iken, 16. günlük büyüme döneminde 19.8 mg/kg değerine düştüğünü, Doko kùltivarının gövde dokusunda ise sırası ile Cd miktarlarının 31.9 mg/kg ve 31.1 mg/kg olarak değişmediğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada bitki dokularındaki Cd konsantrasyonunun büyüme ortamında artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, araştırmacılar ayçiçeği bitkisinin tabakhane atığında bulunan metallere karşı toleransını belirlemek amacı ile farklı oranlarda (% 10, % 25, % 35, % 50, % 75 ve % 100) atık kullanılan ortamda 30, 60 ve 90 gün yetiştirdikleri bitkilerin yaprak, gövde ve kök dokularındaki metal [Cr (krom), Fe, Zn ve Mn] birikimlerini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada, % 25 atık kullanıldığında gövde dokusunda biriken Cr miktarının 60. güne kadar artarken 90. günde azalma gösterdiği, % 50 atık kullanıldığında 90. günde 60. güne göre bir azalma görüldüğü ve % 100 atık kullanıldığında ise gövde dokusundaki Cr miktarının hem 60. günde hem de 90. günde 30. güne göre azalma gösterdiği rapor edilmiştir [165].

Kısa süreli metal stresinde köklerden alınan ağır metalin bir bölümünün gövdeye taşındığı bildirilmektedir. Çalışmamızda ayçiçeği bitkilerine Cd uygulama süresi 2 günden 4 güne çıkarıldığında bitkilerin gövde dokusunda Cd birikiminin artmadığı, hatta azaldığı görülmektedir. Bu bulgumuz Oliviera vd. [124] ve Singh vd. [165] adlı araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir. Gövde dokularında Cd birikimindeki bu azalışın, uygulama süresi uzadıkça gövdeden yapraklara taşınımın artmasından, aynı zamanda da kök dokularında fitokelatin moleküllerinin Cd iyonlarını kelatlayarak serbest Cd'un gövdeye hareketini engellemesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çizelge 4.6. incelendiğinde, bu fikrimizi destekler şekilde, ayçiçeği bitkilerinin gövde dokularında 4. günde belirlenen fitokelatin miktarlarının 2. günde belirlenen fitokelatin miktarlarından daha düşük olduğu görülmektedir. Ayrıca, ayçiçeği bitkilerinin gövde dokularında zamana bağlı olarak Cd birikiminin azalma göstermesi gövde dokularından kök dokusuna doğru bir taşınımın olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim Çakmak vd. [166], 7 günlük diploid (*Triticum monococcum*), tetraploid (*T.*

turgidum), heksaploid (*T. aestivum*) buğday bitkilerinin yapraklarına 0.01mol/m³ radyoaktif işaretli Cd uygulamışlar ve 42 saat sonra en fazla Cd birikiminin yapraklarda olduğunu, bu dokuyu sırası ile kök ve gövde dokularının takip ettiğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda Meriç çeşidinin kök dokularında 2 günlük uygulama süresinde artan CdSO₄ konsantrasyonuna bağlı olarak Cd birikiminin arttığı ve farklı konsantrasyonlarda (150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM) Cd miktarlarının sırasıyla; 67.11±0.21 µg/g T.A., 69.26±0.42 µg/g T.A., 78.20±0.06 µg/g T.A. ve 81.47±0.66 µg/g T.A. olduğu, Tarsan 1018 çeşidine ise aynı konsantrasyonlarda Cd birikiminin sırasıyla 71.77±0.51 µg/g T.A., 87.84±0.54 µg/g T.A., 90.01±0.50 µg/g T.A. ve 93.37±0.59 µg/g T.A. olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1. ve Şekil 4.1.). Yaptığımız çalışmada, CdSO₄ uygulama süresi 2 günden 4 güne çıkarıldığında da benzer durumun görüldüğü ve artan CdSO₄ konsantrasyonlarına bağlı olarak hem Meriç hem de Tarsan 1018 çeşitlerinin kök dokularında biriken Cd miktarlarının artış gösterdiği belirlenmiştir. Çizelge 4.2.'den de görüldüğü gibi, Cd uygulamasının 4. gününde Meriç çeşidinin kök dokularındaki en düşük Cd miktarı 150 µM konsantrasyonda 85.34±0.07 µg/g T.A. ve en yüksek Cd miktarı 300 µM konsantrasyonda 106.58±0.32 µg/g T.A. olarak belirlenirken, Tarsan 1018 çeşidinin kök dokusunda yine Cd uygulamasının 4. gününde en düşük Cd miktarı 150 µM CdSO₄ konsantrasyonunda 97.70±1.42 µg/g T.A. ve en yüksek Cd miktarı 300 µM Cd konsantrasyonunda 113.20±1.51 µg/g T.A. olarak saptanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamasının 2. ve 4. günlerinde, Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin kök dokularında belirlenen Cd miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$).

Çalışmamızda ayçiçeği bitkisinin dayanıklı Meriç ve duyarlı Tarsan 1018 çeşitlerinin her ikisinde de Cd birikiminin sırasıyla kök, gövde ve yaprak dokularında olduğu belirlenmiştir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, Pawlak vd. [162], 5 hafta süre ile yetiştirdikleri *Arabidopsis thaliana* bitkilerine 14 gün süre ile 25 ve 50 µM Cd uygulaması yapmışlar ve uygulama süresinin sonunda yaprak ve kök dokularında biriken Cd miktarlarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar bitki tarafından alınan Cd'un % 89'unun kökler tarafından tutulduğunu ve sadece % 11'inin yaprak dokularına taşındığını bildirmişlerdir. O'Keefe ve Bendel-Young [167], laboratuvar koşullarında *Geranium robertianum* bitkisinde 1.1. ve 2.2 mg/L Cd(NO₃)₂ uygulamasında en az birikimin yaprak dokusunda olduğunu, sırasıyla gövde ve kök dokularında birikimin arttığını bildirmişlerdir. Sridhar vd. [168], *Brassica juncea* bitkisine 50 µM, 500 µM, 2.5 mM ve 10 mM Cd ve 2 mM, 10 mM, 50 mM ve 100 mM Zn uygulamışlar ve artan

metal konsantrasyonuna bağı olarak yaprak, gövde ve kök dokularında Zn ve Cd birikiminin arttığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada, 50 ve 100 mM Zn konsantrasyonunda Zn birikiminin en fazla köklerde, daha sonra gövde ve yaprak dokularında olduğu, diğer konsantrasyonlarda ise değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada, Cd birikiminin 2.5 mM ve 10 mM Cd konsantrasyonlarında en fazla kök dokularında (sırası ile 520 ve 4530 mg/kg kuru ağırlık) olduğu bildirilmiştir. Çalışma bulgularımızı destekleyen bir diğer çalışmada Sun vd. [170], buğday bitkisine Cd (2, 6 ve 18 $\mu\text{mol/L}$), Zn (2, 6 ve 18 $\mu\text{mol/L}$) ve Cd+Zn (2+2, 2+18, 18+2 ve 18+18 $\mu\text{mol/L}$) ağır metallerini birlikte uygulamışlar ve her iki ağır metalin birbiri ile etkileşimini araştırmışlardır. Bu çalışma sonunda, artan Cd ve Zn konsantrasyonuna bağı olarak buğday bitkisindeki metal birikimi sırası ile kök, gövde ve yaprak dokularında belirlenmiştir. Simon [169] adlı araştırmacının 0.1 ve 10 mg/kg Cd uygulanmış toprakta yetiştirilen ayçiçeği bitkilerinde yaptığı çalışmada, Cd'un en fazla kök dokularında (13.69 mg/kg), daha sonra gövde (4.97 mg/kg) ve yaprak dokularında (1.21 mg/kg) birikim gösterdiği rapor edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, 3 günlük buğday bitkilerine 14 gün süre ile 2, 6, 18 ve 54 $\mu\text{mol/L}$ Cd ve yine aynı konsantrasyonlarda Pb uygulanmış ve en fazla ağır metal birikiminin köklerde daha sonra sırası ile gövde ve yapraklarda olduğu belirlenmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 54 $\mu\text{mol/L}$ Cd uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularındaki Cd miktarı sırası ile 0.217, 0.338 ve 4.67 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak belirlenirken, yine aynı konsantrasyonda Pb uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularındaki Pb miktarlarının sırası ile 0.36, 0.68 ve 10.4 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olduğu bildirilmiştir [170].

Yaptığımız çalışmada ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde CdSO_4 uygulamasının hem 2. hem de 4. günlerinde Cd birikiminin sırasıyla kök, gövde ve yaprak dokularında olması bulgumuz Pawlak vd. [162], Sridhar vd. [168], Simon [169] ve Sun vd. [170] adlı araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir.

Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının hem 2. hem de 4. günlerinde Cd'un en fazla köklerde, bunu takiben de gövde ve yapraklarda birikmesinin nedeninin Cd'a ilk ve en fazla maruz kalan kısımların kök dokuları olması ve daha sonra metalin gövde ve yaprağa taşınması olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, bitkilerin ağır metalleri en fazla kök dokusunda biriktirip, metalin gövde ve yaprak dokularına taşınımının sınırlandırmasının nedeninin bu bölgelerdeki fizyolojik olayların metal stresinin olumsuz etkilerinden daha az etkilenmesine neden olmak amacıyla olabileceğini söyleyebiliriz. Bu sebeple, ayçiçeği

bitkisinin Cd'u köklerde fitokelatinler ile kelatlayarak taşınımını engellemesi nedeni ile gövde ve yaprak dokularında Cd birikiminin köklerden daha düşük miktarlarda olduğunu söyleyebiliriz.

Cd'a duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşitlerinin dokularında farklı konsantrasyonlarda ve uygulama sürelerindeki Cd birikimleri karşılaştırıldığında, duyarlı Tarsan 1018 çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularında her iki uygulama süresinde (2. ve 4. gün) ve uygulama konsantrasyonlarında (gövde dokusunda 4. gün 300 μM CdSO₄ konsantrasyonu hariç) dayanıklı Meriç çeşidinden daha fazla Cd biriktirdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.3.).

Konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, Verkleij vd. [58], 14 gün süre ile yetiştirilen Cd'a duyarlı ve dayanıklı *Silene vulgaris* soylarına 4 gün süre ile 1, 2, 5, 15 ve 40 mmol/m³ Cd uygulamışlar ve bu sürenin sonunda bitkilerin kök ve gövde dokularındaki Cd miktarını saptamışlardır. Araştırma sonunda 40 mmol/m³ Cd uygulamasında dayanıklı bitkilerin köklerinin duyarlı olanlara göre daha fazla Cd biriktirdiğini buna karşın, gövde dokularında hem duyarlı hem de dayanıklı bitkilerin yaklaşık aynı miktarda Cd biriktirdiğini bildirmişlerdir (dayanıklı 12.3 mmol Cd/kg doku, duyarlı 16.0 mmol Cd/kg doku). Araştırmacılar, dayanıklı bitkilerin köklerinin tüm bitkideki Cd miktarının % 80-90'ını, duyarlı olanların ise % 70'ini içerdiğini rapor etmişlerdir. Nouairi vd. [171] yaptıkları bir çalışmada, ağır metal uygulamasına duyarlı *Brassica napus* ve dayanıklı *Brassica juncea* bitkilerine 0, 10, 25, 50 ve 100 μM Cd uygulamışlar ve ağır metal uygulamasından 15 gün sonra bitki dokularındaki Cd içeriklerini belirlemişlerdir. Yapılan analizler sonucunda her iki bitki türünde de artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak Cd birikiminin arttığı, en fazla Cd birikiminin köklerde olduğu ve gövdedeki Cd birikiminin köklerden daha az olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, 100 μM Cd konsantrasyonundaki Cd birikiminin *B. juncea* köklerinde 4725±583 $\mu\text{gCd/g}$ ve *B. napus* bitkisinde 4626±690 $\mu\text{gCd/g}$ olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda ağır metallere dayanıklı *B. juncea* bitkisinin gövde dokusunda duyarlı olan *B. napus* bitkisine göre 3 kat daha fazla Cd birikiminin görüldüğü bildirilmiştir (100 μM Cd konsantrasyonunda sırası ile 1450±245 $\mu\text{gCd/g}$ ve 555±120 $\mu\text{gCd/g}$). Yine, *E. coli*'den glutatyon sentetaz enzimini kodlayan *gshII* geninin *Brassica juncea* bitkisine aktarıldığı başka bir çalışmada da, transgenik bitkilerin yabanıl tiplerden daha fazla Cd biriktirdikleri bildirilmiştir. Araştırmacılar transgenik bitkilerden tohumları elde ettikten sonra su kültüründe 6 hafta yetiştirmiş ve 0.1 mM Cd uygulamışlar ve 10 gün sonra da bitki dokularındaki Cd miktarlarını saptamışlardır. Bu

çalışma sonucunda araştırmacılar transgenik (Cd'a dayanıklı) bitkilerde gövde dokusunda Cd birikiminin yabancı tiplere göre % 40 daha fazla olduğunu, buna karşın transgenik ve yabancı tip bitkilerin kök dokularındaki Cd birikiminde önemli bir farklılık görülmediğini bildirmişlerdir [172]. Benzer bir çalışmada, doğal ortamlarından toplanan tohumlar ile yetiştirilen *Adenophora lobophylla* ve *A. potaninii* bitkilerinin kök kültürlerine 7 gün süre ile 10, 15, 50, 100, 150, 200, 300 ve 400 µM Cd uygulaması yapılmış ve uygulamayı takiben her gün Cd birikimleri belirlenmiştir. Özellikle 100 µM Cd uygulamasından sonra duyarlı *A. lobophylla* kök kültürlerinin dayanıklı *A. potaninii*'den daha fazla Cd biriktirdiği belirlenmiştir. Uygulamanın 7. gününde 200 µM Cd uygulamasından sonra *A. potaninii*'de Cd miktarı 68.741 µg Cd/mg protein iken, *A. lobophylla*'da 195.194 µgCd/mg protein olarak belirlenmiştir [173]. Gadapati vd. [174] adlı araştırmacılar, Cd uygulamasına dayanıklı *Brassica juncea* ve duyarlı *Brassica napus* bitkilerini 22 gün süre ile su kültüründe yetiştirmiş ve bu sürenin sonunda bitkilere 50, 100, 150 ve 200 µM Cd uygulaması yaparak 4. günde bitki dokularındaki Cd birikimlerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda duyarlı olan *B. napus* türünün kök dokularındaki Cd birikiminin *B. juncea*'dan daha yüksek olduğu, gövde ve yaprak dokularında ise iki türde Cd birikimi açısından farklılık olmadığı rapor edilmiştir. *B. napus* türünün kök dokularındaki Cd birikiminin fazla olması bu bitkinin Cd toksisite belirtilerini neden daha fazla gösterdiğini açıklamaktadır [166]. Çalışmamızda Cd'a duyarlı Tarsan 1018 çeşidinin dayanıklı olan Meriç çeşidinden daha yüksek miktarda Cd birikimi göstermesi bulgumuz, Verkleij vd. [58], Nouairi vd. [171] ve Zhu vd. [172] adlı araştırmacıların bulguları ile zıtlık gösterirken, Wu vd. [173] ve Gadapati vd. [174] adlı araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda, CdSO₄ uygulamasına duyarlı Tarsan 1018 çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarlarının, dayanıklı Meriç çeşidinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu sonuç Cd stresi altında dayanıklı Meriç çeşidinin metal alımını engelleyen etkili bir mekanizmaya sahip olduğunu düşündürmektedir. Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde ise Cd alımını sınırlandırılmasının ve metalin bitki içerisindeki hareketinin engellenmesinin dayanıklı Meriç çeşidi kadar etkili olmadığı ve bu nedenle bitki dokularına yüksek miktarlarda Cd girişi olduğu düşünülmektedir. Bu durum Tarsan 1018 çeşidinin Cd'un toksik etkilerinden daha fazla zarar görebileceğini düşündürmektedir. Literatür bilgilerimize göre, sınırlı metal alımı bitkilerin ağır metallere dayanıklılık mekanizmalardan biri olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca aynı cinsten hatta türde bile dayanıklı popülasyonların duyarlı olanlardan daha düşük miktarda

metal biriktirdikleri de rapor edilmiştir. Daha da ötesi, araştırmacılar köklerle alınan metallerin gövdeye taşınımının fazla olmasını metale karşı duyarlılığın arttığı şeklinde değerlendirmişlerdir [168, 173].

Çalışmamızda, farklı konsantrasyonlarda (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) CdSO_4 uygulaması yapılmış ayçiçeği bitkilerinin duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında CdSO_4 uygulamasının 2. ve 4. günlerindeki fitokelatin miktarları incelenmiştir (Çizelge 4.4., 4.5., 4.6. ve Şekil 4.7., 4.8., 4.9., 4.10.). Dayanıklı Meriç çeşidinde 2. günde yaprak ve gövde dokularında belirlenen fitokelatin miktarlarının, 250 μM CdSO_4 konsantrasyonu hariç, artan konsantrasyona bağlı olarak arttığı, kök dokularında bu artışın yaprak ve gövde dokularına göre daha belirgin olduğu ve bu farkın istatistik olarak da önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4.) ($P \leq 0.05$). Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde ise 2. günde artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak kök dokusunda fitokelatin miktarının belirgin bir artış göstermesine rağmen, gövde dokusunda (300 μM Cd konsantrasyonu hariç) fitokelatin miktarının arttığı, yaprak dokusunda ise artış ve azalışlar gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.4). Tarsan 1018 çeşidinin kök dokusunda, 2. günde CdSO_4 konsantrasyonlarına (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) bağlı olarak fitokelatin miktarlarının sırası ile 171.55 ± 1.93 $\mu\text{mol/g}$ T.A., 194.42 ± 2.39 $\mu\text{mol/g}$ T.A., 225.59 ± 0.45 $\mu\text{mol/g}$ T.A. ve 275.54 ± 1.62 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olduğu ve fitokelatin miktarlarındaki bu farklılıkların istatistik olarak da önemli olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0.05$). Uygulama süresi 4 güne çıkarıldığında ise, Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarlarının artan CdSO_4 konsantrasyonuna bağlı olarak artış gösterdiği (Meriç çeşidinin yaprak dokusunda 300 μM CdSO_4 uygulaması hariç) ve bu artışların istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$). En yüksek fitokelatin miktarının 4. günde Tarsan 1018 çeşidinin kök dokusunda 300 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 370.67 ± 2.27 $\mu\text{mol/g}$ T.A. ve en düşük fitokelatin miktarının Meriç çeşidinin yaprak dokusunda 150 μM CdSO_4 konsantrasyonunda 42.46 ± 0.31 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Toppi vd. [81], su kültüründe yetiştirdikleri *Daucus carota*'nın saçak köklerinde uygulanan metal stresine bağlı olarak bazı aminoasitler ve fitokelatin miktarlarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, bitkilere 1 mmol/L CdSO_4 , 100 μM /L CdSO_4 , 1 mmol BSO (buthion sülfoksin)+1 mmol/L CdSO_4 ve son olarak 1 mmol/L CHX (cycloheximit)+1 mmol/L CdSO_4 kimyasallarını 4 gün süre ile uygulamışlar ve uygulamadan sonra bu bitkilerde fitokelatin miktarlarını belirlemişlerdir. Deneme

sonucunda çalışma bulgularımıza benzer şekilde bitki bünyesine en fazla Cd girişi tek başına yapılan Cd uygulamasında belirlenmiş bunu sırasıyla Cd+CHX ve Cd+BSO uygulaması yapılan bitkiler izlemiş ve bitkide Cd miktarları sırasıyla 0.87, 0.22 ve 0.24 $\mu\text{mol/g}$ T.A. olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, kontrol grubunda fitokelatin sentezinin olmadığını belirterek, dokulardaki fitokelatin sentezinin Cd uygulama konsantrasyonlarına bağlı olarak arttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, 100 $\mu\text{M/L}$ CdSO_4 uygulanan bitkilerde dokulardaki toplam fitokelatin miktarının 79.0 nmol PC/g, 1 mmol/L CdSO_4 uygulanan bitkilerde ise dokulardaki fitokelatin miktarının 109.8 nmol PC/g olduğunu rapor etmişlerdir. Stolt ve arkadaşları [122], 12 günlük *Triticum aestivum* cv. Thasos and Tjalve ve *Triticum turgidum* var. durum cv. Topdur ve Grandur buğday fidelerine 5 gün süre ile 0.01, 1.0 ve 30.0 μM Cd uygulamışlar ve bitkide sentezlenen fitokelatin miktarlarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar, kök dokularında 0.01 μM Cd konsantrasyonunda, ayrıca gövde dokularında 30 μM Cd konsantrasyonu dışında fitokelatin belirlenemediğini bildirmişlerdir. Her iki türün her iki varyetesinde de artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak fitokelatin birikimlerinin önemli derecede arttığı, 1 μM Cd konsantrasyonunda Topdur çeşidinin Grandur çeşidinden daha fazla, 30 μM Cd konsantrasyonunda ise, Thasos çeşidinin Tjalve çeşidinden daha fazla miktarda fitokelatin biriktirdiği rapor edilmiştir. Çalışmada, 1 μM Cd konsantrasyonunda durum buğdayının diğer buğday çeşidinden daha yüksek miktarda fitokelatin biriktirdiği ve kök dokusunda yüksek miktarda Cd biriktiren çeşitlerin yüksek miktarda fitokelatin sentezlediği bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, Sun vd. [164], 3 günlük buğday bitkilerine 2, 6, 18 ve 54 $\mu\text{mol/L}$ Cd ile Pb'yi ayrı ayrı uygulamışlar ve uygulamayı takiben 14. günde kök dokularındaki fitokelatin miktarlarını belirlemişlerdir. Çalışma sonunda araştırmacılar, artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak fitokelatin miktarlarının arttığını, Cd uygulamasına bağlı olarak fitokelatin birikiminin sırası ile kök, gövde ve yaprak dokularında olduğunu ve en yüksek fitokelatin miktarının da 54 $\mu\text{mol/L}$ Cd konsantrasyonunda kök dokusunda belirlendiğini bildirmişlerdir. Çalışmanın ikinci bölümünde araştırmacılar aynı Cd ve Pb konsantrasyonlarında zamana bağlı olarak fitokelatin miktarlarının değişimini incelemek amacı ile 1., 3., 5., 10. ve 14. günlerde yaprak, gövde ve kök dokularındaki fitokelatin miktarlarını belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda, Cd ve Pb uygulamasından sonraki ilk günlerde gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarında çok az bir artışın olduğu fakat yaprak dokularındaki fitokelatin miktarlarında belirli bir değişimin olmadığı rapor edilmiştir. Araştırmacılar, buğday bitkisinin kök dokularında

uzun süreli uygulamada en yüksek Cd konsantrasyonunda fitokelatin miktarlarında ani bir artış olduğunu ayrıca Cd'un fitokelatin üretimini Pb'dan daha fazla artırdığını bildirmişlerdir [164].

