

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Muhittin DOĞAN

***Ceratophyllum demersum* L.'DE KADMİYUM KLORÜR, SODYUM KLORÜR
VE BUNLARIN KOMBİNASYONLARININ FİZYOLOJİK VE
MORFOLOJİK ETKİLERİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2005

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Ceratophyllum demersum* L.'DE KADMIYUM KLORÜR, SODYUM
KLORÜR VE BUNLARIN KOMBİNASYONLARININ FİZYOLOJİK VE
MORFOLOJİK ETKİLERİ**

Muhittin DOĞAN
DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 24/06/2005 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oy Birliği/Oy Çokluğu ile Kabul Edilmiştir.

İmza:.....

İmza:.....

İmza:.....

Doç.Dr. Saadet SAYGIDEĞER
DANIŞMAN

Prof.Dr. Cengiz DARICI
ÜYE

Prof.Dr. Ferit KARGIN
ÜYE

İmza:.....

İmza:.....

Doç.Dr. Elman İSKENDER
ÜYE

Doç.Dr. Levent ÖZTÜRK
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FBE2004D2

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

ÖZ
DOKTORA TEZİ

***Ceratophyllum demersum* L.'DE KADMİYUM KLORÜR, SODYUM KLORÜR
VE BUNLARIN KOMBİNASYONLARININ FİZYOLOJİK VE MORFOLOJİK
ETKİLERİ**

Muhittin DOĞAN

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman: Doç. Dr. Saadet SAYGIDEĞER

Yıl: 2005, Sayfa: 137

Jüri: Doç. Dr. Saadet SAYGIDEĞER

Prof. Dr. Cengiz DARICI

Prof. Dr. Ferit KARGIN

Doç. Dr. Elman İSKENDER

Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK

Bu çalışmada, farklı derişimlerdeki Cd (0, 0.01, 0.1 ve 1 mg L⁻¹) ve NaCl (0, 20, 40 ve 80 mM) ile bunların kombinasyonlarının (0, 0.01+20, 0.1+40 ve 1+80 mg L⁻¹+mM) etkisinde 96 saat bırakılan *Ceratophyllum demersum* L.'de meydana gelen bazı fizyolojik ve morfolojik değişiklikler araştırılmıştır.

Cd, NaCl ve Cd+NaCl uygulamalarının düşük derişimlerinde dikkate değer morfolojik değişim olmamış, yüksek derişimlerde ise yapraklarda dökülmeler ve kısmi doku yumuşamalarının olduğu görülmüştür. 0.01, 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹ etkisinde yetiştirilen makrofitlerin Cd konsantrasyonlarının kontrole göre sırasıyla 15.4, 33.5 ve 160.0 kat arttığı bulunmuştur. 0.01+20 ve 0.1+40 Cd+NaCl etkisinde ise Cd derişimindeki bu artışların sırasıyla 14.4 ve 28.1 kat olduğu bulunmuştur. Yalnız NaCl'li koşullarda yetiştirilen makrofitlerde 80 mM'lık derişimde Na derişimi 2.31 kat, 0.1 mg Cd L⁻¹ + 40 mM NaCl'li kombinasyonda ise 1.92 kat artmıştır. Makrofitin Cd derişimleri, ayrı ayrı Cd ve NaCl uygulamaları ile karşılaştırıldığında Cd+NaCl uygulamasında azalmalar göstermiştir. Makrofitin makro- ve mikro-nutrient derişimlerinin Cd ve NaCl'den etkilendiği bulunmuştur. Makro-elementlerden K derişimleri Cd etkisinde %49-%132 artarken, NaCl ve Cd+NaCl etkisinde ise azalmıştır. P ve N derişimlerinin ise her üç uygulamada azaldığı bulunmuştur. Cd ve NaCl uygulamalarında mikro-elementlerden Mn derişimi artarken, Cu ve Zn derişimlerinin önemli düzeylerde azaldığı bulunmuştur. Makrofit dokularının Fe derişiminde önemli bir değişim olmamıştır. Uygulanan stres faktörlerinin yüksek derişimleri klorofil-a ve klorofil-b miktarlarının önemli oranlarda azalmasına