Çalışmamızda, duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşidinde 2. ve 4. günlerde ve 150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM CdSO_4 konsantrasyonlarında fitokelatin miktarlarının en fazla kök dokularında olduğu, bu dokuyu sırası ile gövde ve yaprak dokularının takip ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.6.). Çizelge 4.6 incelendiğinde, fitokelatin miktarının en yüksek değerinin Tarsan 1018 çeşidinin kök dokusunda 300 μM CdSO_4 konsantrasyonunda ve 4. günde $370.67 \pm 2.27 \mu\text{mol/g T.A.}$, en düşük değerinin ise Meriç çeşidinin yaprak dokusunda 200 μM CdSO_4 konsantrasyonunda ve 2. günde $34.36 \pm 0.61 \mu\text{mol/g T.A.}$ olduğu saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada, Cd-Pb-Zn madeni bulunan bölgede doğal olarak yetişen *T. caerulescens* bitkisinin tohumları laboratuvar şartları altında 8 hafta süre ile yetiştirilmiş ve 14 gün süre ile 5, 10, 25, 50, 100, 200, 300 ve 500 $\mu\text{M.Cd(NO}_3)_2$ uygulanarak bitkilerin kök ve gövde dokularındaki fitokelatin miktarları belirlenmiştir. Kontrollü koşullar altında yetiştirilen bitkilerin hem kök hem de gövde dokularında ortamda artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak fitokelatinlerin miktarlarının arttığı ve bununla birlikte özellikle gövde dokularında glutasyon düzeyinde sınırlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. Fitokelatin miktarının 5-10 μM Cd konsantrasyonlarında kök dokularında en yüksek değerde olduğu, 25-50 μM Cd konsantrasyonlarında kök ve gövde dokularında benzer içerikte olduğu ve 100-500 μM Cd konsantrasyonlarında ise en fazla fitokelatinin gövde dokularında bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, doğal yetiştirme ortamından toplanan bitkilerin gövde dokularında yüksek miktarda Cd birikiminin olmasına rağmen fitokelatin bulunmadığı da rapor edilmiştir. Araştırmacılar, bu sonucun doğal şartlar altında büyüyen bu bitkilerin metallerin fitokelatinler ile kelatlanmasından başka ağır metal detoksifikasyon ve tolerans mekanizmasına sahip olabileceklerini rapor etmişlerdir [174]. Arsenik hiperakümülatörü olan *Pteris vittata* ile yapılan bir çalışmada, su kültüründe yetiştirilen 3 haftalık bitkilere 5 gün süre ile 10, 50, 100 ve 500 μM arsenat uygulanmış ve bu sürenin sonunda bitkilerin kök ve gövde dokularında arsenik birikimi belirlenmiştir. Çalışmada kök ve gövde dokularında arsenik birikiminin konsantrasyona bağlı olarak önemli derecede arttığı ve en fazla birikimin gövde dokularında olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, fitokelatin miktarlarının gövde dokusunda kök dokusunun 3 katı olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, uygulama zamanının fitokelatin sentezi üzerine olan etkisini saptamak amacı ile bitkilere 50 μM arsenat uygulanmış ve dokulardaki arsenik

birikiminin zamana bağılı olarak arttığı, 3. günden itibaren gövde dokularındaki arsenik miktarının kök dokusundakinin 2 katına yükseldiği rapor edilmiştir. Fitokelatin miktarının 3. günde bir artış gösterdiği ve 7. güne kadar da benzer konsantrasyonda kaldığı bildirilmiştir. Yine köklerdeki fitokelatin konsantrasyonunun gövdedekinden daha az olduğu da rapor edilmiştir. Bu araştırmacılar, hem kök hem de gövde dokularında fitokelatin birikiminin bu dokularda biriktirilen arsenik miktarı ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, fitokelatinlerin As toleransından sorumlu olmadığını da bildirmişlerdir [175].

Yukarıda bahsedildiği gibi, çalışmamızda Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinde fitokelatin miktarlarının en fazla kök dokusunda belirlendiği bunu gövde ve yaprak dokularının takip ettiği görülmektedir. Bulgularımız Stolt vd. [122], Sun vd. [164] ve Gadapati vd. [174]'nin bulgularıyla paralellik göstermektedir. Sonuç olarak dokulardaki fitokelatin miktarlarının bu dokularda biriktirilen Cd miktarlarına bağılı olduğu ve bu sebeple de en fazla kök dokularında biriktiği belirlenmiştir. Bu ilişki Şekil 4.11-14'de açıkça görülmektedir. Ancak Zhao vd. [176]'nin arsenik hiperakümülatörü olan *Pteris vittata* ile yaptıkları çalışmada, gövde dokularındaki fitokelatin miktarlarının kök dokularından yüksek olduğu bulguları çalışma bulgularımızla farklılık göstermektedir. Bu farklılığın kullanılan bitki çeşidinin ve uygulanan ağır metalin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarlarının zamana bağılı olarak değişimi incelendiğinde ise, farklı konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ uygulamasında yaprak ve kök dokularında fitokelatin miktarlarının zamana bağılı olarak bir artış, gövde dokularında ise her iki bitki çeşidinde zamana bağılı olarak bir azalma gösterdiği belirlenmiştir. Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında zamana bağılı olarak fitokelatin miktarlarında belirlenen bu artış ve azalışların istatistik olarak da önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6.) ($P \leq 0.05$). Bir su bitkisi olan *Hydrilla verticillata* ile yapılan bir çalışmada, doğal ortamından alınarak 1 hafta süre ile laboratuvar şartlarında yetiştirilen bitkilere 2.5 ve 10.0 μ M Cd uygulaması yapılarak 24., 72. ve 168. saatlerde gövde dokularındaki fitokelatin miktarları belirlenmiştir. Çalışma sonunda, fitokelatin miktarlarının artan Cd konsantrasyonuna ve zamana bağılı olarak artış gösterdiği ve en düşük fitokelatin miktarının 24. saatte 2.5 μ M Cd konsantrasyonunda 1.86 ± 0.09 μ mol/g T.A. iken, en yüksek fitokelatin miktarının 168. saatte 10 μ M Cd konsantrasyonunda 2.80 ± 0.12 μ mol/g T.A. olduğu rapor edilmiştir

[177]. Sneller vd. [178], 2 hafta süre ile su kültüründe yetiştirdikleri *S. vulgaris* bitkilerinde zamana bağlı olarak fitokelatin birikimini incelemek için 30 μM As uygulanmış bitkilerin kök ve gövde dokularından 1, 2, 4, 9, 15 ve 25 gün sonra örnekler alarak fitokelatin miktarlarını belirlemişlerdir. Çalışmada *S. vulgaris* bitkisinin kök dokusunda 1. günde 15.6 $\mu\text{mol/g}$ kuru ağırlık olan fitokelatin miktarının 2. günde artarak 22 $\mu\text{mol/g}$ kuru ağırlığa ulaştığı 4., 9., 15. ve 25. günlerde zamana bağlı olarak azalma gösterdiği ve en düşük değerinin de 25. günde 1.6 $\mu\text{mol/g}$ kuru ağırlık olduğu rapor edilmiştir. Gövde dokularında ise, en yüksek fitokelatin miktarının yine 2. günde 0.49 $\mu\text{mol/g}$ kuru ağırlık olarak saptandığı ve zamana bağlı olarak bir azalma göstererek en düşük değerinin 25. günde 0.04 $\mu\text{mol/g}$ kuru ağırlık olarak belirlendiği bildirilmiştir. Bu araştırmacılar, fitokelatin birikiminin As toksisitesi ile doğrusal bir ilişkisi olduğunu ve toksisitenin göstergesi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz bulgulara göre, ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak ve kök dokularında artan Cd konsantrasyonlarına bağlı olarak biriken Cd miktarlarının artışından dolayı ağır metallere karşı bir savunma mekanizması olarak fitokelatin miktarlarının arttığı, gövde dokularında ise Cd birikimlerinde zamana bağlı olarak meydana gelen azalma ile paralel olarak fitokelatin miktarlarının da azalma göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak ve kök dokularında artan Cd konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak fitokelatin miktarlarının artış gösterdiği bulgumuz Toppi vd [81], Stolt vd. [122], Sun vd. [164] ve Tripathi vd. [177] adlı araştırmacıların yaptıkları çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Ancak bizim bulgularımıza göre, Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin gövde dokularında zamana bağlı olarak bir azalma gözlemlenmiş ve bu bulgularımızın ise Sneller vd. [178] adlı araştırmacıların bulgularıyla paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarları birbiri ile karşılaştırıldığında tüm Cd konsantrasyonlarında (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) ve her iki uygulama zamanında (2. ve 4. gün) duyarlı Tarsan 1018 çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarlarının Meriç çeşidinden belirgin olarak fazla olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6.) ($P \leq 0.05$). De Knetch vd. [179], su kültüründe 14 gün yetiştirilen Cd'a dayanıklı ve duyarlı *S. vulgaris* bitkilerinde 30 μM CdSO_4 uygulamışlar ve 2, 4, 6 ve 8 gün sonra hem duyarlı hem de dayanıklı bitkilerin kök dokularında fitokelatin miktarlarının önemli bir artış gösterdiğini ve duyarlı bitkilerin köklerindeki fitokelatin miktarının

dayanıklı olandan 2–3 kat daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, Cd uygulamasının 1. gününde fitokelatin/Cd oranının duyarlı ve dayanıklı bitkilerde aynı olmasına rağmen, 3 gün sonra bu oranın duyarlı bitkilerde dayanıklı olanlardan daha yüksek olduğunu, fakat bu durumun Cd'un toksik etkisini azaltmadığını ve bu nedenle yapılan bu çalışmadan elde edilen verilere göre, fitokelatinlerin Cd dayanıklılığında bir anahtar rollerinin olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, bitkide Cd dayanıklılığının kısmen azaltılmış bir Cd alımına dayanabileceğini ancak dayanıklılık mekanizmasının en büyük kısmını oluşturamayacağını bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, 14 gün süre ile su kültüründe yetiştirilen Cd'a duyarlı ve dayanıklı *Silene vulgaris* bitkilerine 3 gün süre ile 0.3, 0.6, 1, 10, 30, 60, 90, 100, 135, 180, 250 ve 320 ve 1000 μM CdSO_4 uygulanmış ve tüm Cd konsantrasyonlarında bitkilerin kök dokularındaki fitokelatin miktarlarının her zaman duyarlı bitkilerde dayanıklı bitkilerden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar ayrıca, duyarlı bitkilerde kök dokularındaki en yüksek fitokelatin miktarlarının bu dokularda GSH konsantrasyonlarının azalması ile birlikte görüldüğünü bildirmişlerdir [180]. Yapılan başka bir çalışmada, kendi doğal ortamlarından toplanan tohumlar ile yetiştirilen *Adenophora lobophylla* ve *A. potaninii* bitkilerinin kök kültürlerine 7 gün süre ile 10, 15, 50, 100, 150, 200, 300 ve 400 μM Cd uygulaması yapılmış ve uygulamayı takiben duyarlı olan *A. lobophylla*'nın dayanıklı olan *A. potaninii*'den daha fazla Cd ve fitokelatin biriktirdiği bildirilmiştir [172]. Verkleij vd. [181], 14 gün süre ile su kültüründe yetiştirilen *Silene vulgaris* bitkisinin Cd'a duyarlı ve dayanıklı iki varyetesine 0, 1, 2, 5, 15 ve 40 mmol/m^3 konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamışlar ve uygulamadan 21 gün sonra kök ve gövde dokularındaki Cd birikimlerini ve fitokelatin miktarlarını incelemişlerdir. Araştırmacılar, 40 mmol/m^3 Cd konsantrasyonunda dayanıklı bitkinin kök ve gövde dokularındaki Cd birikiminin sırası ile 75.6 ve 12.2 mmol/Cd/kg doku, duyarlı bitkide ise Cd birikiminin kök ve gövde dokularında sırası ile 36.2 ve 16.0 mmol/Cd/kg doku olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışma sonunda, dayanıklı varyetenin kök dokularında fitokelatin miktarının $31.3 \pm 12.6 \text{ mmol/m}^3$, duyarlı varyetenin ise $13.3 \pm 4.7 \text{ mmol/m}^3$ olarak belirlendiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, dayanıklı bitkilerin kök dokularında duyarlı olanlara göre 2 kat daha fazla fitokelatin içermeleri sonucunda Cd'u köklerde kelatlayıp gövdeye taşınımını azalttığı, duyarlı bitkilerin ise dayanıklı bitkilere göre daha az fitokelatin sentezlemesinden dolayı bu bitkilerde Cd'un gövdeye daha fazla taşındığı rapor edilmiştir. Gadapati ve Sheila [174] adlı araştırmacılar, Cd uygulamasına dayanıklı *Brassica juncea* ve duyarlı *Brassica*

napus bitkilerini 22 gün süre ile su kültüründe yetiştirmiş ve bu sürenin sonunda bitkilere 50, 100, 150 ve 200 μM Cd uygulaması yaparak yaprak ve kök dokularında fitokelatin birikimlerini belirlemişlerdir. Yapılan çalışma sonunda, dayanıklı *B. juncea* türünün kök dokusunda fitokelatin miktarının duyarlı *B. napus* türünden yaklaşık 4 kat daha fazla olduğu, yaprak dokusunda ise, dayanıklı *B. juncea* türünün duyarlı *B. napus* türünün yarısı kadar fitokelatin içerdiği bildirilmiştir. Ağır metale dayanıklı *Chlamydomonas acidophila* KT-1 ve *Chlamydomonas acidophila* DVB238 ile duyarlı *Chlamydomonas reinhardtii* C-9 algleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, ağır metale dayanıklı türlere 60 μM ve 1.5 mM, duyarlı olan türe ise 6 μM Cd uygulanarak 1. ve 4. günlerdeki fitokelatin miktarları incelenmiştir. Çalışma sonucunda 60 μM Cd konsantrasyonunda *C. acidophila* KT-1 çeşidinde 1. gündeki fitokelatin miktarlarının 11.56 nmol/mg kuru ağırlık iken, 4. günde azalarak 4.99 nmol/mg kuru ağırlık olduğu, *C. acidophila* DVB238 çeşidinde ise 1. günde 0.76 nmol/mg kuru ağırlıktan 4. günde 4.67 nmol/mg kuru ağırlığa yükseldiği, ayrıca diğer çeşitlerin büyüme gösteremediği 1.5 mM Cd konsantrasyonunda ve 4. günde ise 19.38 nmol/mg kuru ağırlık fitokelatin sentezlediği bildirilmiştir. Araştırmacılar, *C. acidophila* KT-1 ve *C. acidophila* DVB238 çeşitlerinin 60 μM 'lık Cd uygulamasının 4. gününde sentezledikleri fitokelatin miktarlarının *C. reinhardtii* C-9 türünün 6 μM Cd uygulamasının 4. gününde sentezlediği fitokelatin miktarları ile hemen hemen aynı olduğunu, *C. acidophila* DVB238'nin *C. acidophila* KT-1'den 170 kat daha fazla Cd, *C. reinhardtii* C-9'dan ise 59 kat daha fazla Cd biriktirdiğini bildirmişlerdir [182].

Gerek literatür bilgilerine göre, gerekse yaptığımız bu çalışmaya göre, ağır metale duyarlı olan çeşitler dayanıklı olanlara göre daha fazla fitokelatin sentezlemektedir. Bunun sebebinin duyarlı bitkilerin Cd alımını engelleyici mekanizmalardan yoksun olması sebebiyle dokularında daha fazla Cd birikmesi ve bu sebeple de serbest Cd'ü bağlayabilmek için daha fazla fitokelatin sentezlemesi olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz, CdSO_4 uygulamasına duyarlı Tarsan 1018 çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularında 2. ve 4. günlerde dayanıklı Meriç çeşidinden daha yüksek miktarda fitokelatin sentezlediği bulgumuz, Wu vd. [173], De Knecht vd. [179], De Knecht vd. [180] ve Nishikawa vd. [182] tarafından desteklenirken, Verkleij vd. [181] ve Gadapati ve Sheila [174]'nın bulguları ile zıttır.

Çalışmamızda kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) CdSO_4 uygulaması yapılmış ayçiçeği bitkisinin Cd uygulamasına duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşitlerinin yaprak dokularında uygulamanın 2. ve 4.

günlerinde toplam çözünebilir protein miktarları incelenmiştir. Çizelge 4.7. incelendiğinde, dayanıklı Meriç çeşidinin yaprak dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının 150 μ M, 200 μ M ve 250 μ M Cd konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre bir artış gösterdiği, 300 μ M Cd konsantrasyonunda ise kontrol grubuna göre azaldığı görülmektedir. Tarsan 1018 çeşidinde ise uygulanan tüm Cd konsantrasyonlarında toplam çözünebilir protein miktarlarında kontrole göre bir artış olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7., Şekil 4.16.). Kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ uygulamasının 4. gününde Meriç çeşidinin yaprak dokusunda toplam çözünebilir protein miktarlarının sırasıyla 77.30 $\pm$ 1.06 mg/mL, 76.26 $\pm$ 2.63 mg/mL, 73.36 $\pm$ 1.79 mg/mL, 67.96 $\pm$ 1.48 mg/mL ve 64.56 $\pm$ 0.83 mg/mL ve Tarsan 1018 çeşidinin yaprak dokusunda sırasıyla 85.83 $\pm$ 4.66 mg/mL, 81.20 $\pm$ 1.95 mg/mL, 70.63 $\pm$ 3.89 mg/mL, 64.74 $\pm$ 3.65 mg/mL ve 57.43 $\pm$ 3.08 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.8.'den de görüldüğü gibi, hem Meriç hem de Tarsan 1018 çeşitlerinde artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrol grubuna göre bir azalma gösterdiği ve bu azalmanın duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde dayanıklı Meriç çeşidine göre daha belirgin olduğu saptanmıştır.

Dayanıklı Meriç ve duyarlı Tarsan 1018 çeşitlerinin gövde dokularında kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ uygulamasına bağlı olarak toplam çözünebilir protein miktarlarının hem 2. hem de 4. günlerde kontrole göre bir azalma gösterdiği, ancak bu azalmanın 300 μ M Cd uygulama konsantrasyonu hariç istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.7 ve 4.8). Yine Çizelge 4.7. ve 4.8. incelendiğinde, Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ uygulamasının 2. ve 4. günlerinde kontrol grubuna göre belirgin bir azalma gösterdiği ve tüm uygulama grupları ve dokularda toplam protein miktarının en düşük değerinin 4. günde 250 μ M Cd konsantrasyonunda 29.00 $\pm$ 1.47 mg/mL olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda toplam çözünebilir protein miktarları açısından ayçiçeği bitkisinde en hassas dokuların kök dokuları olduğu görülmüştür. Her iki çeşitte ve uygulama zamanında kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarları CdSO₄ uygulama konsantrasyonlarına göre belirgin olarak azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, Lanaras vd. [130], maden cevheri yakınlarında (3050 µg/g Cu içeren toprakta) ve normal (140 µg/g Cu içeren toprakta) toprakta büyüyen *Triticum aestivum* L. cv. Vergina bitkilerinin yaprak dokularında toplam çözünebilir protein miktarlarını belirlemişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonunda yüksek konsantrasyonda Cu içeren toprakta büyüyen bitkilerin toplam çözünebilir protein miktarlarının normal toprakta büyüyenlerden % 37 daha az olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, Pankovic vd. [183] adlı araştırmacılar, farklı azot kaynaklarında (2, 7.5 ve 10 mM NO₃⁻) yetiştirdikleri *Helianthus annuus* bitkilerine 0.5, 2 ve 5 µM Cd uygulamışlar ve bitkinin yaprak dokularında çözünebilir protein içeriğinin uygulanan tüm NO₃⁻ konsantrasyonlarında artan Cd uygulaması ile birlikte arttığını, en yüksek toplam çözünebilir protein miktarının 10 mM NO₃⁻ konsantrasyonunda ve 5 µM Cd uygulaması yapılan grupta 454.0±9 µg/cm² olarak belirlendiğini rapor etmişlerdir [183]. Wu vd. [173], Cd'a duyarlı olan *Adenophora lobophylla* ve dayanıklı olan *A. potaninii* kök kültürlerine 10, 15, 50, 100, 150, 200, 300 ve 400 µM Cd uygulamasını takiben 3. günde toplam çözünebilir protein miktarlarının 200 µM'dan düşük Cd konsantrasyonlarında artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmada, *A. lobophylla* ve *A. potaninii* kök kültürlerinde en yüksek toplam çözünebilir protein miktarlarının 50 µM Cd konsantrasyonunda sırası ile 44.638±9.428 mg/g kuru ağırlık ve 56.986±2.909 mg/g kuru ağırlık olduğunu ve *A. potaninii* bitkisinde toplam çözünebilir protein miktarındaki artışın *A. lobophylla*'dan daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar 50 µM'dan daha yüksek Cd konsantrasyonlarında toplam çözünebilir protein miktarlarının azalma gösterdiğini ve en düşük değerinin 400 µM Cd konsantrasyonunda *A. lobophylla*'da 3.731±1.014 mg/g kuru ağırlık olarak saptandığını rapor etmişlerdir.

Phragmites australis bitkisine 50 ve 100 µM Cd uygulaması yapılan bir çalışmada, Cd uygulamasından 21 gün sonra yaprak dokularında toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrol grubunda 40 mg/g T.A. iken, 50 µM Cd uygulamasında kontrole göre bir artış gösterdiği, 100 µM Cd uygulamasında ise azaldığı fakat yine de kontrol değerinden yüksek olduğu bildirilmiştir [184]. Bezelye (*Pisum sativum* L., cv. Lincoln) bitkilerinde yapılan bir çalışmada ise, 50 µM Cd uygulamasını takiben 28 gün sonra toplam çözünebilir protein miktarları belirlenmiş ve çalışma sonunda kontrol grubunda 5.36 ± 0.35 mg/mL olarak belirlenen toplam çözünebilir protein miktarının 50 µM Cd uygulamasında 4.82±0.34 mg/mL olduğu ve Cd uygulamasının toplam

çözünebilir protein miktarında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir [185]. Konu ile ilgili diğer çalışmalarda, Stoeva ve Bineva [126], yulaf bitkisinde 40, 80 ve 160 mg As/kg uygulamışlar ve bitkinin kök dokularındaki çözünebilir protein miktarlarını belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda, çözünebilir protein miktarlarının kontrol grubunda 12.45 ± 0.96 mg/g T.A. iken artan As konsantrasyonuna (40, 80 ve 160 mg As/kg) bağlı olarak azaldığı ve sırası ile 11.35 ± 1.18 mg/g T.A., 10.36 ± 0.83 mg/g T.A., 8.45 ± 0.46 mg/g T.A. olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, yulaf bitkisinin kök dokularında As uygulamasına bağlı olarak toplam protein miktarında meydana gelen % 9, % 17 ve % 32 oranında azalmanın metal uygulamasına bağlı olarak azalan biyosentezlerin ve hızlandırılmış katabolik süreçlerin bir sonucu olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca, protein miktarındaki azalmanın bu proteinlerin amino asitlere yıkımından kaynaklandığını, bunun nedeninin ise karbonhidrat eksikliğine karşı bir adaptasyon yolu olduğunu da bildirmişlerdir. Hsu ve Kao [186], 12 günlük *Oryza sativa* L., cv. Taichung Native 1 bitkisine 5 mM Cd uygulamasını takiben 24. saatte kontrol grubunda 51.35 ± 1.27 mg/g T.A. olan toplam çözünebilir protein miktarının Cd uygulamasına bağlı olarak azaldığını ve 27.53 ± 0.98 mg/g T.A. olduğunu rapor etmişlerdir [186]. Liu vd. [128] ise, *Hordeum vulgare* bitkisinin tohumlarına çimlenmenin 3. gününde 30, 60 ve 120 mg/L Cd uygulaması yaparak 6. günde toplam çözünebilir protein miktarlarını belirlemişlerdir. Çalışma sonunda kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrol grubunda 545.8 ± 23.1 µg/g T.A. iken, artan Cd konsantrasyonunda (30, 60, 120 mg/L) sırası ile 508.8 ± 15.5 mg/L, 370.4 ± 15.6 mg/L ve 329.4 ± 23.4 mg/L olduğu ve artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı rapor edilmiştir.

Diğer araştırmacıların bulguları genel olarak incelendiğinde, çalışma bulgularımıza benzer şekilde bitkilerde toplam çözünebilir protein miktarlarının ağır metal stresi altında genellikle bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ancak bitkilerdeki bu proteinler düşük metal konsantrasyonlarında ilk başta genellikle kontrol grubuna göre bir artış göstermektedir. Bunun sebebinin kısa süreli ve düşük konsantrasyonlarda uygulanan metale karşı bitki bünyesinde stresle uyarılan proteinlerin artması olabileceği bildirilmektedir. Ancak artan Cd stresine bağlı olarak diğer araştırmacıların bulgularına paralel şekilde [126, 128, 130, 179, 183, 185, 186] çalışmamızda da toplam çözünebilir protein miktarlarının azaldığı görülmektedir (Çizelge 4.7, 4.8, 4.9 ve Şekil 4.15., 4.16., 4.17., 4.18.). Protein miktarlarındaki bu azalmalar ağır metal stresi altında proteinlerin yıkılmasına neden olan proteaz ve diğer katabolik enzimlerin aktivitelerinin artması ile

birlikte dokulardaki proteinlerin aminoasitlere yıkılmasının bir sonucu olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda Meriç çeşidinde farklı Cd konsantrasyonlarında en fazla toplam çözünebilir protein miktarlarının yaprak dokularında olduğu ve bu dokuyu sırasıyla gövde ve kök dokularının takip ettiği belirlenmiştir. Tarsan 1018 çeşidinde kontrol grubunda ve farklı konsantrasyonlarda Cd uygulamasında yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarlarının birbirlerinden önemli derece farklı olduğu ve bu farkın istatistik olarak da önemli olduğu saptanmıştır ($P \leq 0.05$). Kontrol grubunda ve uygulanan tüm Cd konsantrasyonlarında en yüksek toplam çözünebilir protein miktarı yaprak dokularında belirlenmiştir (Çizelge 4.7-9). Her iki çeşitte ve uygulama süresinde kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarlarındaki azalmaların daha belirgin olduğu saptanmıştır.

Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, çalışma bulgularımızı destekler şekilde Singh vd. [127], 6 hafta süre ile su kültüründe yetiştirdikleri *Bacopa monnieri* bitkisine 10, 50, 100 ve 200 μM Cd uygulamışlar ve uygulamayı takiben 48., 96. ve 144. saatlerde yaprak ve kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının artan Cd konsantrasyonuna ve zamana bağlı olarak azaldığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, toplam çözünebilir protein miktarındaki azalmaların 200 μM Cd konsantrasyonunda meydana geldiğini ve yaprak dokusunda % 58.95 iken, kök dokusunda % 47.73 olduğunu bildirmişlerdir. Lagriffoul vd. [187], *Zea mays* bitkilerine 11 gün süre ile 5, 10, 15, 20 ve 25 μM Cd uygulamasına bağlı olarak kök ve 4. yapraklarda toplam çözünebilir protein içeriğinde önemli bir değişiklik olmadığını ve kök dokularındaki protein içeriğinin yaprak dokularından daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, toplam çözünebilir protein içeriğindeki önemli değişikliklerin bitkinin 3. yaprağında meydana geldiğini, belirli bir konsantrasyona kadar artış gösterirken artan Cd konsantrasyonlarında azaldığını bildirmişlerdir. Chiraz vd. [188] adlı araştırmacılar ise, 10 gün süre ile su kültüründe yetiştirdikleri *Lycopersicon esculentum* Mill. bitkisine 50 μM Cd uygulamışlar ve 1 hafta sonra bitkilerin hem gövde hem de kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarlarının azaldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, toplam çözünebilir protein miktarlarındaki azalmaların kök dokularında gövde dokularından daha belirgin olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, 1 hafta süre ile su kültüründe yetiştirilen *Triticum aestivum* bitkilerine 10 ve 100 mg/kg Cd uygulanmış ve uygulamayı takiben ilk 4 günde yaprak ve kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının 10 ve 100 mg/kg Cd uygulamasında yaprak

dokularında 1., 3. ve 4. günlerde kontrole göre azalma gösterdiği, ikinci günde ise kontrole göre bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Kök dokularında ise, hem 10 hem de 100 mg/kg Cd uygulamasında toplam çözünebilir protein miktarlarının kontrole göre azalma gösterdiği ve en düşük toplam çözünebilir protein miktarının 3. günde 100 mg/kg Cd uygulamasında olduğu rapor edilmiştir [189]. Mishra vd. [190], 22 günlük *Bacopa monnieri* bitkisine 1, 5, 10, 25, 50 ve 100 µM Cd uygulaması yapmış ve 25 µM Cd konsantrasyonunda 2. güne kadar hem yaprak hem de kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarının sırası ile % 37 ve % 34 oranında arttığını bildirmişlerdir. Çalışmada yaprak dokusundaki toplam çözünebilir protein içeriklerinin kök dokusundan daha fazla olduğu, uzun süreli Cd uygulamasında (4 ve 7 gün) toplam çözünebilir protein içeriğinin hem yaprak hem de kök dokularında azaldığı ve azalmanın en fazla 100 µM Cd konsantrasyonunda sırası ile % 54 ve % 41 oranında olduğu rapor edilmiştir. Araştırmacılar, düşük Cd konsantrasyonlarında ve kısa süreli uygulamada protein düzeyindeki artışların stres proteinlerinin indüksiyonundan dolayı olabileceğini rapor etmişlerdir [190].

Singh vd. [165], *Helianthus annuus* bitkisini % 10, 25, 35, 50, 75 ve 100 oranında tabakhane atığı (12.500 µg/g kuru ağırlık Cr, 827.19 µg/g kuru ağırlık Fe, 73.75 µg/g kuru ağırlık Zn ve 314.62 µg/g kuru ağırlık Mn) bulunan ortamda yetiştirmiş ve bitkinin yaprak, gövde ve kök dokularında 30, 60 ve 90 gün sonra toplam çözünebilir protein miktarlarını belirlemişlerdir. Çalışma sonunda, tüm atık konsantrasyonlarında 30. ve 60. günlerde kök dokularında toplam çözünebilir protein içeriğinin kontrollere göre önemli bir artış gösterdiği, buna karşın 90. günde % 100 atık kullanılan grupta kontrole göre % 16.11 oranında azalma olduğu rapor edilmiştir. Kök dokularında toplam çözünebilir protein içeriğinde en yüksek değerin 90. günde % 35 atık kullanılan grupta olduğu (kontrole göre % 91.57 artış) bildirilmiştir. Yaprak dokularında ise, 30. günde kontrole göre tüm konsantrasyonlarda, 60. günde % 50 atık konsantrasyonunda, 90. günde ise % 35 atık konsantrasyonunda toplam çözünebilir protein içeriğinde kontrole göre artış olduğu ve bu konsantrasyonlardan sonra protein içeriğinde azalmalar olduğu rapor edilmiştir.

Bizim bulgularımız ve diğer araştırmacıların bulguları [165, 189, 190] bir arada incelendiğinde, ağır metal stresinden en fazla kök dokularındaki toplam çözünebilir protein miktarlarının etkilendiği görülmektedir. Bu da bize, kök dokularının ağır metal stresine ilk ve en fazla maruz kalan bölge olması ve en fazla metal birikiminin kök

dokularında olmasından dolayı en fazla protein yıkımının kök dokusunda olabileceği fikrini vermektedir.

Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgulara göre, bitki dokularında toplam çözünebilir protein miktarlarının ağır metal uygulama süresi arttıkça azaldığı belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise, bazı konsantrasyonlarda dokularda belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları uygulama süresi arttıkça azalış gösterirken özellikle Meriç çeşidinin yaprak dokularında uygulama süresinin artması ile toplam çözünebilir protein miktarlarının arttığı görülmektedir (Çizelge 4.9). Ancak gövde ve kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarları diğer araştırma bulgularına benzer şekilde uygulama süresine bağlı olarak azalmış ve birçok konsantrasyonda bu azalış istatistik olarak da önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Yaprak dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları ile ilgili bulguların literatürlerle farklılık göstermesinin sebebinin, diğer çalışmalarda farklı bitki çeşitlerinin ve farklı metal türlerinin kullanılması olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda, kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) CdSO_4 uygulaması yapılmış ayçiçeği bitkisinin Cd'a dayanıklı Meriç ve duyarlı Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında NO düzeyleri belirlenmiştir (Çizelge 4.10, 4.11., 4.12. ve Şekil 4.23., 4.24., 4.25., 4.26.). Meriç çeşidinde kontrol grubunda belirlenen NO düzeylerinin, farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulaması ile birlikte dokularda biriken Cd miktarları ile ilişkili olarak artış gösterdiği saptanmıştır. Sentezlenen NO düzeyleri açısından dokular birbirleri ile karşılaştırıldığında, ortamdaki Cd birikiminden en fazla etkilenen dokunun kök dokuları olması nedeni ile NO düzeylerinde en fazla artışın kök dokularında olduğu görülmüştür. Çizelge 4.10. incelendiğinde, Meriç çeşidinin kök dokusunda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde 300 μM Cd konsantrasyonunda NO düzeylerinin kontrole göre yaklaşık 2 kat artış gösterdiği ve $8.75 \pm 0.31 \mu\text{M}$ 'dan $17.76 \pm 0.72 \mu\text{M}$ 'a yükseldiği görülmektedir. Yine 300 μM Cd konsantrasyonunda 4 günlük uygulamada ise, kök dokusunda belirlenen NO düzeyi kontrol grubuna göre yaklaşık 3 kat artış göstermiştir (Çizelge 4.11.). Dayanıklı Meriç çeşidinde yaprak ve gövde dokularında belirlenen NO düzeyleri ise her iki Cd uygulama süresinde en yüksek uygulama konsantrasyonu olan 300 μM Cd uygulama konsantrasyonunda kontrol grubundakine göre yaklaşık 1.5 katlık bir artış göstermiştir. Duyarlı Tarsan 1018 çeşidinde 2 gün süre ile CdSO_4 uygulamasında yaprak dokularındaki NO düzeylerinin kontrole göre arttığı ve en yüksek NO düzeylerinin 300 μM Cd konsantrasyonunda $54.95 \pm 0.61 \mu\text{M}$ olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.10. ve Şekil

4.24.). Yapılan istatistik analize göre, 300 μM Cd konsantrasyonunda belirlenen NO düzeyi ile kontrol ve diğer Cd konsantrasyonlarında belirlenen NO düzeyleri arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P \leq 0.05$), diğer Cd uygulama konsantrasyonlarındaki NO düzeylerinin kontrol ile istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermediği belirlenmiştir. Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusunda kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (150 μM , 200 μM , 250 μM ve 300 μM) CdSO_4 uygulamasının 2. günündeki NO düzeyleri sırası ile $36.52 \pm 1.68 \mu\text{M}$, $22.08 \pm 0.39 \mu\text{M}$, $26.76 \pm 2.16 \mu\text{M}$, $28.44 \pm 0.55 \mu\text{M}$ ve $30.72 \pm 1.29 \mu\text{M}$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10.). Çizelge 4.10. incelendiğinde, Tarsan 1018 çeşidinin gövde dokusunda CdSO_4 uygulamasının 2. gününde NO düzeylerinin kontrole göre azaldığı, kök dokularında ise (150 μM Cd konsantrasyonu hariç) kontrole göre arttığı görülmektedir. Tarsan 1018 çeşidinde kontrol ve farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 uygulamasının 4. gününde yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeylerinin, Cd konsantrasyonuna bağlı olarak (gövde dokusu 150 μM ve 200 μM Cd konsantrasyonları hariç) kontrole göre artış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.11.).

Çalışmamızda, dayanıklı Meriç ile duyarlı Tarsan 1018 çeşitleri dokularında sentezledikleri NO düzeyleri açısından birbirleri ile kıyaslandığında dayanıklı Meriç çeşidinde tüm konsantrasyonlarda ve her iki uygulama süresinde dokularda sentezlenen NO düzeylerinin, duyarlı Tarsan 1018 çeşidinden yaklaşık % 50 oranında daha fazla olduğu görülmektedir (Çizelge 4.10., 4.11., 4.12. ve Şekil 4.23., 4.24., 4.25., 4.26.). Ayrıca, CdSO_4 uygulamasının 2. ve 4. günlerinde dayanıklı Meriç çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokulardaki NO düzeylerinin dokularda biriken Cd miktarları ile ilişkili olarak artış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.10. ve Şekil 4.27., 4.29.). Tarsan 1018 çeşidinde ise CdSO_4 uygulamasının 2. gününde NO düzeylerinin dokularda biriken Cd miktarları ile ilişkili olarak artış göstermediği, CdSO_4 uygulamasının 4. gününde ise dokularda biriken Cd miktarları ile bu dokularda belirlenen NO düzeylerinin ilişkili olduğu saptanmıştır (Şekil 4.28. ve 4.30.).

Literatür bilgilerimize göre, ağır metal stresi altındaki bitki dokularında NO düzeylerinin belirlendiği çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Konu ile ilgili olarak Zhao vd. [191] adlı araştırmacılar, *Arabidopsis thaliana* bitkisinin yabancıl tipleri ve nitrik oksit sentaz aktivitesi % 80 oranında azaltılmış (NO üretimi büyük oranda azaltılmış) mutantları ile yaptıkları bir çalışmada, 7 günlük bitkilere NaCl ve metil viyolojen (MV) stresleri uygulamışlardır. Araştırmacılar ayrıca, NO'nun bu stres koşullarındaki rollerini belirlemek için NO inhibitörleri olan c-PTIO (2-fenil-4; 4; 5; 5-tetrametailimidazolin-1

oksil-3-oksid) ve L-NNA (n-nito-L-arjinin) ve NO vericisi olan SNP (sodyum nitroprussid) uygulamaları yapmışlardır. Çalışma sonunda, mutant bitkilerin yabani tiplere oranla NaCl ve MV stresinden daha fazla etkilendikleri bildirilmiştir. Örneğin, mutant fidelerin 100 mM NaCl ve 0.2 μ M MV stresi altında hayatta kalma oranları yabani tiplere göre daha düşük iken, yaprak dokularında stresi takiben meydana gelen elektrolit sızmaları ise daha yüksek olarak bulunmuş, NO vericisi olan SNP uygulamasının MV uygulamasında elektrolit sızmasını azalttığı, NO inhibitörleri olan L-NNA ve c-PTIO uygulamasının ise yine elektrolit sızmasını artırdığı bildirilmiştir. Yine, MV uygulaması ile artan hidrojen peroksit (H_2O_2) üretimi ve lipid peroksidasyonunun mutant bitkilerde daha yüksek olduğu, bunun nedeninin de içsel NO'nun H_2O_2 miktarlarını düzenlemesi olabileceği rapor edilmiştir. Araştırmacılar, elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda, mutant bitkilerin NO üretiminin yabani tiplere göre çok daha düşük olmasından dolayı bu bitkilerin NaCl ve MV streslerinden çok daha fazla etkilendiklerini, hem içsel hem de dışsal NO'nun MV tarafından meydana getirilen oksidatif stresten bitkiyi koruyucu rolü olduğunu, ayrıca H_2O_2 , süperoksit anyon ve hidroksil radikal seviyelerinin azalmasını sağlayarak fotooksidatif hasardan koruyucu rolü olduğunu rapor etmişlerdir [191]. *Oryza sativa* bitkisi ile yapılan bir çalışmada, 8 günlük bitkilere 2 gün SNP ön uygulaması yapılarak 2 gün süre ile 100 mM NaCl uygulanmış ve düşük konsantrasyonlarda (1-10 μ M) SNP uygulaması ile birlikte tuz stresinin olumsuz etkilerinin azaldığı ve 100 μ M'dan yüksek SNP konsantrasyonlarda ise tuz uygulamasındakine benzer şekilde büyüme inhibisyonunun meydana geldiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, sıcaklık stresinde NO'nun rolünü araştırmak amacı ile 5 saat süre ile 50 °C'de bırakılan bitkilerde 1 μ M SNP uygulaması yapılanların sıcaklık stresinin olumsuz etkilerinden daha az etkilendiklerini rapor etmişlerdir. Çalışma sonunda, SNP uygulamasının tuz ve sıcaklık stresine karşı koruyucu rol oynadığı, tuz ve sıcaklık stresinin zararlı etkilerini azalttığı belirlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca NO'nun abiyotik stres toleransında önemli bir sinyal molekül olabileceği de bildirilmiştir [136]. Beligni ve Lamattina [192], 1 ay süre ile yetiştirdikleri *Solanum tuberosum* bitkisinin tam olarak açılmış yapraklarına NO vericileri olan 100 μ M SNP uygulamasını takiben 36 saat süre ile 4 mg/L diquat (herbisit) uygulaması yapmışlardır. Araştırmacılar, sadece herbisit uygulanan grupta lipid peroksidasyonunun göstergesi olan malondialdehit miktarlarının kontrole göre % 79 artış göstermiş olmasına rağmen, SNP uygulanan grupta kontrol düzeyinden sadece % 19 arttığını, SNP'nin herbisit neden olduğu protein kaybını % 100 engellediğini,

hidroksil radikal miktarını 2.5 kat azalttığını bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacıların 1 ay süre ile yetiştirdikleri *Solanum tuberosum* bitkisine 4 mg/L metil viyolojen herbisiti uygulayarak yaptıkları çalışmada, herbisit uygulamasının uygulamadan 72 saat sonra klorofil miktarını % 92 düşürdüğü, buna karşın herbisit ile birlikte SNP uygulamasında klorofil içeriğinin sadece % 20 azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada araştırmacılar, *Phytophthora infestans* ile enfekte ettikleri patates yapraklarında büyük miktarda lezyon görülmesine rağmen, fungus ile birlikte SNP uygulaması yapılan grupta ise, sadece birkaç lezyon görüldüğünü rapor etmişlerdir [141]. Konu ile ilgili olarak yapılan başka bir çalışmada, 100 µM SNP içeren ortamda 7 gün süre ile yetiştirilen *Heliantus annuus* bitkisine 3 gün süre ile 0.5 mM Cd uygulaması yapılmış ve NO+Cd uygulaması yapılan bitkilerin yaprak dokularında Cd uygulamasının zararlı etkilerinin oldukça azaldığı bildirilmiştir. Sadece Cd uygulanan bitkilerin kuru maddelerinin kontrole göre % 33 azalma göstermesine rağmen, NO ön uygulaması yapılan bitkilerin kuru ağırlıklarının % 16 oranında azaldığı ve bu bitkilerin Cd'un zararlı etkilerinden daha az etkilendikleri bildirilmiştir. Çalışmada ayrıca, NO ön uygulamasının ayçiçeği bitkilerinde büyüme inhibisyonunu ve klorofil yıkımını engellediği, katalaz aktivitesini ve glutatyon düzeylerini kontrol düzeylerine getirdiği, askorbat içeriğini ve askorbat peroksidaz aktivitesini artırdığı ve böylece Cd'un neden olduğu oksidatif hasarı önemli derecede azalttığı bildirilmiştir [137]. Rodriguez-Serrano vd. [193], 14 günlük *Pisum sativum* bitkilerine 14 gün süre ile 50 µM Cd uygulaması yapmışlar ve çalışma sonunda kök dokularında belirlenen NO düzeylerinin Cd uygulaması ile azaldığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, diğer NO düzeylerinde görülen bu azalmanın nedenini hücrelerin metal stresine kısa ve uzun süreli uygulamalarda verdiği farklı tepkiler olarak değerlendirmişlerdir. NO oksidatif hasarı engellediğinden dolayı bazı araştırmacılar tarafından antioksidan olarak değerlendirilmektedir. Kadmiyum stresi tarafından süperoksit anyonunun artması ve NO üretiminin azalması NO'nun antioksidatif rolünün olduğu fikrini desteklemektedir. *Phragmites communis* Trin. bitkisinin tuza duyarlı (SR) ve dayanıklı (DR) kallusları kullanılarak yapılan bir çalışmada kalluslara 48 saat süre ile 200 mM NaCl, 0.2 mM SNP ve NO inhibitörleri olan 0.3 mM L-NNA (N-nitro-L-arjinin) ve 0.4 mM PTIO (2-fenil-4,4,5,5-tetrametil-imidazoline-1-oksil-3-oksit) uygulaması yapılmış ve bu sürenin sonunda kallus dokularındaki NO düzeyleri ve NOS (Nitrik oksit sentaz) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda, NaCl uygulamasına bağlı olarak tuza duyarlı kallusta NOS enzim aktivitelerinin ve NO düzeylerinin hemen hemen

değişmediği, dayanıklı kallusta ise NOS enzim aktivitesinin % 22 artış gösterdiği, NO düzeyinin de % 84 artış gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmacıların elde ettiği bulgular genel olarak incelendiğinde NO molekülünün bitkilerde ortamdaki stres etmenine bağlı olarak duyarlı ve dayanıklı olmayı belirlediği, aynı zamanda stresin yoğunluğuna göre dokularda belirlenen NO düzeylerinin de artış gösterdiği görülmektedir [194]. Mısır bitkisi ile yapılan bir çalışmada, Fe içermeyen ve 10, 50 100 μM Fe içeren kültür çözeltilerine yetiştirilen 20 günlük bitkilere 100 μM SNP uygulanmış ve NO'nun Fe eksikliğinin neden olduğu klorozisi önlediği ve Fe eksikliği bulunan ortamda bitkinin büyümeye devam etmesini sağladığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, mısır yapraklarında Fe eksikliğinin reaktif oksijen türlerinin artışına neden olarak oksidatif stres meydana getirdiğini, NO'nun da bir antioksidan olarak oksidatif stres altındaki mısır yapraklarını strese karşı koruduğunu rapor etmişlerdir [195]. Hsu ve Kao [186] adlı araştırmacılar, 5 mM CdCl_2 uygulanmış 12 günlük pirinç bitkilerine 100 μM SNP uygulamışlar ve 24 saat sonra SNP'nin Cd tarafından meydana gelen lipid peroksidasyonunu, antioksidan enzim aktivitelerindeki artışı ve Cd toksisitesini azalttığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, Cd ve SNP uygulanmış olan pirinç yapraklarında antioksidan enzimlerin aktivitelerini ve lipid peroksidasyonunun azaltmasından dolayı NO'nun reaktif oksijen süpürücüsü olarak hareket ettiğini rapor etmişlerdir. Benzer bir çalışmada, Yu vd. [196] adlı araştırmacılar, 6 saat süre ile 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP (NO vericisi) ve 100 $\mu\text{mol/L}$ SNP+100 $\mu\text{mol/L}$ c-PTIO (NO süpürücüsü) ön uygulaması yapılan 12 günlük pirinç bitkilerine 18 saat süre ile 100 μM CuSO_4 uygulamışlar ve NO'nun Cu'ın neden olduğu toksisiteyi ve lipid peroksidasyonunu azalttığını, NO süpürücüsü olan c-PTIO'nun ise bu toksik etkileri geri döndürdüğünü bildirmişlerdir. Wang ve Yang [197], 12 saat 0.4 mM SNP ön uygulaması yapılmış *Cassia tora* bitkilerine 24 saat süre ile 10 μM Al uygulamış ve NO'nun Al uygulaması ile meydana gelen oksidatif stresin belirtileri olan lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türleri ile antioksidan enzim aktivitelerinin artmasına neden olan oksidatif stresi etkisiz hale getirdiğini rapor etmişlerdir. Bartha vd. [198] adlı araştırmacılar, su kültüründe yetiştirdikleri 4 haftalık *B. juncea* ve 1 haftalık *P. sativum* bitkilerine 5 gün süre ile 100 μM Cd, Zn ve Cu uygulamışlar ve bu sürenin sonunda *P. sativum* ve *B. juncea* bitkilerinin kök dokularında en düşük NO sentezinin Zn uygulanan bitkilerde olduğunu, NO düzeyinin Cd ve Cu uygulamasından 1 hafta sonra 2 katına yükseldiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca *P. sativum* ve *B. juncea* bitkilerinin kök dokularında 100 μM Cd uygulamasının 1, 2, 4, 6, 12, 24 ve 48. saatlerinde zamana bağlı olarak NO düzeylerinin artış gösterdiği bildirilmiştir. Aynı araştırmacıların

yaptıkları benzer bir çalışmada, *P. sativum* ve *Triticum aestivum* bitkilerine 0, 50, 100, 200, 400 mOsm konsantrasyonlarda polietilen glikol ile osmotik stres ve *Petroselinum crispum* bitkisine kuraklık stresi uygulanmış ve NO düzeyleri belirlenmiştir. *P. sativum* ve *T. aestivum* bitkilerinin kök dokularında polietilen glikol uygulamasını takiben 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24 ve 48 saat sonra NO düzeylerinin konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiği ve 400 mOsm konsantrasyonda kontrole göre yaklaşık 3 kat arttığı, *P. crispum* bitkisinde ise kuraklık uygulamasından 1 hafta sonra NO düzeyinin en yüksek değerine ulaştığı bildirilmiştir [199]. Zhang vd. [200] adlı araştırmacılar, ikinci yaprak meydana gelinceye kadar yetiştirdikleri mısır bitkisine 2 gün süre ile SNP (10, 100 ve 100 μ M) ön uygulaması yapmış ve bitkilere 8 gün süre ile 100 mM NaCl uygulamışlar ve mısır bitkisinde NO'nun tuz stresini azaltıcı etki gösterdiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, tuz stresinin neden olduğu büyüme inhibisyonunun 100 μ M SNP tarafından geri döndürüldüğünü, buna karşın 1000 μ M SNP konsantrasyonunda ise bu azaltıcı etkinin kaybolduğunu ve SNP uygulaması ile artan NO'nun mısır bitkisinin tuz stresine dayanıklılığını artırdığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada ayrıca yaprak dokularında NaCl uygulamasının 2. saatinde NO düzeyinin en yüksek değerine ulaştığını, 8. saatte ise kontrol düzeyine düştüğünü bu nedenlerden dolayı da NaCl tarafından uyarılan NO üretiminin geçici olduğunu rapor etmişlerdir.

Dışsal NO uygulamasının abiyotik strese karşı çeşitli fizyolojik süreçlere aracılık ettiği bildirilmektedir. NO vericisi SNP uygulamasının tuz [136], kuraklık [161], ağır metal [186] gibi abiyotik streslere karşı direnci artırdığı bildirilmiştir. Yapılan birçok araştırmada, NO'nun abiyotik streslere karşı koruyucu etkisinin NO'nun reaktif oksijen türlerinin azaltılmasına aracılık etmesi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Stres şartları altında NO'nun bitki hücrelerini reaktif oksijen türlerinin hasarından korumak için bir antioksidan olarak hareket ettiği ve antioksidatif gen ifadesinin değişmesine neden olan bir sinyal molekül olduğu da bildirilmiştir [71].

Literatür bilgilerimize göre, ağır metal stresinin serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak bitkilerde oksidatif strese de neden olduğu bildirilmektedir [19, 104, 105, 107, 126, 127, 137, 191]. Yapılan çalışmalarda, oksidatif strese neden olan (tuz, sıcaklık, ağır metal, kuraklık gibi) stres şartları altında NO vericisi olan SNP uygulamaları sonucunda artan NO düzeylerinin bitkilerin oksidatif stresten daha az etkilenmelerine neden olduğu da bildirilmiştir [136, 141, 186, 191, 192, 194-197, 200]. Bu nedenle çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, Cd stresine maruz kalan Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin dokularında NO düzeylerinde meydana

gelen artış NO'nun bitkilerin ağır metalin neden olduğu oksidatif stresin üstesinden gelmesinde bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Yaptığımız çalışmada farklı konsantrasyonlarda (150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M) CdSO₄ uygulamasına bağlı olarak NO düzeylerinde Meriç çeşidinin yaprak, gövde ve kök dokularında, duyarlı Tarsan 1018 çeşidine göre daha yüksek artışların meydana gelmesi bulgumuz, Zhao vd. [194], Bartha vd. [198], Kolbert vd. [199] ve Zhang vd. [200] adlı araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermektedir. Tüm Cd konsantrasyonlarda ve uygulama sürelerinde dayanıklı Meriç çeşidinde sentezlenen NO düzeyinin duyarlı Tarsan 1018 çeşidinden yaklaşık 1,5-4 kat daha fazla olması NO'nun ağır metal stresine dayanıklılıkta fizyolojik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, ayçiçeği bitkisinin Cd'a duyarlı Tarsan 1018 ve dayanıklı Meriç çeşitlerine 150, 200, 250 ve 300 μ M CdSO₄ uygulamasının 2. ve 4. günlerinde Cd'a duyarlı Tarsan 1018 çeşidinin dokularında Meriç çeşidinden daha fazla Cd biriktirdiğini bu nedenle dayanıklı Meriç çeşidinin Cd alımını engelleyen bir mekanizmaya sahip olabileceğini söyleyebiliriz. Yine, Tarsan 1018 çeşidinin dokularında Meriç çeşidinden daha fazla fitokelatin sentezlenmesinin bu çeşidin Meriç çeşidinden daha fazla Cd biriktirmesinden kaynaklandığı fikrini vermektedir. Tarsan 1018 çeşidinde Cd duyarlılığının Meriç çeşidinden daha fazla olmasından dolayı toplam çözünebilir protein miktarındaki azalmanın Meriç çeşidinden daha belirgin olduğu ve Meriç çeşidinin Tarsan 1018 çeşidinden daha yüksek miktarda NO sentezlediği belirlenmiştir. Ağır metal stresi altındaki bitkilerde içsel NO düzeylerinin araştırıldığı çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Bu nedenle, çalışmamızda dayanıklı ve duyarlı ayçiçeği çeşitlerinde ağır metal uygulamasına bağlı olarak NO düzeylerinin farklılık göstermesi bitkilerde ağır metal stresi çalışmalarında NO'nun da bir kriter olarak ele alınabileceği fikrini vermektedir.

Fitoremidasyon, çevre kirliliğinin kontrolü için geleneksel remidasyon teknolojilerine alternatif olan düşük maliyetli bir yöntemdir. Bununla birlikte, fitoremidasyon teknolojisinin başarısı birincil olarak uygun bitki türlerinin seçimine bağlıdır. Metal biriktirici bitkilerin (doğal ortamda veya kültür bitkileri) tanımlanması ve bu bitkilerin metal birikim potansiyelinin artırılması bu teknolojinin ticari ölçüde kullanılabilirliğini kolaylaştıracaktır. Yaptığımız bu çalışma sonunda, ülkemiz koşullarında yetiştiriciliği yapılan bazı ayçiçeği çeşitlerinin detoksifikasyon mekanizmalarında görev alan fitokelatinlerin ve NO molekülünün farklı ağır metal konsantrasyonlarında ve uygulama zamanlarındaki değişimleri açıklığa kavuşturulmuş,

iki farklı ayçiçeği bitkisinde protein düzeylerindeki değişim ortaya konmuştur. Çalışma bulguları ile kullandığımız dayanıklı ayçiçeği çeşidinin uygulanan yüksek Cd konsantrasyonlarında, dokularında biriktirdiği Cd miktarlarına rağmen gösterdiği dayanıklılık ve bu koşullarda canlılığını sürdürebilmesi nedeniyle fitoremidasyon teknolojisinde kullanılabilecek bir bitki olabileceği düşünölmektedir. Daha sonraki çalışmalarda diğer bitki türlerinin metal dayanıklılık mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasının, giderek artan çevre kirliliğinde alternatif teknolojinin kullanılması için yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- [1] Y Akman., O Ketenoğlu., H Evren., L.Kurt, S Düzenli. Çevre Kirliliği (2000) “Çevre Biyolojisi” Palme Yayıncılık.
- [2] N. Bjerrum (1936) Bjerrum’s Inorganic Chemistry, 3rd Danish ed., Heinemann, London In. <http://www.cnelm.co.uk/HeavyMetals.AnnWoodriff.pdf>.
- [3] V. Nostrand (1964), International Encyclopaedia of Chemical Science, Van Nostrand, New Jersey In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [4] R. Grant and C. Grant (Eds.) (1987) Grant and Hackh’s Chemical Dictionary, McGraw-Hill, New York In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [5] S. P. Parker (Ed.). (1989) *McGraw-Hill Dictionary of Scientific and Technical Terms*, 4th ed., McGraw Hill, New York In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.** 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [6] J. Lozet and C. Mathieu (1991) *Dictionary of Soil Science*, 2nd ed., A. A. Balkema, Rotterdam In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [7] C. Morris (1992) (Ed.). *Academic Press Dictionary of Science and Technology*, Academic Press, San Diego In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [8] B. Streit (1994) *Lexikon der Okotoxikologie*, VCH, Weinheim. In I. Thornton. (1995) *Metals in the Global Environment—Facts and Misconceptions*, ICME, Ottawa.
- [9] I. Thornton. (1995) *Metals in the Global Environment—Facts and Misconceptions*, ICME, Ottawa In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [10] H. Bennet (Ed.). (1986) *Concise Chemical and Technical Dictionary*, 4th enlarged ed., Edward Arnold, London In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [11] R. J. Lewis Sr. (Ed.). (1993) *Hawley’s Condensed Chemical Dictionary*, 12th ed., Van Nostrand Reinhold, New York In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [12] G. M. Rand, P. G. Wells, L. S. McCarty (1995) “Introduction to aquatic toxicology”, in **Fundamentals of Aquatic Toxicology**, G. M. Rand (Ed.), Taylor & Francis, Washington, DC. In. <http://www.epa.gov/waterscience/cs/biotesting/Chem-5.pdf>.
- [13] E. Hodgson, R. B. Mailman, J. E. Chambers (Eds.). (1988) *Macmillan Dictionary of Toxicology*, Macmillan, London In. Duffus J.H. (2002) “Heavy Metals a Meaningless Term?” **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [14] C. D. Klaasen (Ed.). (2001) *Casarett and Doull’s Toxicology—The Basic Science of Poisons*, 6th ed.
- [15] Zengin F. K. (2002) “Bazı Ağır Metallerin (Hg^{++} , Cd^{++} , Cu^{++} ve Pb^{++}) Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. Strike) Gelişmesi Üzerindeki Etkilerinin Biyokimyasal Yönden Araştırılması” Doktora Tezi Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.

- [16] J Elmsley (2001). "Nature's Building Blocks. An A-Z Guide to the Elements". Oxford University Press, Oxford, UK). In: P. A. Rea, O. K. Vatamaniuk and D.J. Rigden (2004) "Weeds, Worms, and More. Papain's Long-Lost Cousin, Phytochelatase Synthase" **Plant Physiol.** 136(1): 2463–2474.
- [17] G. Tyler, A. Pahlsson, M. Bengtsson, G. Baath, E. and Tranvik, L. (1989) "Heavy metal ecology and terrestrial plants, micro-organisms and vertebrates: a review". **Water, Air and Soil Pollution** 47, 189–215.
- [18] M. Ghosh and S. P. Singh (2005) "A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts" **Applied Ecology and Environmental Research** 3(1): 1-18.
- [19] S.J. Stohs, D Bagchi (1995) "Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions". **Free. Radic. Biol. Med.** 18: 321–336.
- [20] A.J.M. Baker and Brooks R.R. (1989) "Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry" **Biorecovery** 1: 81-126.
- [21] M. P Lockwood,. (1976) "Effects of Pollutants on Aquatic Organisms" Cambridge University Press, New York.
- [22] C. D Foy, R. L Chaney,. and M. C White,. (1978) "The physiology of metal toxicity in plants" *Annual Review of Plant Physiology* 29, 511–566 In: Duffus J.H. (2002) "Heavy Metals a Meaningless Term?" **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [23] Duffus J.H. (2002) "Heavy Metals a Meaningless Term?" **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [24] World Health Organization; (1992) Environmental Health Criteria 134. Cadmium. Geneva, Switzerland.
- [25] D.S. Carr; Kirk-Othmer (1992) *Encycl Chem Tech.* 4th. NY,NY: John Wiley & Sons 4: 748-60.
- [26] J.O Nriagu,. and J.M. Pacyna (1988). "Quantitative assessment of worldwide contamination of the air, water and soils with trace metals" **Nature** 333:134-139. In: Duffus J.H. (2002) "Heavy Metals a Meaningless Term?" **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [27] I Thornton; in IARC Sci Publ 118 (1992) "Cadmium in the Human Environment" 149-62 In: Duffus J.H. (2002) "Heavy Metals a Meaningless Term?" **Pure Appl. Chem.**, 74 (5) 793–807, (IUPAC Technical Report).
- [28] M. M. Lasat (2000) "Phytoextraction of Metals From Contaminated Soils: A Review of Plant/Soil/Metal Interaction and Assessment of Pertinent Agronomic Issues" **Journal of Hazardous Substance Research** 2: 5-25.
- [29] J Garcia-Miragaya,. and A.L. Page, (1978). "Sorption of trace quantities of Cd by soils with different chemical and mineralogical composition. **Water, Air and Soil Pollution** 9, 289–299.
- [30] F.B Salisbury.& C.W Ross,. (1992) "Plant Physiology 4th ed. Wadsworth Publishing Company. Belmont, California.
- [31] V. Ramachandran, T.J., D'Souza. (1999) "Adsorption of cadmium by Indian soils" **Water, Air and Soil Pollution** 111: 225-234.
- [32] F.T. Bingham, A.L. Page, J.E. Strong. (1980). "Yield and cadmium content of rice grain in relation to addition rates of cadmium, copper, nickel and zinc with sewage sludge and liming" **Soil Sci.** 130: 32-38.
- [33] G. Cieslinski, K.C.J. Van Rees, P.M. Huang, L.M. Kozak, H.P Rostad, and D.R. Knott (1996) "Cadmium uptake and bioaccumulation in selected cultivars of durum wheat and flax as affected by soil type" **Plant Soil** 182: 115–124.

- [34] T. H. Lorenz (1994). "Applications of fertilizer cations effect Cd and Zn concentration in soil and plant uptake". **Europ. J. Siol Sci.** 45(2): 159-164.
- [35] Y. Guo, E George, H Marschner. (1996) "Contribution of arbuscular mycorrhizal fungus to the uptake of cadmium and nickel in bean and maize plants" **"Plant and Soil"** 184: 195-205.
- [36] I. Atanassova (1999) "Competitive effect of copper, zinc cadmium and nickel on ion adsorption and desorption by clay soils" **Water, Air and Soil Pollution** 113: 115-125.
- [37] R. Moore, W. D. Clark, K.R. Stern (1995) Botany. WCB Publishers, Dubuque, Iowa. pp 464-467.
- [38] D. E. Salt, R.J. Wagner (1993) "Cadmium transport across the tonoplast of vesicles from oat roots Evidence for a Cd²⁺/H⁺ antiport activity" **J. Biol. Chem.** 268: 12297-12307.
- [39] M.H.M.N. Senden, F.J.M. Van Paassen, A.J.G.M. VanDerMeer, H.T.H. Wolterbeek (1990) "Cadmium- citric acid-xylem cell wall interactions in tomato plants" **Plant Cell Environ.** 15: 71-79.
- [40] D. H. Kahn, J.G. Duckett, B. Frankland, J.B. Kirkham (1984) "An X-ray microanalytical study of the distribution of Cd in roots of *Zea mays* L." **Plant Phys.** 115: 19-28.
- [41] G. Bayçu (2002) "Phytochelatins Biosynthesis and Cadmium Detoxification" **J. Cell Mol. Biol.** 1(2):45-55.
- [42] G. Bayçu (1995) "*Ailanthus altissima*'da Kadmiyum Toleransı ve Fitokelatin Oluşumu". Doktora Tezi İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [43] C. S. Cobbett (2000) "Phytochelatins biosynthesis and function in heavy metal detoxification" **Current Opinion in Plant Biology** 3:211-216.
- [44] D.F. Oritz, L. Kreppel, D.M. Speiser, G. Scheel, G. McDonald, D.W. Ow (1992) "Heavy metal tolerance in the fission yeast requires an ATP-binding cassette-type vacuolar membrane transporter" **EMBO J.** 11: 3491-3499.
- [45] J.C. Steffens (1991) "The Heavy Metal Binding Peptides of Plants" **Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** 41, 553-575.
- [46] O.K.Vatamaniuk, S.Mari, Y.P.Lu and P.A. Rea, (2000) "Mechanism of heavy metal ion activation of phytochelatins (PC) synthase: Blocked thiols are sufficient for PC synthase-catalyzed transpeptidation of glutathione and related thiol peptides" **J. Biol. Chem.** 275, 31451-31459.
- [47] A.J.M. Baker (1978) "Ecophysiological aspects of zinc tolerance in *Silene maritima*" **New Phytol.** 80: 635-642.
- [48] Y. B. Linhart, and M. C. Grant (1996) "Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants" **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 27: 237-277.
- [49] R. B. Bhaskar and M. L. Qiying (2003) "Tolerance of Heavy Metals in Vascular Plants: Arsenic Hyperaccumulation by Chinese, Brake Fern (*Pteris vittata* L.)" *S. Chandra & M. Srivastava (eds.), Pteridology in The New Millennium*, 397-420. *Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.*
- [50] M. R. Macnair (1997) "The evolution of plants in metal-contaminated environments". **Water, Air, and Soil Pollution.** 627-633.
- [51] M. R. Macnair G. H. Rlston and S. E. Smith. (2000) "The genetics of metal tolerance and accumulation in higher plants." Pp. 235-248. In: J. L. Hall (2002) Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance **Journal of Experimental Botany**, 53: 366 1-11.
- [52] J. R. Curnming and G. J. Taylor (1990) "Mechanism of tolerance in plants: Physiological adaptation for exclusion of metal ions from the cytoplasm" In:

- Stress Responses in plants: Adaptation mechanism eds: Alscher RJ and J R Cumrning Willey-Liss Inc : 329-326.
- [53] H. W. Woolhouse (1983) "Toxicity and tolerance in the response of plants to metals", In: Encyclopedia of Plant Physiol., New Senes, Vol. 12 (Lange O, Nobel PS, Osmond CB and H Zeigler, eds) : 245-300, New York, Springer-Verlag.
 - [54] De Vos Vooljs and C.H. Schatt (1989) "Copper induced damage permeability barrier in roots of *Silene cucubalus*" **Plant Physiol.** 135: 165-169.
 - [55] J Strange and MR MacNair (1991) "Evidence for a role for the cell membrane in copper tolerance of *Mimulus guftatus*" **New Phytol.** 119: 383-388.
 - [56] C. Cobbett, P. Goldsbrough (2002) "Phytochelatin and Metallothioneins: Roles in Heavy Metal Detoxification and Homeostasis" **Annu. Rev. Plant Biol.** 53:159-182.
 - [57] M. N.V. Prasad and K Strzalka (1999) "Impact of heavy metals on photosynthesis."In: Heavy Metal Stress in Plants from Molecules to Ecosystem eds:Prasad MNV and J Hagemeyer, pp. 117-138. Springer-Verlag, Heidelberg.
 - [58] J.A.C. Verkleij and H. Schatt (1990) "Mechanism of tolerance in higher plants, In: Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary aspects ed: AJ Shaw, pp. 179-193. CRC Press, New York.
 - [59] J.A.C. Verkleij and J.E. Prast (1989) "Cadmium tolerance in and co-tolerance in *Silene vulgaris* (Moench)" **New Phytol.**, 111 : 637-645.
 - [60] W.H.O. Ernst, J.A.C. Verkleij and H. Schat (1992) "Metal tolerance in plants" **Acta Bot. Neerl.** 41: 229-248.
 - [61] W.E.Rauser and C.A. Ackerley (1987) "Localization of cadmium within in granules differentiating and mature root cells, Can. J. Bot. 65: 643-646. In: Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*) "B.B. Maruthi Sridhar, S.V. Diehl, F.X. Hanc, D.L. Monts, Y. Su Environmental and Experimental Botany 54 (2005) 131–141.
 - [62] M.N.V. Prasad (1995) "Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants" **Environ. Exp. Bot.** 35(4): 525-545.
 - [63] M. Inohue (2005) "Phytochelatin" **Braz. J. Plant Physiol.**, 17(1) 65-78.
 - [64] F Yürekli, A. Ünyayar, Z.B. Porgali, M.A. Mazmanci (2004) "Effects of cadmium exposure on phytochelatin and the synthesis of abscisic acid in *Funalia trogii*" **Eng. Life Sci.** 4:378-380.
 - [65] E. Grill, E.L. Winnacker, M.H. Zenk. (1985) "Phytochelatin: the principal heavy-metal complexing peptides of higher plants" **Science** 230, 674–951.
 - [66] J.C. Steffens (1990) "The heavy metal-binding peptides of plants" **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** 41:553-575.
 - [67] H. Chassaigne, V. Vacchina, T.M. Kuchan, M.H. Zenk (2001) "Identification of phytochelatin-related peptides in maize seedlings exposed to cadmium and obtained enzymatically in vitro" **Phytochemistry** 56:657-668.
 - [68] W.E. Rauser (2003) "Phytochelatin-based complexes bind various amounts of cadmium in maize seedlings depending on the time of exposure, the concentration of cadmium and the tissue" **New Phytol.** 158:269-278.
 - [69] P.Wojtaszek (2000) "Nitric oxide in plants: to NO or not to NO". **Phytochemistry** 54, 1–4.
 - [70] C.M.C.P Gouvea, J.F Souza, M.I.S.Magalhaes (1997) "NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments" **Plant Growth Reg.** 21, 183–187.

- [71] Y.Y.Leshem, R.B.H.Wills, V Veng-Va Ku (1998) "Evidence for the function of the free radical gas-nitric oxide (NO) as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants" **Plant Physiol. Biochem.** 36, 825–833.
- [72] G.P. Bolwell (1999) "Role of reactive oxygen species and NO in plant defence responses" **Curr. Opin. Plant Biol.** 2, 287–294.
- [73] M.V. Beligni, L.Lamattina, (2001) "Nitric oxide in plants: the history is just beginning" **Plant Cell. Environ.** 24, 267–278.
- [74] D.Wendehenne, A. Pugin, D.F. Klessig, J.Durner (2001) "Nitric oxide: comparative synthesis and signalling in animal and plant cells" **Trends Plant Sci.** 6, 177–183.
- [75] S.J. Neill, R. Desikan, A. Clarke, J.T. Hancock (2002) "Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signalling in stomatal guard cells" **Plant Physiol.** 128, 13-16.
- [76] L. Lamattina, C.Garcia-Mata, M.Graziano, G.Pagnussat, (2003) "Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule" **Annu. Rev. Plant Biol.** 54, 109–136.
- [77] J.. Durner, and D. F. Klessig (1999) "Nitric oxide as a signal in plants" **Curr. Opin. Plant Biol.** 2: 369-374.
- [78] M. V. Beligni and L. Lamattina (1999) "Is nitric oxide toxic or protective?" **Trends in Plant Science** 4(8) 299-300.
- [79] Anonim, 2006. <http://cadmium.org/>
- [80] G.J. Wagner (1993) "Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health" **Adv. Argon.**, 51: 173-212.
- [81] S. Toppi and R. Gabrielli (1999) "Response the cadmium in higher plants" **Environmental and Experimental Botany** 41: 105-130.
- [82] D. T. Clarkson, and U. Luttge, (1989) "Mineral nutrition: Divalent cations, transport and compartmentation" **Prog. Bot.**, 51, 93–112.
- [83] A. Rivetta, N. Negrini, M.Cocucci (1997) "Involvement of Ca^{2+} -calmodulin in Cd^{2+} toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination" **Plant, Cell and Environment** 20, 600–608.
- [84] M. Tester and A.R. Leigh (2001) "Partitioning of nutrient transport processes in roots" **Journal of Experimental Botany** 52: 445-457.
- [85] X.A Yang, J. Xiao-Fen, Y.Feng, E. Islam (2005) "Molecular Mechanisms and Genetic Basis of Heavy Metal Tolerance/Hyperaccumulation in Plants" **Journal of Integrative Plant Biology** 47: 9 1025-1031.
- [86] D.A. Cataldo, T.R. Garland, R.E.Wildung (1983) "Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants" **Plant Physiology** 73, 844–848.
- [87] W.H. Blum (1997) "Cadmium uptake by higher plants". In: Proceedings of extended abstracts from the Fourth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, pp.109-110, Berkeley, USA. University of California.
- [88] R. Moral, G. Palacios, I. Gómez, J. Navarro-Pedreno, J. Mataix (1994) "Distribution and accumulation of heavy metals (Cd, Ni and Cr) in tomato plant" **Environ. Bull.** 3: 395-399.
- [89] J.J. Hart, R.M.Welch, W.A.Norvell, L.A. Sullivan, L.V. Kochian (1998) "Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars" **Plant Physiol.** 116: 1413-1420.
- [90] T.D.Hinesly, K.E.Redberg, R.I.Pites, E.L.Ziegler (1984) "Cadmium and Zinc uptake by corn (*Zea mays* L.) with repeated applications of sewage sludge" **J. Agric. Food Chem.** 32:155-163.

- [91] J.J. Street, W.L.Lindsay, B.R.Sabey (1977) Solubility and plant uptake by cadmium in soils amended with cadmium and sewage sludge. **J. Environ. Qual.** 6:72-77.
- [92] L. Tudoreanu, C.J.C. Phillips (2004) "Modelling cadmium uptake and accumulation in plants" **Adv. Agron.** 84:121-157.
- [93] P.C.Chiy, C.J.C. Phillips (1999) "The effects of mild water stress and soil type on the responses of grass and clover to sodium fertilizer" **J. Sci. Food Agric.** 79:1399-1405.
- [94] G. Cieslinski, G.H. Neilson, E.J. Hogue (1996) "Effect of soil cadmium application and pH on growth and cadmium accumulation in roots, leaves and fruit of strawberry plants (*Fragaria x ananassa* Duch.)" In Mechanisms and Strategies for Phytoremediation of Cadmium (<http://lamar.colostate.edu/~samcox/INTRODUCTION.html>).
- [95] F. Haghiri (1973) "Plant uptake of cadmium as influenced by cation exchange capacity, organic matter, zinc and soil temperature" **J. Environ. Qual.** 2:93-96.
- [96] D.L. Goldbol, A. Hutterman (1985) "Effect of zinc, cadmium and mercury on root elongation on *Picea abies* (Karst.) seedlings and the significance of these metals to forest die-back" **Environ. Pollution** 38:375-381.
- [97] E. Alcantara, F.J. Romera, M. Cañete, M.D. De La Guardia (1994) "Effects of heavy metals on both induction and function of root Fe(III) reductase in Fe-deficient cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants" **J. Exp. Bot.** 45:1893-1898.
- [98] S.B.Aidid and H.Okamoto (1992) "Effects of lead, cadmium and zinc on the electric membrane potential at the xylem/symplast interface and cell elongation of *Impatiens balsamina*" **Environmental and Experimental Botany.** 32, 439-448
- [99] J. Barcelo, C.H. Poschenrieder (1990) "Plant water relations as affected. by heavy metal stress: a review" "**J. Plant Nutrition**" 13, 1-37.
- [100] G.Costa, and J.L.Morel, (1993) "Cadmium uptake by *Lupinus albus* (L.): cadmium excretion, a possible mechanism of cadmium tolerance" **Journal of Plant Nutrition** 16, 1921-1929.
- [101] K.B. Balestrasse, M.P. Benavides, S.M. Gallego; M.L. Tomaro (2003) "Effect on cadmium stress on nitrogen metabolism in nodules and roots of soybean plants" **Func. Plant Biol.** 30:57-64.
- [102] L.F. De Filippis, H. Ziegler (1993) "Effect of sublethal concentrations of zinc, cadmium and mercury on the photosynthetic carbon reduction cycle of *Euglena*. J. **Plant Physiol.** 142:167-172.
- [103] L.K. Chugh, S.K.Sawhney (1999) "Photosynthetic activities of *Pisum sativum* seedlings grown in the presence of cadmium" **Plant Physiology and Biochemistry** 37, 297-303.
- [104] S.M. Gallego, M.P. Benavides, M.L Tomaro (1996) "Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress" **Plant Sci.** 121:151-159.
- [105] B.P. Shaw (1995) "Effect of mercury and cadmium on the activities of antioxidative enzymes in the seedlings of *Phaseolus aureus*" **Biol. Plant.** 37:587-596.
- [106] A. Chaoui, S. Mazhoudi, M.H. Ghorbal, E. El Ferjani (1997) "Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.)" **Plant Sci.** 127:139-147.
- [107] U. Cho, N. Seo (2004) "Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation" **Plant Sci.** 168:113-120.

- [108]M.P. Benavides; M S. Gallego; M. L. Tomaro (2005) "Cadmium toxicity in plants" **Braz. J. Plant Physiol.** 17(1) 21-34.
- [109]S. Clemens, T. Bloss, C. Vess, D. Neumann, D.H. Nies, U. Nieten (2002) "A transporter in the endoplasmic reticulum of *Schizosaccharomyces pombe* cells mediates zinc storage and differentially affects transition metal tolerance" **J. Biol. Chem.** 277: 18215–18221.
- [110]L. Leita, M. Nobili, C. Mondini, M.T. Baca García 1993. "Response of Leguminosae to cadmium exposure" **Journal of Plant Nutrition** 16, 2001–2012
- [111]A.A. Meharg, J.W.G. Cairney (2000) "Co-evolution of mycorrhizal symbionts and their hosts to metal-contaminated environments" **Advances on Ecological Research** 30, 69–112.
- [112]L.E. Hernandez, D.T. Cooke (1997) "Modifications of the root plasma membrane lipid composition of cadmium-treated *Pisum sativum*" **Journal of Experimental Botany** 48, 1375–1381.
- [113]E. Fodor, A. Szabó-Nagy, L. Erdei (1995) "The effects of cadmium on the fluidity and H⁺-ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots" **Journal of Plant Physiology** 147, 87–92.
- [114]A. Tukendorf, W.E. Rauser (1990) "Changes in glutathione and phytochelatin in roots of maize seedlings exposed to cadmium" **Plant Sci.** 70:155–166.
- [115]P. Meuwly, W.E. Rauser (1992) "Alteration of thiol pools in roots and shoots of maize seedlings exposed to cadmium" **Plant Physiol.** 99:8-15.
- [116]S. Klapheck, W. Fliegner, I. Zimmer (1994) "Hydroxymethyl-phytochelatin[(γ -Glu-Cys)-Ser] are metal-induced peptides of the Poaceae" **Plant Physiol.** 104 1325-1332.
- [117]H. Rennenberg, B. Will (2000) "Phytochelatin production and cadmium accumulation in transgenic poplar (*Populus tremula* XP. *alba*)" In R. Kneer, and M.H. Zenk (1992) "Phytochelatin protect plant enzymes from heavy metal poisoning" **Phytochemistry** 31, 2663–. 2667
- [118]R. Kneer, and M.H. Zenk (1992) "Phytochelatin protect plant enzymes from heavy metal poisoning" **Phytochemistry** 31, 2663–. 2667
- [119]W.E. Rauser (2000). "Roots of maize seedlings retain most of their cadmium through two complexes" **Journal of Plant Physiology** 156, 545–551
- [120]A. Murasugi, C. Wada, Y. Hayashi (1981) "Purification and unique properties in UV and CD spectra of Cd-binding peptides 1 from *Schizosaccharomyces pombe*" **Biochem Biophys Res Commun** 103: 1021–1028
- [121]D.E. Salt, M. Blaylock, P.B.A.N. Kumar, V. Dushenkov, B.D. Ensley, I. Chet and I. Raskin (1995) "Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants" **Biotechnology** 13: 468-474.
- [122]Stolt P., F.E.C. Sneller, T. Bryngelsson, T. Lundborg, H. Schat (2003) "Phytochelatin and cadmium accumulation in wheat" **Environmental and Experimental Botany** 49:21-28
- [123]M. Wojcik, A. Tukendorf (1999) "Cd-tolerance of maize, rye and wheat seedlings" **Acta Physiol. Plant** 21, 99-107.
- [124]J. Oliveira, M. Oliva, J. Cambraia, V. Vanegas (1994) "Absorption, accumulation and distribution of cadmium by two soybean cvs. Revista Brasileira" **Fisiologia Vegetal.** 6(2), 91–95.
- [125]D.E. Salt, W.E., Rauser (1995) "Mg-ATP-dependent transport of phytochelatin across the tonoplast of oat roots" **Plant Physiol.** 107, 1293_ 1301.
- [126]N. Stoeva, T.Z. Bineva (2003) "Oxidative changes and photosynthesis in oat plants grown in As-contaminated soil" **Bulg. J. Plant Physiol.** 29: (1-2), 87-95.

- [127] S. Singh, E. Susan, S.F. Souza (2006) "Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and antioxidative system in an aquatic plant, *Bacopa monnieri* L." **Chemosphere** 62: 233–246
- [128] W. Liu, P.J. Li, X.M. Qi, Q.X. Zhou, L. Zheng, T.H. Sun, Y.S. Yang (2005) "DNA changes in barley (*Hordeum vulgare*) seedlings induced by cadmium pollution using RAPD analysis" **Chemosphere** 61 158–167
- [129] G. Costa, and E. Spitz (1997) "Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*" **Plant Science** 128: 131–140
- [130] T. Lanaras, M. Moustakas, L. Symeonidis, S. Diamatoglou, S. Karataglis (1993) "Plant metal content, growth responses and some photo-synthetic measurements on field cultivated wheat growing on ore bodies enriched in Cu" **Physiologia Plantarum** 88: 307–314
- [131] S. Onac (2005) Researches Regarding The Influence Of Some Heavy Metals From Mine Spoils In Cavnic Area On Several Physiological Processes In Plants "Babeş Bolyai" University *Faculty of Biology and Geology* Department of Experimental Biology Doctora thesis
- [132] H. Azevedo, C. G. G. Pinto, and C. Santos (2005) "Cadmium Effects in Sunflower: Membrane Permeability and Changes in Catalase and Peroxidase Activity in Leaves and Calluses" **Journal of Plant Nutrition**, 28: 2233–2241,
- [133] S. Wu, Y. Zu, M. Wu (2001) "Cadmium response of the hairy root culture of the endangered species *Adenophora lobophylla*" **Plant Science** 160 551–562
- [134] J. E. Harper (1981) "Evolution of Nitrogen Oxide(s) during In Vivo Nitrate Reductase Assay of Soybean Leaves" **Plant Physiol.** 68, 1488–1493
- [135] M. Kopyra, E.A Gwóźdz (2003) "Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*" **Plant Physiol. Biochem.** 41:1011–1017
- [136] A. Uchida, A. T. Jagendorf, T. Hibino, T. Takabe (2002) "Effects of Hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice" **Plant Science** 163:515–523
- [137] N.V. Laspinas, M.D. Groppa, M.L. Tomaro, and M.P. Benavides (2005) "Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd induced oxidative stress" **Plant Sci.** 169: 323–330. 137 oldu
- [138] K.S. Gould, O. Lamotte, A. Klinguer, A. Pugin, D. Wendehenne (2003) "Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response?" **Plant Cell Environ.** 26:1851–1862
- [139] M.L. Orozco-Cardenas, C.A. Ryan (2002) "Nitric oxide negatively modulates wound signaling in tomato plants" **Plant Physiol.** 130:487–493.
- [140] Y.Y. Leshem, and E. Haramaty (1996) "The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* foliage" **J. Plant Physiol.** 148: 258–263
- [141] M. V. Beligni, L. Lamattina (1999) "Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues" **Planta** 208:337–344
- [142] Y.Y. Leshem, E. Haramaty, D. Iluz, Z. Malik, Y. Sofer, L. Roitman, Y. Leshem (1997) "Effect of stress nitric oxide (NO): interaction between chlorophyll fluorescence, galactolipid fluidity and lipoxygenase activity" **Plant Physiology and Biochemistry** 35: 573–579.

- [143] M.C. Pedroso, J.R. Magalhaes, and D. Durzan, (2000b) "A nitric oxide burst precedes apoptosis in angiosperm and gymnosperm callus cells and foliar tissues" **J. Exp. Bot.** 51:1027-1036.
- [144] S.D. Cunningham, and W.R. Berti (1993) "The remediation of contaminated soils with green plants: An overview" *In Vitro Cell. Devel. Biol.* **J. Tissue Cult. Assoc.** 29:207-212.
- [145] N. Rascio (1977) "Metal accumulation by some plants growing on zinc-mine dumps" **Oikos.** 29:250-253 .
- [146] D. Podar (2004) "The Influence of Heavy Metals on Physiological Aspect to Some Plant Species Important for Phytoremediation. Bolyai University Faculty of Biology and Geology, Department of Experimental Biology. 205 pp.
- [147] R.R. Brooks, J. Lee, R.D. Reeves, and T. Jaffre (1977) "Detection of nickeliferous rockps by analysis of herbarium specimens of indicator plants" **J. Geochem. Explor.** 7:49-57.
- [148] M.M. Lasat, N.S. Pence, D.F. Garvin, S.D. Ebbs and L.V. Kochian (2000) "Molecular physiology of zinc transport in the Zn hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*" **Journal of Experimental Botany** 51.(342):71-79.
- [149] A.J.M. Baker, McGrath S.P., C.M.D. Sidoli, and R.D. Reeves (1994) "The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants" *Environmental Biotechnology in Waste Treatment & Recycle International Conference, Hong Kong. Resour. Conserv. Recycle.* 11:41-49 In: Guerinot M-L, Salt DE (2001). Fortified foods and phytoremediation: two sides of the same coin. **Plant Physiology** 125: 164-167.
- [150] M.L. Guerinot, D.E. Salt (2001) "Fortified foods and phytoremediation: two sides of the same coin" **Plant Physiology** 125: 164-167.
- [151] R.D. Reeves & A.J.M. Baker (2000) "Metal-accumulating plants. In: Raskin I & BD Ensley (eds) *Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment*" 193-229. John Wiley and Sons Inc., New York, New York, USA.
- [152] R.S. Boyd, and S.N. Martens (1995) "The consequences for herbivores and pathogens using metal hyperaccumulators in phytoremediation" 55-56.
- [153] A.J.M. Baker, R.D. Reeves, and A.S.H. Hajar (1994) "Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae)" **New Phytol.** 127:61-68.
- [154] S.L. Brown, R.L. Chaney, J.S. Angle, and A.J.M. Baker. (1994) "Phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and Bladder Campion for zinc and cadmium contaminated soil" **J. Environ. Qual.** 23:1151-1157.
- [155] V. Dushenkov, N.P.B.A. Kumar H. Motto and I. Raskin (1995) "Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams" **Environ. Sci. Technol.** 29:1239-1245.
- [156] N.P.B.A. Kumar, V. Dushenkov, H. Motto, I. Raskin (1995) "Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils" **Environ Sci Tech** 29: 1232-1238.
- [157] D.R. Hoagland, and D.I. Arnon (1938) "The water culture method for growing plants without soil" **California Agr. Expt. Sta. Circ.** 37.
- [158] F. D. Vinit-Dunand, B. Epron, P. Alaoui-Sossé, M. Badot (2002) "Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants" **Plant Science** 163: 53-58.
- [159] M. Inouhe, R. Ito, S. Ito, N. Sasada, H. Tohoyama, M. Joho (2000) "Azuki bean cells are hypersensitive to cadmium and do not synthesize phytochelatins" **Plant Physiol** 123: 1029-1036

- [160] M.M. Bradford (1976) "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding" **Anal. Biochem.** 72, 248–254
- [161] C.G. Mata, L. Lamattina (2001) "Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress" **Plant Physiol.** 126: 1196–1204
- [162] K. P. Pawlak, R. Ruzik, K. Abramski, M. Ciurzyńska, H. Awroński (2005) "Cadmium speciation in *Arabidopsis thaliana* as a strategy to study metal accumulation system in plants" **Analytica Chimica Acta** 540 61–70
- [163] S. Qadir, M.I. Qureshi, S. Javed, M.Z. Abidin (2004) "Genotypic variation in phytoremediation potential of *Brassica juncea* cultivars exposed to Cd stress" **Plant Science** 167:1171–1181.
- [164] Q. Sun, X.R. Wang, S.M. Ding, X.F. Yuan (2005) "Effects of interactions between cadmium and zinc on phytochelatin and glutathione production in wheat (*Triticum aestivum* L.)" **Environ Toxicol.** 20:195–201.
- [165] S. Singh, R. Saxena, K. Pandey, K. Bhatt, S. Sinha (2004) "Response of antioxidants in sunflower (*Helianthus annuus* L.) grown on different amendments of tannery sludge: its metal accumulation potential" **Chemosphere** 57 1663–1673.
- [166] I. Cakmak, R.M. Welch, J. Hart, W.A. Norvell, L. Ozturk, and L.V. Kochian. (2000) "Uptake and translocation of leaf-applied cadmium (^{109}Cd) in diploid, tetraploid and hexaploid wheats" **J. Exp. Bot.** 51:221–226.
- [167] O'Keeffe J. and L. I. Bendell-Young (2002) Uptake of cadmium by the invasive perennial weeds *Ranunculus repens* and *Geranium robertianum* under laboratory conditions **J. Environ. Monit.**, 4, 413–416
- [168] M. Sridhar, S.V. Diehl, F.X. Han D.L. Monts, Y. Su (2005) "Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*)" **Environmental and Experimental Botany** 54: 131–141.
- [169] Simon L. (1998) "Cadmium accumulation and distribution in sunflower plant" **Journal of Plant Nutrition.** 21(2) 341–352.
- [170] Q. Sun, X. Wang, S. M. Ding and X. F. Yuan (2005) "Effects of Interaction Between Cadmium and Plumbum on Phytochelatins and Glutathione Production in Wheat (*Triticum aestivum* L.)" **Acta Botanica Sinica**, 47 (4): 435–442.
- [171] I. Nouairi, W.B. Ammar, N.B. Youssef, D.B.M. Daoud, M.H. Ghorbal, M. Zarrouk (2006) "Comparative study of Cadmium effects on membrane lipid composition of *Brassica juncea* and *B. napus* leaves" **Plant Science** 170:511–519.
- [172] Zhu Y. L., Pilon-Smits E. A.H., Lise J. and Terry N. (1999) "Overexpression of Glutathione Synthetase in Indian Mustard Enhances Cadmium Accumulation and Tolerance" **Plant Physiol.** 119: 73–80.
- [173] S. Wu, Y. Zu, M. Wu (2001) "Cadmium response of the hairy root culture of the endangered species *Adenophora lobophylla*" **Plant Science** 160 :551–562.
- [174] W. R. Gadapati and M. M. Sheila (2006) "Phytochelatin are only partially correlated with Cd-stress in two species of *Brassica*" 471–480.
- [175] J. Wang, F. J. Zhao, A. A. Meharg, A. Raab, J. Feldmann, S. P. McGrath (2002) "Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris vittata*" "Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation" **Plant Physiology** 130: 1552–1561.
- [176] F. J. Zhao, J. R. Wang, J. H. A. Barker, H. Schat, P. M. Bleeker and S. P. McGrath (2003) "The role of phytochelatin in arsenic tolerance in the Hyperaccumulator *Pteris vittata*" **New Phytologist** 159: 403–410.

- [177]R. D. Tripathi, U. N.Rai, M. Gupta, P. Chandra (1996) "Induction of Phytochelatins in *Hydrilla verticillata* (l.f.) Royle under Cadmium Stress" **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 56:505-512.
- [178]F. E. C. Sneller, L.M. Van Heerwaarden, F. J. L. Kraaijeveld-Smit, W. M. Ten Bookum, P. L. M. Koevoets, H. Schat, J. A. C. Verkleij (1999) "Toxicity of arsenate in *Silene vulgaris*, accumulation and degradation of arsenate-induced phytochelatins" **New Phytol.** 144: 223-232.
- [179]J. A. De Knecht, N. Van Baren, W. M. Ten Bookum, H. W. Wong Fong Sang, P. L. M. Koevoets, H. Schat, J. A. C. Verkleij (1995) "Synthesis and degradation of phytochelatins in cadmium sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*". **Plant Science** 106: 9-18.
- [180]J. A. De Knecht, M. Van Dillen, P. L. M. Koevoets, H. Schat, J. A. C. Verkleij, W. H. O. Ernst. (1994) "Phytochelatins in cadmium sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris* Chain length distribution and sulde incorporation" **Plant Physiology** 104::255-261.
- [181]J. A.C.Verkleij, P. Koevoetz, J.Van'T Riet, R. Bank, Y. Nijdam, W.H.O. Ernst (1990) "Poly(γ -glutamylcysteinyl)glycines or phytochelatins and their role in cadmium tolerance of *Silene vulgaris*" **Plant, Cell and Environment.** 13: 913-921.
- [182]K. Nishikawa, A. Onodera and N. Tominaga (2006) "**Phytochelatin**s do not correlate with the level of Cd accumulation in *Chlamydomonas* spp" **Chemosphere** 63, (9) , 1553-1559.
- [183] D. Pankovic, M. Plesnicar, I. Arsenijevic -Maksimovic, N. Petrovic, Z. Sakac, R. Kastori (2000) "Effects of Nitrogen Nutrition on Photosynthesis in Cd-treated Sunflower Plants" **Annals of Botany** 86: 841-847
- [184]F. Pietrini, M. A. Iannelli, S. Pasqualini, and A. Massacci (2003) "Interaction of Cadmium with Glutathione and Photosynthesis in Developing Leaves and Chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel" **Plant Physiology**, 133: 829–837.
- [185]M. C.McCarthy, J. Romero-Puertas, M. Palma L. M. Sandalio F. J. Corpas M. Gómez & L. A. Del Río (2001) "Cadmium induces senescence symptoms in leaf peroxisomes of pea plants" **Plant, Cell and Environment**, 24, 1065–1073.
- [186]Y. Hsu, C. H. Kao (2004) "Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves" **Plant Growth Regulation** 42: 227-238.
- [187]A. Lagriffoul, B. Mocquot, M. Mench, J. Vangronsveld (1998) "Cadmium toxicity effects on growth, mineral and chlorophyll contents, and activities of stress related enzymes in young maize plants (*Zea mays* L.)" **Plant and Soil** 200: 241–250
- [188]C. Chiraz, G. Houda, G. M. Habib (2003) "Nitrogen Metabolism in Tomato Plants Under Cadmium Stres" **Journal of Plant Nutrition** 26:(8) 1617–1634
- [189]M. E. Wang, Q. Zhou (2006) "Joint stress of chlorimuron-ethyl and cadmium on wheat *Triticum aestivum* at biochemical levels" **Environmental Pollution** 1-9 (Baskida)
- [190]S.Mishra, S. Srivastava, R.D. Tripathia, R. Govindarajan, S.V. Kuriakose, M.N.V. Prasad (2006) "Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L." **Plant Physiology and Biochemistry** 44:25–37.
- [191]M. Zhao, X. Zhao, Y. Wu, L. Zhang (2006) "Enhanced sensitivity to oxidative stress in an *Arabidopsis* nitric oxide synthase mutant" **Journal of Plant Physiology** (Baskida)

- [192]M. V. Beligni, L. Lamattina (2002) “Nitric oxide interferes with plant photo-oxidative stres by detoxifying reactive oxygen species” **Plant, Cell and Environment** 25:737-748
- [193]M. Rodriguez-Serrano, M. C. Romero-Puertas A. Zabalza, F. J. CORPAS, M. Gomez, L. A. Del Rio, L. M. Sandalio (2006) “Cadmium effect on oxidative metabolism of pea (*Pisum sativum* L.) roots. Imaging of reactive oxygen species and nitric oxide accumulation *in vivo*” **Plant, Cell and Environment** 29 (8) 1532-1538.
- [194]L. Zhao, F. Zhang, J. Guo, Y. Yang, B. Li, L. Zhang (2004) “Nitric Oxide Functions as a Signal in Salt Resistance in the Calluses from Two Ecotypes of Reed” **Plant Physiology** 134:849–857.
- [195]B. Sun, Y. Jing, K. Chen, L. Song, F. Chen, Lixin Zhang “Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stres in maize (*Zea mays*)” **Journal of Plant Physiology** (Baskıda)
- [196]C. C. Yu, K. T. Hung, C. H. Kao (2005) “Nitric oxide reduces Cu toxicity and Cu-induced NH_4^+ accumulation in rice leaves” **Journal of Plant Physiology**. 162:1319-1330.
- [197]Y. Wang and Z. Yang (2005) “Nitric oxide reduces aluminum toxicity by preventing oxidative stress in the roots of *Cassia tora* L.” **Plant and Cell Physiology**. 46 (12) 1915-1923.
- [198]B. Bartha, Z. Kolbert, L. Erdei (2005) “Nitric oxide production induced by heavy metals in *Brassica juncea* L. Czern. and *Pisum sativum* L.” **Acta Biologica Szegediensis** 49(1-2):9-12.
- [199]Z. Kolbert, B. Bartha, L. Erdei (2005) “Generation of nitric oxide in roots of *Pisum sativum*, *Triticum aestivum* and *Petroselinum crispum* plants under osmotic and drought stres” **Acta Biologica Szegediensis** 49(1-2):13-16.
- [200]Y. Zhang, L. Wang, Y. Liu, Q. Zhang, Q. Wei and W. Zhang (2006) “Nitric oxide enhances salt tolerance in maize seedlings through increasing activities of proton-pump and Na^+/H^+ antiport in the tonoplast” **Planta** 224 (3): 545-555

Ek 1. Ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında 2. günde belirlenen Cd miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 2. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Gruplar arası	0.092933	3	0.030978	0.458384	0.007*
	Grup içi	0.540639	8	0.06758		
	Toplam	0.633572	11			
Gövde	Gruplar arası	27.24381	3	9.081271	5.478405	0.024*
	Grup içi	13.26119	8	1.657649		
	Toplam	40.505	11			
Kök	Gruplar arası	430.0032	3	143.3344	283.4323	0.000*
	Grup içi	4.045675	8	0.505709		
	Toplam	434.0488	11			
Tarsan 1018						
Yaprak	Gruplar arası	5.432321	3	1.810774	25.08238	0.000*
	Grup içi	0.577545	8	0.072193		
	Toplam	6.009866	11			
Gövde	Gruplar arası	100.5159	3	33.50532	1.607776	0.026*
	Grup içi	166.7164	8	20.83955		
	Toplam	267.2323	11			
Kök	Gruplar arası	827.9603	3	275.9868	313.8178	0.000*
	Grup içi	7.035593	8	0.879449		
	Toplam	834.9959	11			

* 0.05 lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 2. Farklı Konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 2. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
150	Gruplar arası	7033.47617	2	3516.73808	3010.59	0.000*
	Grup içi	7.00873452	6	1.16812242		
	Toplam	7040.4849	8			
200	Gruplar arası	7384.17437	2	3692.08718	13552.21	0.000*
	Grup içi	1.63460645	6	0.27243441		
	Toplam	7385.80897	8			
250	Gruplar arası	9545.23624	2	4772.61812	366061.1	0.000*
	Grup içi	0.07822657	6	0.01303776		
	Toplam	9545.31447	8			
300	Gruplar arası	10366.6151	2	5183.30756	3407.853	0.000*
	Grup içi	9.12593541	6	1.52098923		
	Toplam	10375.7411	8			
Tarsan 1018						
150	Gruplar arası	8126.34868	2	4063.17434	13498.38	0.000*
	Grup içi	1.80607213	6	0.30101202		
	Toplam	8128.15475	8			
200	Gruplar arası	12268.7996	2	6134.39979	15114.14	0.000*
	Grup içi	2.43522928	6	0.40587155		
	Toplam	12271.2348	8			
250	Gruplar arası	12231.6179	2	6115.80894	5045.299	0.000*
	Grup içi	7.27307863	6	1.21217977		
	Toplam	12238.891	8			
300	Gruplar arası	13688.0901	2	6844.04504	252.2141	0.000*
	Grup içi	162.815144	6	27.1358574		
	Toplam	13850.9052	8			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 3. Ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM CdSO₄ konsantrasyonlarında 4. günde belirlenen Cd miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 4. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Gruplar arası	3.652546	3	1.217515	70.7832	0.000*
	Grup içi	0.137605	8	0.017201		
	Toplam	3.790151	11			
Gövde	Gruplar arası	55.11141	3	18.37047	61.47523	0.000*
	Grup içi	2.390617	8	0.298827		
	Toplam	57.50202	11			
Kök	Gruplar arası	755.7244	3	251.9081	895.4197	0.000*
	Grup içi	2.250637	8	0.28133		
	Toplam	757.975	11			
Tarsan 1018						
Yaprak	Gruplar arası	5.333857	3	1.777952	6.430403	0.016*
	Grup içi	2.211933	8	0.276492		
	Toplam	7.54579	11			
Gövde	Gruplar arası	16.79056	3	5.596853	63.80669	0.000*
	Grup içi	0.701726	8	0.087716		
	Toplam	17.49228	11			
Kök	Gruplar arası	454.7012	3	151.5671	31.17077	0.000*
	Grup içi	38.8998	8	4.862475		
	Toplam	493.601	11			

* 0.05 lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 4. Farklı Konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen Cd miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 4. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
150	Gruplar arası	13602.0076	2	6801.00381	21812.52	0.000*
	Grup içi	1.87076187	6	0.31179364		
	Toplam	13603.8784	8			
200	Gruplar arası	17849.6242	2	8924.8121	58410.41	0.000*
	Grup içi	0.91676927	6	0.15279488		
	Toplam	17850.541	8			
250	Gruplar arası	19095.1178	2	9547.55891	43961.01	0.000*
	Grup içi	1.30309452	6	0.21718242		
	Toplam	19096.4209	8			
300	Gruplar arası	20281.5871	2	10140.7935	88407.07	0.000*
	Grup içi	0.68823412	6	0.11470569		
	Toplam	20282.2753	8			
Tarsan 1018						
150	Gruplar arası	17924.3955	2	8962.19774	4389.573	0.000*
	Grup içi	12.2502098	6	2.04170164		
	Toplam	17936.6457	8			
200	Gruplar arası	21679.4089	2	10839.7045	5281.658	0.000*
	Grup içi	12.3139791	6	2.05232984		
	Toplam	21691.7229	8			
250	Gruplar arası	23146.3083	2	11573.1542	28671.89	0.000*
	Grup içi	2.42184658	6	0.4036411		
	Toplam	23148.7302	8			
300	Gruplar arası	23224.0685	2	11612.0342	4698.875	0.000*
	Grup içi	14.8274236	6	2.47123727		
	Toplam	23238.8959	8			

0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 5. Farklı konsantrasyonlarda yapılan CdSO₄ uygulamalarının 2. gününde Meriç ve Tarsan 1018 bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında biriktirdikleri Cd miktarları için varyans analizi tablosu

2.gün							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	150	Gruplar arası	0.4799	1	0.4799	4.2512	0.108
		Grup içi	0.4516	4	0.1129		
		Toplam	0.9315	5			
	200	Gruplar arası	1.1103	1	1.1103	16.2965	0.016*
		Grup içi	0.2725	4	0.0681		
		Toplam	1.3828	5			
	250	Gruplar arası	1.7639	1	1.7639	652.1089	0.000*
		Grup içi	0.0108	4	0.0027		
		Toplam	1.7747	5			
	300	Gruplar arası	0.6192	1	0.6192	6.4620	0.064
		Grup içi	0.3833	4	0.0958		
		Toplam	1.0025	5			
Gövde	150	Gruplar arası	4.1508	1	4.1508	2.5524	0.185
		Grup içi	6.5049	4	1.6262		
		Toplam	10.6558	5			
	200	Gruplar arası	0.0005	1	0.0005	0.0021	0.965
		Grup içi	0.9595	4	0.2399		
		Toplam	0.9600	5			
	250	Gruplar arası	49.2820	1	49.2820	34.1586	0.004*
		Grup içi	5.7710	4	1.4427		
		Toplam	55.0530	5			
	300	Gruplar arası	3.4084	1	3.4084	0.0818	0.789
		Grup içi	166.7422	4	41.6856		
		Toplam	170.1506	5			
Kök	150	Gruplar arası	32.5454	1	32.5454	70.0528	0.001*
		Grup içi	1.8583	4	0.4646		
		Toplam	34.4038	5			
	200	Gruplar arası	517.6853	1	517.6853	729.6844	0.000*
		Grup içi	2.8379	4	0.7095		
		Toplam	520.5231	5			
	250	Gruplar arası	209.0547	1	209.0547	532.7876	0.000*
		Grup içi	1.5695	4	0.3924		
		Toplam	210.6243	5			
	300	Gruplar arası	212.5757	1	212.5757	176.5742	0.000*
		Grup içi	4.8156	4	1.2039		
		Toplam	217.3912	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 6. Farklı konsantrasyonlarda yapılan CdSO₄ uygulamalarının 4. gününde Meriç ve Tarsan 1018 bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında biriktirdikleri Cd miktarları için varyans analizi tablosu

4.gün							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	150	Gruplar arası	0.0009	1	0.0009	0.5072	0.516
		Grup içi	0.0074	4	0.0019		
		Toplam	0.0084	5			
	200	Gruplar arası	0.2479	1	0.2479	13.0330	0.023*
		Grup içi	0.0761	4	0.0190		
		Toplam	0.3239	5			
	250	Gruplar arası	0.0027	1	0.0027	0.0054	0.945
		Grup içi	1.9789	4	0.4947		
		Toplam	1.9816	5			
	300	Gruplar arası	1.0755	1	1.0755	14.9824	0.018*
		Grup içi	0.2871	4	0.0718		
		Toplam	1.3627	5			
Gövde	150	Gruplar arası	0.1407	1	0.1407	0.2924	0.617
		Grup içi	1.9252	4	0.4813		
		Toplam	2.0659	5			
	200	Gruplar arası	1.0057	1	1.0057	4.2985	0.107
		Grup içi	0.9358	4	0.2340		
		Toplam	1.9415	5			
	250	Gruplar arası	0.3559	1	0.3559	37.0377	0.004*
		Grup içi	0.0384	4	0.0096		
		Toplam	0.3943	5			
	300	Gruplar arası	5.6886	1	5.6886	117.9555	0.000*
		Grup içi	0.1929	4	0.0482		
		Toplam	5.8815	5			
Kök	150	Gruplar arası	229.3027	1	229.3027	75.2530	0.001*
		Grup içi	12.1884	4	3.0471		
		Toplam	241.4911	5			
	200	Gruplar arası	157.6091	1	157.6091	51.5954	0.002*
		Grup içi	12.2189	4	3.0547		
		Toplam	169.8280	5			
	250	Gruplar arası	152.4550	1	152.4550	357.1180	0.000*
		Grup içi	1.7076	4	0.4269		
		Toplam	154.1626	5			
	300	Gruplar arası	65.7465	1	65.7465	17.4909	0.014*
		Grup içi	15.0356	4	3.7589		
		Toplam	80.7821	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 7. Meriç çeşidinde 2 ve 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamaları sonucunda yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	150	Gruplar arası	0.0042	1	0.0042	0.037043	0.857
		Grup içi	0.4567	4	0.1142		
		Toplam	0.4609	5			
	200	Gruplar arası	0.8159	1	0.8159	28.94849	0.006*
		Grup içi	0.1127	4	0.0282		
		Toplam	0.9286	5			
	250	Gruplar arası	3.2068	1	3.2068	341.0986	0.000*
		Grup içi	0.0376	4	0.0094		
		Toplam	3.2444	5			
	300	Gruplar arası	1.0148	1	1.0148	57.00755	0.002*
		Grup içi	0.0712	4	0.0178		
		Toplam	1.0860	5			
Gövde	150	Gruplar arası	246.1147	1	246.1147	121.4536	0.000*
		Grup içi	8.1056	4	2.0264		
		Toplam	254.2203	5			
	200	Gruplar arası	332.6366	1	332.6366	1335.458	0.000*
		Grup içi	0.9963	4	0.2491		
		Toplam	333.6330	5			
	250	Gruplar arası	305.0285	1	305.0285	15145.48	0.000*
		Grup içi	0.0806	4	0.0201		
		Toplam	305.1091	5			
	300	Gruplar arası	197.2725	1	197.2725	121.9748	0.000*
		Grup içi	6.4693	4	1.6173		
		Toplam	203.7418	5			
Kök	150	Gruplar arası	498.1166	1	498.1166	6282.172	0.000*
		Grup içi	0.3172	4	0.0793		
		Toplam	498.4338	5			
	200	Gruplar arası	1221.0269	1	1221.0269	3386.283	0.000*
		Grup içi	1.4423	4	0.3606		
		Toplam	1222.4693	5			
	250	Gruplar arası	865.7649	1	865.7649	2741.592	0.000*
		Grup içi	1.2632	4	0.3158		
		Toplam	867.0281	5			
	300	Gruplar arası	945.9942	1	945.9942	1155.881	0.000*
		Grup içi	3.2737	4	0.8184		
		Toplam	949.2678	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 8. Tarsan 1018 çeşidinde 2 ve 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamaları sonucunda yaprak, gövde ve kök dokularında biriken Cd miktarları için varyans analizi tablosu

Tarsan 1018							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	150	Gruplar arası	0.6217	1	0.6217	1085.9065	0.000*
		Grup içi	0.0023	4	0.0006		
		Toplam	0.6240	5			
	200	Gruplar arası	0.1207	1	0.1207	2.0470	0.226
		Grup içi	0.2359	4	0.0590		
		Toplam	0.3566	5			
	250	Gruplar arası	0.1689	1	0.1689	0.3460	0.588
		Grup içi	1.9521	4	0.4880		
		Toplam	2.1210	5			
	300	Gruplar arası	1.5815	1	1.5815	10.5568	0.031*
		Grup içi	0.5992	4	0.1498		
		Toplam	2.1807	5			
Gövde	150	Gruplar arası	301.0318	1	301.0318	3711.2433	0.000*
		Grup içi	0.3245	4	0.0811		
		Toplam	301.3562	5			
	200	Gruplar arası	297.8443	1	297.8443	1325.2752	0.000*
		Grup içi	0.8990	4	0.2247		
		Toplam	298.7433	5			
	250	Gruplar arası	570.6656	1	570.6656	398.4506	0.000*
		Grup içi	5.7288	4	1.4322		
		Toplam	576.3944	5			
	300	Gruplar arası	334.0349	1	334.0349	8.3266	0.045*
		Grup içi	160.4658	4	40.1165		
		Toplam	494.5008	5			
Kök	150	Gruplar arası	1008.4696	1	1008.4696	293.8102	0.000*
		Grup içi	13.7295	4	3.4324		
		Toplam	1022.1991	5			
	200	Gruplar arası	612.3024	1	612.3024	179.8986	0.000*
		Grup içi	13.6144	4	3.4036		
		Toplam	625.9168	5			
	250	Gruplar arası	745.9685	1	745.9685	1481.5847	0.000*
		Grup içi	2.0140	4	0.5035		
		Toplam	747.9824	5			
	300	Gruplar arası	589.7839	1	589.7839	142.3096	0.000*
		Grup içi	16.5775	4	4.1444		
		Toplam	606.3614	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 9. Ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM konsantrasyonlarda 2. günde belirlenen fitokelatin miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 2. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Gruplar arası	24.0229	3	8.0076	5.6969	0.022*
	Grup içi	11.2448	8	1.4056		
	Toplam	35.2677	11			
Gövde	Gruplar arası	390.3281	3	130.1094	16.4978	0.001*
	Grup içi	63.0916	8	7.8864		
	Toplam	453.4196	11			
Kök	Gruplar arası	18067.3494	3	6022.4498	1425.6381	0.000*
	Grup içi	33.7951	8	4.2244		
	Toplam	18101.1445	11			
Tarsan 1018						
Yaprak	Gruplar arası	336.5402	3	112.1801	33.9648	0.000*
	Grup içi	26.4227	8	3.3028		
	Toplam	362.9629	11			
Gövde	Gruplar arası	8746.1195	3	2915.3732	381.4029	0.000*
	Grup içi	61.1505	8	7.6438		
	Toplam	8807.2700	11			
Kök	Gruplar arası	18229.8469	3	6076.6156	657.3519	0.000*
	Grup içi	73.9527	8	9.2441		
	Toplam	18303.7995	11			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 10. Farklı Konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 2. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
150	Gruplar arası	5518.0037	2	2759.0018	459.844	0.000*
	Grup içi	35.9992	6	5.9999		
	Toplam	5554.0028	8			
200	Gruplar arası	8566.9946	2	4283.4973	1104.618	0.000*
	Grup içi	23.2668	6	3.8778		
	Toplam	8590.2614	8			
250	Gruplar arası	17131.5430	2	8565.7715	3320.090	0.000*
	Grup içi	15.4799	6	2.5800		
	Toplam	17147.0229	8			
300	Gruplar arası	40289.0338	2	20144.5169	3620.335	0.000*
	Grup içi	33.3856	6	5.5643		
	Toplam	40322.4195	8			
Tarsan 1018						
150	Gruplar arası	15853.5027	2	7926.7513	1118.429	0.000*
	Grup içi	42.5244	6	7.0874		
	Toplam	15896.0270	8			
200	Gruplar arası	27064.5323	2	13532.2661	1877.235	0.000*
	Grup içi	43.2517	6	7.2086		
	Toplam	27107.7840	8			
250	Gruplar arası	32544.2545	2	16272.1273	16469.461	0.000*
	Grup içi	5.9281	6	0.9880		
	Toplam	32550.1826	8			
300	Gruplar arası	60352.3096	2	30176.1548	2593.133	0.000*
	Grup içi	69.8217	6	11.6369		
	Toplam	60422.1313	8			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 11. Ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM konsantrasyonlarda 4. günde belirlenen fitokelatin miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 4. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Gruplar arası	124.5212	3	41.5071	17.5855	0.001*
	Grup içi	18.8824	8	2.3603		
	Toplam	143.4037	11			
Gövde	Gruplar arası	1137.0834	3	379.0278	97.0163	0.000*
	Grup içi	31.2548	8	3.9068		
	Toplam	1168.3381	11			
Kök	Gruplar arası	16492.0363	3	5497.3454	1305.1388	0.000*
	Grup içi	33.6966	8	4.2121		
	Toplam	16525.7329	11			
Tarsan 1018						
Yaprak	Gruplar arası	753.7159	3	251.2386	102.5931	0.000*
	Grup içi	19.5911	8	2.4489		
	Toplam	773.3070	11			
Gövde	Gruplar arası	9251.2118	3	3083.7373	1729.3007	0.000*
	Grup içi	14.2658	8	1.7832		
	Toplam	9265.4776	11			
Kök	Gruplar arası	11211.5452	3	3737.1817	226.3925	0.000*
	Grup içi	132.0603	8	16.5075		
	Toplam	11343.6055	11			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 12. Farklı Konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen fitokelatin miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 4. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
150	Gruplar arası	59491.2936	2	29745.6468	8154.148	0.000*
	Grup içi	21.8875	6	3.6479		
	Toplam	59513.1811	8			
200	Gruplar arası	71548.6496	2	35774.3248	10564.966	0.000*
	Grup içi	20.3168	6	3.3861		
	Toplam	71568.9664	8			
250	Gruplar arası	109770.9994	2	54885.4997	13217.975	0.000*
	Grup içi	24.9140	6	4.1523		
	Toplam	109795.9134	8			
300	Gruplar arası	124009.5482	2	62004.7741	22256.459	0.000*
	Grup içi	16.7155	6	2.7859		
	Toplam	124026.2637	8			
Tarsan 1018						
150	Gruplar arası	87535.7551	2	43767.8775	37195.450	0.000*
	Grup içi	7.0602	6	1.1767		
	Toplam	87542.8153	8			
200	Gruplar arası	105042.0987	2	52521.0494	3454.977	0.000*
	Grup içi	91.2094	6	15.2016		
	Toplam	105133.3081	8			
250	Gruplar arası	111771.9073	2	55885.9537	15958.469	0.000*
	Grup içi	21.0118	6	3.5020		
	Toplam	111792.9191	8			
300	Gruplar arası	127533.9344	2	63766.9672	8204.032	0.000*
	Grup içi	46.6358	6	7.7726		
	Toplam	127580.5702	8			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 13. Farklı konsantrasyonlarda yapılan CdSO₄ uygulamalarının 2. gününde Meriç ve Tarsan 1018 bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında biriktirdikleri fitokelatin miktarları için varyans analizi tablosu

2.gün							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	150	Gruplar arası	1704.9787	1	1704.9787	259.2308	0.000*
		Grup içi	32.8853	5	6.5771		
		Toplam	1737.8640	6			
	200	Gruplar arası	1527.9736	1	1527.9736	47.7010	0.001*
		Grup içi	160.1616	5	32.0323		
		Toplam	1688.1352	6			
	250	Gruplar arası	2916.2278	1	2916.2278	138.1538	0.000*
		Grup içi	105.5428	5	21.1086		
		Toplam	3021.7706	6			
	300	Gruplar arası	2012.5970	1	2012.5970	117.8380	0.000*
		Grup içi	85.3968	5	17.0794		
		Toplam	2097.9938	6			
Gövde	150	Gruplar arası	3641.3971	1	3641.3971	124.1696	0.000*
		Grup içi	146.6299	5	29.3260		
		Toplam	3788.0271	6			
	200	Gruplar arası	15364.0261	1	15364.0261	738.2490	0.000*
		Grup içi	104.0572	5	20.8114		
		Toplam	15468.0833	6			
	250	Gruplar arası	16542.6131	1	16542.6131	2975.6488	0.000*
		Grup içi	27.7966	5	5.5593		
		Toplam	16570.4098	6			
	300	Gruplar arası	13607.1902	1	13607.1902	1323.6866	0.000*
		Grup içi	51.3988	5	10.2798		
		Toplam	13658.5890	6			
Kök	150	Gruplar arası	12521.5807	1	12521.5807	43.3709	0.001*
		Grup içi	1443.5480	5	288.7096		
		Toplam	13965.1287	6			
	200	Gruplar arası	17780.2053	1	17780.2053	25.1979	0.004*
		Grup içi	3528.1061	5	705.6212		
		Toplam	21308.3113	6			
	250	Gruplar arası	19867.3713	1	19867.3713	12.7068	0.016*
		Grup içi	7817.6208	5	1563.5242		
		Toplam	27684.9921	6			
	300	Gruplar arası	23584.9976	1	23584.9976	6.4522	0.042*
		Grup içi	18276.6369	5	3655.3274		
		Toplam	41861.6345	6			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 14. Farklı konsantrasyonlarda yapılan CdSO₄ uygulamalarının 4. gününde Meriç ve Tarsan 1018 bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında biriktirdikleri fitokelatin miktarları için varyans analizi tablosu

4.gün							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	150	Gruplar arası	1180.8590	1	1180.8590	2299.1226	0.000*
		Grup içi	2.0545	4	0.5136		
		Toplam	1182.9134	5			
	200	Gruplar arası	1398.0793	1	1398.0793	722.4238	0.000*
		Grup içi	7.7410	4	1.9353		
		Toplam	1405.8203	5			
	250	Gruplar arası	1839.8304	1	1839.8304	458.8428	0.000*
		Grup içi	16.0389	4	4.0097		
		Toplam	1855.8693	5			
	300	Gruplar arası	2762.9493	1	2762.9493	874.4121	0.000*
		Grup içi	12.6391	4	3.1598		
		Toplam	2775.5884	5			
Gövde	150	Gruplar arası	1405.7520	1	1405.7520	298.4997	0.000*
		Grup içi	18.8376	4	4.7094		
		Toplam	1424.5896	5			
	200	Gruplar arası	5247.1348	1	5247.1348	3845.9856	0.000*
		Grup içi	5.4573	4	1.3643		
		Toplam	5252.5920	5			
	250	Gruplar arası	8024.1944	1	8024.1944	2277.9398	0.000*
		Grup içi	14.0903	4	3.5226		
		Toplam	8038.2847	5			
	300	Gruplar arası	8914.6182	1	8914.6182	4997.3215	0.000*
		Grup içi	7.1355	4	1.7839		
		Toplam	8921.7537	5			
Kök	150	Gruplar arası	6535.9013	1	6535.9013	3245.3650	0.000*
		Grup içi	8.0557	4	2.0139		
		Toplam	6543.9569	5			
	200	Gruplar arası	10052.3225	1	10052.3225	408.9309	0.000*
		Grup içi	98.3278	4	24.5820		
		Toplam	10150.6503	5			
	250	Gruplar arası	3852.0560	1	3852.0560	975.4102	0.000*
		Grup içi	15.7967	4	3.9492		
		Toplam	3867.8527	5			
	300	Gruplar arası	5100.1458	1	5100.1458	468.1532	0.000*
		Grup içi	43.5767	4	10.8942		
		Toplam	5143.7225	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 15. Meriç çeşidinde 2 ve 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamaları sonucunda yaprak, gövde ve kök dokularında biriken fitokelatin miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	150	Gruplar arası	56.3613	1	56.3613	189.9640	0.000*
		Grup içi	1.1868	4	0.2967		
		Toplam	57.5481	5			
	200	Gruplar arası	258.0977	1	258.0977	258.6633	0.000*
		Grup içi	3.9913	4	0.9978		
		Toplam	262.0889	5			
	250	Gruplar arası	310.0664	1	310.0664	68.2305	0.001*
		Grup içi	18.1776	4	4.5444		
		Toplam	328.2440	5			
	300	Gruplar arası	150.2831	1	150.2831	88.7722	0.001*
		Grup içi	6.7716	4	1.6929		
		Toplam	157.0548	5			
Gövde	150	Gruplar arası	200.7071	1	200.7071	16.6068	0.015*
		Grup içi	48.3433	4	12.0858		
		Toplam	249.0504	5			
	200	Gruplar arası	197.8148	1	197.8148	36.1827	0.004*
		Grup içi	21.8685	4	5.4671		
		Toplam	219.6833	5			
	250	Gruplar arası	24.7878	1	24.7878	5.8167	0.073*
		Grup içi	17.0460	4	4.2615		
		Toplam	41.8338	5			
	300	Gruplar arası	2.9401	1	2.9401	1.6591	0.267*
		Grup içi	7.0886	4	1.7722		
		Toplam	10.0288	5			
Kök	150	Gruplar arası	23348.9581	1	23348.9581	11176.2806	0.000*
		Grup içi	8.3566	4	2.0892		
		Toplam	23357.3148	5			
	200	Gruplar arası	27615.0244	1	27615.0244	6232.2687	0.000*
		Grup içi	17.7239	4	4.4310		
		Toplam	27632.7483	5			
	250	Gruplar arası	35658.6087	1	35658.6087	27587.0368	0.000*
		Grup içi	5.1703	4	1.2926		
		Toplam	35663.7791	5			
	300	Gruplar arası	19882.3918	1	19882.3918	2194.4714	0.000*
		Grup içi	36.2409	4	9.0602		
		Toplam	19918.6327	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 16. Tarsan 1018 çeşidinde 2 ve 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamaları sonucunda yaprak, gövde ve kök dokularında biriken fitokelatin miktarları için varyans analizi tablosu

Tarsan 1018							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	150	Gruplar arası	2.4381	1	2.4381	0.8836	0.400*
		Grup içi	11.0375	4	2.7594		
		Toplam	13.4756	5			
	200	Gruplar arası	157.3755	1	157.3755	49.3256	0.002*
		Grup içi	12.7622	4	3.1905		
		Toplam	170.1377	5			
	250	Gruplar arası	41.7461	1	41.7461	42.6441	0.003*
		Grup içi	3.9158	4	0.9789		
		Toplam	45.6619	5			
	300	Gruplar arası	393.5530	1	393.5530	86.0305	0.001*
		Grup içi	18.2983	4	4.5746		
		Toplam	411.8513	5			
Gövde	150	Gruplar arası	869.0774	1	869.0774	312.8493	0.000*
		Grup içi	11.1118	4	2.7779		
		Toplam	880.1892	5			
	200	Gruplar arası	2957.0379	1	2957.0379	1979.2271	0.000*
		Grup içi	5.9761	4	1.4940		
		Toplam	2963.0141	5			
	250	Gruplar arası	1171.3177	1	1171.3177	656.3568	0.000*
		Grup içi	7.1383	4	1.7846		
		Toplam	1178.4560	5			
	300	Gruplar arası	263.5635	1	263.5635	20.5949	0.011*
		Grup içi	51.1901	4	12.7975		
		Toplam	314.7537	5			
Kök	150	Gruplar arası	20243.3387	1	20243.3387	2951.4282	0.000*
		Grup içi	27.4353	4	6.8588		
		Toplam	20270.7740	5			
	200	Gruplar arası	26440.0829	1	26440.0829	913.9114	0.000*
		Grup içi	115.7227	4	28.9307		
		Toplam	26555.8057	5			
	250	Gruplar arası	22590.4869	1	22590.4869	5688.2169	0.000*
		Grup içi	15.8858	4	3.9715		
		Toplam	22606.3727	5			
	300	Gruplar arası	13574.6425	1	13574.6425	1156.0495	0.000*
		Grup içi	46.9691	4	11.7423		
		Toplam	13621.6115	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 17. Ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM konsantrasyonlarda 2. günde belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 2. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Gruplar arası	235.0627	4	58.7657	0.5661	0.693
	Grup içi	1038.1267	10	103.8127		
	Toplam	1273.1893	14			
Gövde	Gruplar arası	4.7493	4	1.1873	4.4637	0.025*
	Grup içi	2.6600	10	0.2660		
	Toplam	7.4093	14			
Kök	Gruplar arası	124.7960	4	31.1990	4.9293	0.019*
	Grup içi	63.2933	10	6.3293		
	Toplam	188.0893	14			
Tarsan 1018						
Yaprak	Gruplar arası	1007.0360	4	251.7590	2.5689	0.103
	Grup içi	980.0133	10	98.0013		
	Toplam	1987.0493	14			
Gövde	Gruplar arası	57.0490	4	14.2623	1.3856	0.307
	Grup içi	102.9355	10	10.2936		
	Toplam	159.9846	14			
Kök	Gruplar arası	265.1262	4	66.2815	4.8992	0.019*
	Grup içi	135.2907	10	13.5291		
	Toplam	400.4169	14			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 18. Farklı Konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 2. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Kontrol	Gruplar arası	48.3200	2	24.1600	1.4470	0.307
	Grup içi	100.1800	6	16.6967		
	Toplam	148.5000	8			
150	Gruplar arası	88.7489	2	44.3744	0.8789	0.463
	Grup içi	302.9467	6	50.4911		
	Toplam	391.6956	8			
200	Gruplar arası	118.7467	2	59.3733	1.7353	0.254
	Grup içi	205.2933	6	34.2156		
	Toplam	324.0400	8			
250	Gruplar arası	583.8156	2	291.9078	4.3740	0.067
	Grup içi	400.4267	6	66.7378		
	Toplam	984.2422	8			
300	Gruplar arası	160.5067	2	80.2533	5.0562	0.052
	Grup içi	95.2333	6	15.8722		
	Toplam	255.7400	8			
Tarsan 1018						
Kontrol	Gruplar arası	597.4422	2	298.7211	6.6760	0.030*
	Grup içi	268.4733	6	44.7456		
	Toplam	865.9156	8			
150	Gruplar arası	3625.0118	2	1812.5059	92.1388	0.000*
	Grup içi	118.0289	6	19.6715		
	Toplam	3743.0406	8			
200	Gruplar arası	2966.9756	2	1483.4878	43.2000	0.000*
	Grup içi	206.0400	6	34.3400		
	Toplam	3173.0156	8			
250	Gruplar arası	2920.7745	2	1460.3872	26.3536	0.001*
	Grup içi	332.4907	6	55.4151		
	Toplam	3253.2652	8			
300	Gruplar arası	1574.6422	2	787.3211	16.1113	0.004*
	Grup içi	293.2067	6	48.8678		
	Toplam	1867.8489	8			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 19. Ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM konsantrasyonlarda 4. günde belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 4. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Gruplar arası	358.8827	4	89.7207	10.5322	0.001*
	Grup içi	85.1867	10	8.5187		
	Toplam	444.0693	14			
Gövde	Gruplar arası	10.0600	4	2.5150	6.9220	0.006*
	Grup içi	3.6333	10	0.3633		
	Toplam	13.6933	14			
Kök	Gruplar arası	369.7273	4	92.4318	6.7402	0.007*
	Grup içi	137.1350	10	13.7135		
	Toplam	506.8623	14			
Tarsan 1018						
Yaprak	Gruplar arası	1628.1329	4	407.0332	10.6723	0.001*
	Grup içi	381.3933	10	38.1393		
	Toplam	2009.5262	14			
Gövde	Gruplar arası	84.3027	4	21.0757	0.9749	0.463
	Grup içi	216.1733	10	21.6173		
	Toplam	300.4760	14			
Kök	Gruplar arası	990.6713	4	247.6678	13.0404	0.001*
	Grup içi	189.9229	10	18.9923		
	Toplam	1180.5942	14			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 20. Farklı Konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç 4. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Kontrol	Gruplar arası	1362.3822	2	681.1911	91.6675	0.000*
	Grup içi	44.5867	6	7.4311		
	Toplam	1406.9689	8			
150	Gruplar arası	1612.4867	2	806.2433	36.6993	0.000*
	Grup içi	131.8133	6	21.9689		
	Toplam	1744.3000	8			
200	Gruplar arası	1623.4867	2	811.7433	234.6833	0.000*
	Grup içi	20.7533	6	3.4589		
	Toplam	1644.2400	8			
250	Gruplar arası	1162.5267	2	581.2633	172.0280	0.000*
	Grup içi	20.2733	6	3.3789		
	Toplam	1182.8000	8			
300	Gruplar arası	841.5417	2	420.7708	296.0279	0.000*
	Grup içi	8.5283	6	1.4214		
	Toplam	850.0700	8			
Tarsan 1018						
Kontrol	Gruplar arası	2737.7422	2	1368.8711	59.7586	0.000*
	Grup içi	137.4400	6	22.9067		
	Toplam	2875.1822	8			
150	Gruplar arası	3052.6961	2	1526.3480	50.2282	0.000*
	Grup içi	182.3295	6	30.3883		
	Toplam	3235.0256	8			
200	Gruplar arası	2427.6156	2	1213.8078	33.7460	0.001*
	Grup içi	215.8133	6	35.9689		
	Toplam	2643.4289	8			
250	Gruplar arası	1939.1151	2	969.5575	32.5659	0.001*
	Grup içi	178.6333	6	29.7722		
	Toplam	2117.7484	8			
300	Gruplar arası	1124.2956	2	562.1478	46.0316	0.000*
	Grup içi	73.2733	6	12.2122		
	Toplam	1197.5689	8			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 21. Meriç çeşidinde 2 ve 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamaları sonucunda yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları için varyans analizi tablosu

Meriç							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Kontrol	Grup. arası	807.3600	1	807.3600	31.8737	0.005*
		Grup içi	101.3200	4	25.3300		
		Toplam	908.6800	5			
	150	Grup. arası	640.6667	1	640.6667	7.4473	0.052
		Grup içi	344.1067	4	86.0267		
		Toplam	984.7733	5			
	200	Grup. arası	471.7067	1	471.7067	8.7049	0.042*
		Grup içi	216.7533	4	54.1883		
		Toplam	688.4600	5			
	250	Grup. arası	18.0267	1	18.0267	0.1749	0.697
		Grup içi	412.1667	4	103.0417		
		Toplam	430.1933	5			
	300	Grup. arası	173.8817	1	173.8817	14.2041	0.020*
		Grup içi	48.9667	4	12.2417		
		Toplam	222.8483	5			
Gövde	Kontrol	Grup. arası	0.2400	1	0.2400	1.2632	0.324
		Grup içi	0.7600	4	0.1900		
		Toplam	1.0000	5			
	150	Grup. arası	0.5400	1	0.5400	10.1250	0.033*
		Grup içi	0.2133	4	0.0533		
		Toplam	0.7533	5			
	200	Grup. arası	0.7350	1	0.7350	14.7000	0.019*
		Grup içi	0.2000	4	0.0500		
		Toplam	0.9350	5			
	250	Grup. arası	0.0017	1	0.0017	0.0455	0.842
		Grup içi	0.1467	4	0.0367		
		Toplam	0.1483	5			
	300	Grup. arası	0.0600	1	0.0600	0.0483	0.837
		Grup içi	4.9733	4	1.2433		
		Toplam	5.0333	5			
Kök	Kontrol	Grup. arası	7.7067	1	7.7067	0.7222	0.443
		Grup içi	42.6867	4	10.6717		
		Toplam	50.3933	5			
	150	Grup. arası	13.5000	1	13.5000	0.5971	0.483
		Grup içi	90.4400	4	22.6100		
		Toplam	103.9400	5			
	200	Grup. arası	47.6017	1	47.6017	20.9391	0.010*
		Grup içi	9.0933	4	2.2733		
		Toplam	56.6950	5			
	250	Grup. arası	46.4817	1	46.4817	22.1693	0.009*
		Grup içi	8.3867	4	2.0967		
		Toplam	54.8683	5			
	300	Grup. arası	3.4504	1	3.4504	0.2770	0.626
		Grup içi	49.8217	4	12.4554		
		Toplam	53.2721	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 22. Tarsan 1018 çeşidinde 2 ve 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamaları sonucunda yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen toplam çözünebilir protein miktarları için varyans analizi tablosu

Tarsan 1018							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Kontrol	Grup. arası	630.3750	1	630.3750	6.3317	0.066
		Grup içi	398.2333	4	99.5583		
		Toplam	1028.6083	5			
	150	Grup. arası	71.4150	1	71.4150	2.0730	0.223
		Grup içi	137.8000	4	34.4500		
		Toplam	209.2150	5			
	200	Grup. arası	144.0600	1	144.0600	2.4233	0.195
		Grup içi	237.7933	4	59.4483		
		Toplam	381.8533	5			
	250	Grup. arası	304.8788	1	304.8788	4.1279	0.112
		Grup içi	295.4333	4	73.8583		
		Toplam	600.3121	5			
	300	Grup. arası	204.1667	1	204.1667	2.7954	0.170
		Grup içi	292.1467	4	73.0367		
		Toplam	496.3133	5			
Gövde	Kontrol	Grup. arası	0.1667	1	0.1667	0.3759	0.573
		Grup içi	1.7733	4	0.4433		
		Toplam	1.9400	5			
	150	Grup. arası	0.2281	1	0.2281	0.4234	0.551
		Grup içi	2.1555	4	0.5389		
		Toplam	2.3837	5			
	200	Grup. arası	12.3267	1	12.3267	0.3896	0.566
		Grup içi	126.5667	4	31.6417		
		Toplam	138.8933	5			
	250	Grup. arası	11.2067	1	11.2067	0.3230	0.600
		Grup içi	138.7667	4	34.6917		
		Toplam	149.9733	5			
	300	Grup. arası	4.1667	1	4.1667	0.3344	0.594
		Grup içi	49.8467	4	12.4617		
		Toplam	54.0133	5			
Kök	Kontrol	Grup. arası	2.0417	1	2.0417	1.3826	0.305
		Grup içi	5.9067	4	1.4767		
		Toplam	7.9483	5			
	150	Grup. arası	78.3371	1	78.3371	1.9535	0.235
		Grup içi	160.4029	4	40.1007		
		Toplam	238.7399	5			
	200	Grup. arası	103.3350	1	103.3350	7.1894	0.055
		Grup içi	57.4933	4	14.3733		
		Toplam	160.8283	5			
	250	Grup. arası	208.9780	1	208.9780	10.8667	0.030*
		Grup içi	76.9241	4	19.2310		
		Toplam	285.9021	5			
	300	Grup. arası	117.9267	1	117.9267	19.2638	0.012*
		Grup içi	24.4867	4	6.1217		
		Toplam	142.4133	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 23. Farklı konsantrasyonlarda yapılan CdSO₄ uygulamalarının 2. gününde Meriç ve Tarsan 1018 bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarları için varyans analizi tablosu

2.gün							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Kontrol	Grup. arası	189.2817	1	189.2817	2.0900	0.222
		Grup içi	362.2667	4	90.5667		
		Toplam	551.5483	5			
	150	Grup. arası	1584.3750	1	1584.3750	15.1811	0.018*
		Grup içi	417.4600	4	104.3650		
		Toplam	2001.8350	5			
	200	Grup. arası	922.5600	1	922.5600	10.7164	0.031*
		Grup içi	344.3533	4	86.0883		
		Toplam	1266.9133	5			
	250	Grup. arası	315.3750	1	315.3750	2.0536	0.225
		Grup içi	614.3000	4	153.5750		
		Toplam	929.6750	5			
	300	Grup. arası	351.1350	1	351.1350	5.0205	0.089
		Grup içi	279.7600	4	69.9400		
		Toplam	630.8950	5			
Gövde	Kontrol	Grup. arası	4.1667	1	4.1667	18.3824	0.013*
		Grup içi	0.9067	4	0.2267		
		Toplam	5.0733	5			
	150	Grup. arası	31.6021	1	31.6021	85.6698	0.001*
		Grup içi	1.4755	4	0.3689		
		Toplam	33.0777	5			
	200	Grup. arası	41.0817	1	41.0817	51.5669	0.002*
		Grup içi	3.1867	4	0.7967		
		Toplam	44.2683	5			
	250	Grup. arası	86.6400	1	86.6400	6.4931	0.063
		Grup içi	53.3733	4	13.3433		
		Toplam	140.0133	5			
	300	Grup. arası	16.0067	1	16.0067	1.3724	0.306
		Grup içi	46.6533	4	11.6633		
		Toplam	62.6600	5			
Kök	Kontrol	Grup. arası	9.3750	1	9.3750	6.8431	0.059
		Grup içi	5.4800	4	1.3700		
		Toplam	14.8550	5			
	150	Grup. arası	7.9350	1	7.9350	15.5588	0.017*
		Grup içi	2.0400	4	0.5100		
		Toplam	9.9750	5			
	200	Grup. arası	68.0067	1	68.0067	4.2642	0.108
		Grup içi	63.7933	4	15.9483		
		Toplam	131.8000	5			
	250	Grup. arası	50.4020	1	50.4020	3.0901	0.154
		Grup içi	65.2441	4	16.3110		
		Toplam	115.6461	5			
	300	Grup. arası	32.6667	1	32.6667	2.1066	0.220
		Grup içi	62.0267	4	15.5067		
		Toplam	94.6933	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 24.Farklı konsantrasyonlarda yapılan CdSO₄ uygulamalarının 4. gününde Meriç ve Tarsan 1018 bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında toplam çözünebilir protein miktarları için varyans analizi tablosu

4.gün							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Kontrol	Grup. arası	109.2267	1	109.2267	3.1824	0.149
		Grup içi	137.2867	4	34.3217		
		Toplam	246.5133	5			
	150	Grup. arası	36.5067	1	36.5067	2.2659	0.207
		Grup içi	64.4467	4	16.1117		
		Toplam	100.9533	5			
	200	Grup. arası	11.2067	1	11.2067	0.4068	0.558
		Grup içi	110.1933	4	27.5483		
		Toplam	121.4000	5			
	250	Grup. arası	15.5848	1	15.5848	0.6682	0.460
		Grup içi	93.2999	4	23.3250		
		Toplam	108.8848	5			
	300	Grup. arası	76.3267	1	76.3267	4.9762	0.090
		Grup içi	61.3533	4	15.3383		
		Toplam	137.6800	5			
Gövde	Kontrol	Grup. arası	4.5067	1	4.5067	11.0820	0.029*
		Grup içi	1.6267	4	0.4067		
		Toplam	6.1333	5			
	150	Grup. arası	34.5600	1	34.5600	154.7463	0.000*
		Grup içi	0.8933	4	0.2233		
		Toplam	35.4533	5			
	200	Grup. arası	116.1600	1	116.1600	3.7598	0.125
		Grup içi	123.5800	4	30.8950		
		Toplam	239.7400	5			
	250	Grup. arası	36.0150	1	36.0150	1.6841	0.264
		Grup içi	85.5400	4	21.3850		
		Toplam	121.5550	5			
	300	Grup. arası	33.6067	1	33.6067	16.4604	0.015*
		Grup içi	8.1667	4	2.0417		
		Toplam	41.7733	5			
Kök	Kontrol	Grup. arası	19.4400	1	19.4400	1.8036	0.250
		Grup içi	43.1133	4	10.7783		
		Toplam	62.5533	5			
	150	Grup. arası	63.8961	1	63.8961	1.0273	0.368
		Grup içi	248.8029	4	62.2007		
		Toplam	312.6989	5			
	200	Grup. arası	132.5400	1	132.5400	189.7947	0.000*
		Grup içi	2.7933	4	0.6983		
		Toplam	135.3333	5			
	250	Grup. arası	217.2017	1	217.2017	43.2960	0.003*
		Grup içi	20.0667	4	5.0167		
		Toplam	237.2683	5			
	300	Grup. arası	216.6004	1	216.6004	70.5443	0.001*
		Grup içi	12.2817	4	3.0704		
		Toplam	228.8821	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir (Tekyönlü-ANOVA, $P \leq 0.05$).

Ek 25. Ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150 μ M, 200 μ M, 250 μ M ve 300 μ M konsantrasyonlarda 2. günde sentezlenen belirlenen NO düzeyleri için varyans analizi tablosu

Meriç 2. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Gruplar arası	1770.6218	4	442.6554	64.1622	0.000*
	Grup içi	68.9901	10	6.8990		
	Toplam	1839.6118	14			
Gövde	Gruplar arası	2517.9725	4	629.4931	86.9804	0.000*
	Grup içi	72.3718	10	7.2372		
	Toplam	2590.3443	14			
Kök	Gruplar arası	193.0989	4	48.2747	21.6664	0.000*
	Grup içi	22.2810	10	2.2281		
	Toplam	215.3799	14			
Tarsan 1018						
Yaprak	Gruplar arası	399.0388	4	99.7597	12.1478	0.00*1
	Grup içi	82.1213	10	8.2121		
	Toplam	481.1601	14			
Gövde	Gruplar arası	338.2222	4	84.5555	14.5660	0.000*
	Grup içi	58.0501	10	5.8050		
	Toplam	396.2722	14			
Kök	Gruplar arası	77.5844	4	19.3961	11.3850	0.001*
	Grup içi	17.0365	10	1.7036		
	Toplam	94.6209	14			

* 0.05 lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir.

Ek 26. Farklı Konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 2. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeyleri için varyans analizi tablosu

Meriç 2. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Kontrol	Gruplar arası	5264.6636	2	2632.3318	208.8918	0.000*
	Grup içi	75.6085	6	12.6014		
	Toplam	5340.2721	8			
150	Gruplar arası	6295.9282	2	3147.9641	724.3026	0.000*
	Grup içi	26.0772	6	4.3462		
	Toplam	6322.0054	8			
200	Gruplar arası	8546.4183	2	4273.2091	2637.7726	0.000*
	Grup içi	9.7200	6	1.6200		
	Toplam	8556.1383	8			
250	Gruplar arası	8896.7061	2	4448.3530	1185.9961	0.000*
	Grup içi	22.5044	6	3.7507		
	Toplam	8919.2105	8			
300	Gruplar arası	10405.9026	2	5202.9513	605.9985	0.000*
	Grup içi	51.5145	6	8.5858		
	Toplam	10457.4171	8			
Tarsan 1018						
Kontrol	Gruplar arası	2357.0967	2	1178.5484	345.0407	0.000*
	Grup içi	20.4941	6	3.4157		
	Toplam	2377.5908	8			
150	Gruplar arası	2091.7917	2	1045.8958	786.8376	0.000*
	Grup içi	7.9754	6	1.3292		
	Toplam	2099.7671	8			
200	Gruplar arası	2277.8079	2	1138.9039	66.2345	0.000*
	Grup içi	103.1702	6	17.1950		
	Toplam	2380.9780	8			
250	Gruplar arası	2022.2525	2	1011.1263	542.8010	0.000*
	Grup içi	11.1768	6	1.8628		
	Toplam	2033.4293	8			
300	Gruplar arası	3207.2782	2	1603.6391	668.5810	0.000*
	Grup içi	14.3914	6	2.3986		
	Toplam	3221.6696	8			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir.

Ek 27. Ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında 150 µM, 200 µM, 250 µM ve 300 µM konsantrasyonlarda 4. günde belirlenen NO düzeyleri için varyans analizi tablosu

Meriç 4. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Gruplar arası	2613.7752	4	653.4438	157.0660	0.000*
	Grup içi	41.6031	10	4.1603		
	Toplam	2655.3784	14			
Gövde	Gruplar arası	3038.5397	4	759.6349	169.1174	0.000*
	Grup içi	44.9176	10	4.4918		
	Toplam	3083.4573	14			
Kök	Gruplar arası	1053.0825	4	263.2706	119.0475	0.000*
	Grup içi	22.1148	10	2.2115		
	Toplam	1075.1972	14			
Tarsan 1018						
Yaprak	Gruplar arası	253.9261	4	63.4815	3.4447	0.050*
	Grup içi	184.2851	10	18.4285		
	Toplam	438.2112	14			
Gövde	Gruplar arası	3162.1959	4	790.5490	59.4248	0.000*
	Grup içi	133.0334	10	13.3033		
	Toplam	3295.2294	14			
Kök	Gruplar arası	241.7255	4	60.4314	20.7003	0.000*
	Grup içi	29.1935	10	2.9193		
	Toplam	270.9189	14			

* 0.05 lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir.

Ek 28. Farklı Konsantrasyonlarda CdSO₄ uygulamasının 4. gününde ayçiçeği bitkisinin Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeyleri için varyans analizi tablosu

Meriç 4. gün						
Konsantrasyon (µM)		Kareler Toplamı	Sd	Kareler Ort.	F	P
Kontrol	Gruplar arası	5070.1994	2	2535.0997	491.0688	0.000*
	Grup içi	30.9745	6	5.1624		
	Toplam	5101.1738	8			
150	Gruplar arası	6630.4278	2	3315.2139	857.7970	0.000*
	Grup içi	23.1888	6	3.8648		
	Toplam	6653.6166	8			
200	Gruplar arası	7995.0094	2	3997.5047	1603.2523	0.000*
	Grup içi	14.9602	6	2.4934		
	Toplam	8009.9696	8			
250	Gruplar arası	7876.2655	2	3938.1327	2187.2513	0.000*
	Grup içi	10.8030	6	1.8005		
	Toplam	7887.0684	8			
300	Gruplar arası	8062.3665	2	4031.1832	842.4909	0.000*
	Grup içi	28.7090	6	4.7848		
	Toplam	8091.0755	8			
Tarsan 1018						
Kontrol	Gruplar arası	2502.9283	2	1251.4641	129.7710	0.000*
	Grup içi	57.8618	6	9.6436		
	Toplam	2560.7901	8			
150	Gruplar arası	1559.2917	2	779.6458	713.2169	0.000*
	Grup içi	6.5588	6	1.0931		
	Toplam	1565.8505	8			
200	Gruplar arası	1666.1757	2	833.0879	63.6299	0.000*
	Grup içi	78.5562	6	13.0927		
	Toplam	1744.7320	8			
250	Gruplar arası	2129.8770	2	1064.9385	36.0806	0.000*
	Grup içi	177.0931	6	29.5155		
	Toplam	2306.9701	8			
300	Gruplar arası	3880.2494	2	1940.1247	233.9741	0.000*
	Grup içi	49.7523	6	8.2920		
	Toplam	3930.0017	8			

* 0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir.

Ek 29. Meriç çeşidinde 2 ve 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamaları sonucunda yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeyleri için varyans analizi tablosu

Meriç							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Kontrol	Grup. arası	0.5850	1	0.5850	0.0337	0.863
		Grup içi	69.3378	4	17.3344		
		Toplam	69.9228	5			
	150	Grup. arası	280.1667	1	280.1667	43.7923	0.003*
		Grup içi	25.5905	4	6.3976		
		Toplam	305.7572	5			
	200	Grup. arası	150.0000	1	150.0000	56.6929	0.002*
		Grup içi	10.5833	4	2.6458		
		Toplam	160.5833	5			
	250	Grup. arası	166.1003	1	166.1003	82.8378	0.00*1
		Grup içi	8.0205	4	2.0051		
		Toplam	174.1208	5			
	300	Grup. arası	130.6667	1	130.6667	27.7381	0.006*
		Grup içi	18.8429	4	4.7107		
		Toplam	149.5096	5			
Gövde	Kontrol	Grup. arası	1.5000	1	1.5000	0.2106	0.670
		Grup içi	28.4883	4	7.1221		
		Toplam	29.9883	5			
	150	Grup. arası	10.6667	1	10.6667	1.9805	0.232
		Grup içi	21.5437	4	5.3859		
		Toplam	32.2104	5			
	200	Grup. arası	81.6737	1	81.6737	59.7292	0.002*
		Grup içi	5.4696	4	1.3674		
		Toplam	87.1433	5			
	250	Grup. arası	140.1667	1	140.1667	96.0039	0.001*
		Grup içi	5.8400	4	1.4600		
		Toplam	146.0067	5			
	300	Grup. arası	4.1667	1	4.1667	0.2979	0.614
		Grup içi	55.9478	4	13.9870		
		Toplam	60.1145	5			
Kök	Kontrol	Grup. arası	0.6667	1	0.6667	0.3045	0.610
		Grup içi	8.7569	4	2.1892		
		Toplam	9.4236	5			
	150	Grup. arası	140.1667	1	140.1667	263.0050	0.000*
		Grup içi	2.1318	4	0.5329		
		Toplam	142.2984	5			
	200	Grup. arası	204.1667	1	204.1667	94.6603	0.001*
		Grup içi	8.6273	4	2.1568		
		Toplam	212.7940	5			
	250	Grup. arası	308.1667	1	308.1667	63.3866	0.001*
		Grup içi	19.4468	4	4.8617		
		Toplam	327.6135	5			
	300	Grup. arası	368.1667	1	368.1667	271.0675	0.000*
		Grup içi	5.4328	4	1.3582		
		Toplam	373.5995	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir.

Ek 30. Tarsan 1018 çeşidinde 2 ve 4 gün süre ile yapılan CdSO₄ uygulamaları sonucunda yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeyleri için varyans analizi tablosu

Tarsan 1018							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Kontrol	Grup. arası	32.6667	1	32.6667	2.9116	0.163
		Grup içi	44.8773	4	11.2193		
		Toplam	77.5440	5			
	150	Grup. arası	28.1667	1	28.1667	32.1283	0.005*
		Grup içi	3.5068	4	0.8767		
		Toplam	31.6734	5			
	200	Grup. arası	8.1667	1	8.1667	0.2799	0.625
		Grup içi	116.7029	4	29.1757		
		Toplam	124.8696	5			
	250	Grup. arası	60.1667	1	60.1667	2.5454	0.186
		Grup içi	94.5486	4	23.6372		
		Toplam	154.7153	5			
	300	Grup. arası	0.6667	1	0.6667	0.3938	0.564
		Grup içi	6.7708	4	1.6927		
		Toplam	7.4375	5			
Gövde	Kontrol	Grup. arası	4.1126	1	4.1126	0.7845	0.426
		Grup içi	20.9702	4	5.2426		
		Toplam	25.0828	5			
	150	Grup. arası	10.6667	1	10.6667	17.2101	0.014*
		Grup içi	2.4792	4	0.6198		
		Toplam	13.1458	5			
	200	Grup. arası	1.5000	1	1.5000	0.1135	0.753
		Grup içi	52.8497	4	13.2124		
		Toplam	54.3497	5			
	250	Grup. arası	266.6667	1	266.6667	12.8243	0.023*
		Grup içi	83.1756	4	20.7939		
		Toplam	349.8423	5			
	300	Grup. arası	1666.6667	1	1666.6667	121.3907	0.000*
		Grup içi	54.9191	4	13.7298		
		Toplam	1721.5858	5			
Kök	Kontrol	Grup. arası	2.9467	1	2.9467	0.9423	0.387
		Grup içi	12.5084	4	3.1271		
		Toplam	15.4550	5			
	150	Grup. arası	150.0000	1	150.0000	70.1891	0.001*
		Grup içi	8.5483	4	2.1371		
		Toplam	158.5483	5			
	200	Grup. arası	112.6667	1	112.6667	37.0193	0.004*
		Grup içi	12.1738	4	3.0435		
		Toplam	124.8405	5			
	250	Grup. arası	60.1667	1	60.1667	22.8215	0.009*
		Grup içi	10.5456	4	2.6364		
		Toplam	70.7123	5			
	300	Grup. arası	88.1667	1	88.1667	143.7235	0.000*
		Grup içi	2.4538	4	0.6134		
		Toplam	90.6205	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir.

Ek 31. Farklı konsantrasyonlarda yapılan CdSO₄ uygulamalarının 2. gününde Meriç ve Tarsan 1018 çeşitlerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeyleri için varyans analizi tablosu

2.gün							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Kontrol	Grup. arası	1101.3485	1	1101.3485	66.8388	0.001*
		Grup içi	65.9107	4	16.4777		
		Toplam	1167.2592	5			
	150	Grup. arası	1265.1276	1	1265.1276	697.3572	0.000*
		Grup içi	7.2567	4	1.8142		
		Toplam	1272.3843	5			
	200	Grup. arası	2203.7565	1	2203.7565	113.4492	0.000*
		Grup içi	77.7002	4	19.4250		
		Toplam	2281.4567	5			
	250	Grup. arası	2630.2776	1	2630.2776	1644.1069	0.000*
		Grup içi	6.3993	4	1.5998		
		Toplam	2636.6769	5			
	300	Grup. arası	2403.3292	1	2403.3292	615.2001	0.000*
		Grup içi	15.6263	4	3.9066		
		Toplam	2418.9555	5			
Gövde	Kontrol	Grup. arası	115.5743	1	115.5743	16.6852	0.015*
		Grup içi	27.7071	4	6.9268		
		Toplam	143.2814	5			
	150	Grup. arası	1735.4181	1	1735.4181	315.5661	0.000*
		Grup içi	21.9975	4	5.4994		
		Toplam	1757.4156	5			
	200	Grup. arası	1933.5166	1	1933.5166	262.0676	0.000*
		Grup içi	29.5117	4	7.3779		
		Toplam	1963.0283	5			
	250	Grup. arası	2721.7864	1	2721.7864	1779.2003	0.000*
		Grup içi	6.1191	4	1.5298		
		Toplam	2727.9056	5			
	300	Grup. arası	4162.8579	1	4162.8579	369.3223	0.000*
		Grup içi	45.0865	4	11.2716		
		Toplam	4207.9443	5			
Kök	Kontrol	Grup. arası	30.4706	1	30.4706	49.0509	0.002*
		Grup içi	2.4848	4	0.6212		
		Toplam	32.9554	5			
	150	Grup. arası	29.8151	1	29.8151	24.8541	0.008*
		Grup içi	4.7984	4	1.1996		
		Toplam	34.6135	5			
	200	Grup. arası	23.1740	1	23.1740	16.3246	0.016*
		Grup içi	5.6783	4	1.4196		
		Toplam	28.8524	5			
	250	Grup. arası	36.7740	1	36.7740	6.9507	0.050*
		Grup içi	21.1627	4	5.2907		
		Toplam	57.9368	5			
	300	Grup. arası	122.2518	1	122.2518	94.1639	0.001*
		Grup içi	5.1931	4	1.2983		
		Toplam	127.4449	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir.

Ek 32.Farklı konsantrasyonlarda yapılan CdSO₄ uygulamalarının 4.gününde Meriç ve Tarsan 1018 bitkilerinin yaprak, gövde ve kök dokularında belirlenen NO düzeyleri için varyans analizi tablosu

4.gün							
Bitki Dokusu	Konsantrasyon mM		Kareler Top.	Sd	Kareler Ort.	F	P
Yaprak	Kontrol	Grup. arası	713.2234	1	713.2234	59.0607	0.002*
		Grup içi	48.3044	4	12.0761		
		Toplam	761.5278	5			
	150	Grup. arası	2208.9609	1	2208.9609	404.5612	0.000*
		Grup içi	21.8406	4	5.4601		
		Toplam	2230.8015	5			
	200	Grup. arası	3173.5078	1	3173.5078	256.0001	0.000*
		Grup içi	49.5860	4	12.3965		
		Toplam	3223.0939	5			
	250	Grup. arası	3182.9349	1	3182.9349	132.3880	0.000*
		Grup içi	96.1699	4	24.0425		
		Toplam	3279.1047	5			
	300	Grup. arası	3556.7169	1	3556.7169	1424.4827	0.000*
		Grup içi	9.9874	4	2.4968		
		Toplam	3566.7043	5			
Gövde	Kontrol	Grup. arası	196.0911	1	196.0911	36.0604	0.004*
		Grup içi	21.7514	4	5.4378		
		Toplam	217.8425	5			
	150	Grup. arası	1735.4181	1	1735.4181	3427.3313	0.000*
		Grup içi	2.0254	4	0.5063		
		Toplam	1737.4435	5			
	200	Grup. arası	2941.3123	1	2941.3123	408.4081	0.000*
		Grup içi	28.8076	4	7.2019		
		Toplam	2970.1199	5			
	250	Grup. arası	2273.3835	1	2273.3835	109.6974	0.000*
		Grup içi	82.8965	4	20.7241		
		Toplam	2356.2801	5			
	300	Grup. arası	662.3739	1	662.3739	40.2779	0.003*
		Grup içi	65.7805	4	16.4451		
		Toplam	728.1543	5			
Kök	Kontrol	Grup. arası	21.3438	1	21.3438	4.5459	0.100*
		Grup içi	18.7805	4	4.6951		
		Toplam	40.1243	5			
	150	Grup. arası	25.5234	1	25.5234	17.3579	0.014*
		Grup içi	5.8817	4	1.4704		
		Toplam	31.4051	5			
	200	Grup. arası	72.0491	1	72.0491	19.0570	0.012*
		Grup içi	15.1229	4	3.7807		
		Toplam	87.1720	5			
	250	Grup. arası	251.6068	1	251.6068	113.9824	0.000*
		Grup içi	8.8297	4	2.2074		
		Toplam	260.4365	5			
	300	Grup. arası	434.9190	1	434.9190	645.8842	0.000*
		Grup içi	2.6935	4	0.6734		
		Toplam	437.6124	5			

*0.05' lik güven aralığında istatistik olarak önemlidir.

ÖZGEÇMİŞ

Malatya-Merkez ilçede 09.07.1977 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini Malatya’da tamamladı. Lisans eğitimini İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği bölümünde 1999 yılında tamamladı. Aynı yıl İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne araştırma görevlisi olarak atandı ve aynı zamanda İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans eğitime başladı. 2001 yılında “Tuza Hassas ve Dayanıklı İki Domates Türünde NaCl Tipi Tuz Stresinin Bazı Metabolik Olaylar Üzerine Etkisi” başlıklı tez çalışmasını başarıyla tamamlayarak, aynı yıl İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde doktora eğitime başladı. Evli olan Zeynep Banu Doğanlar halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.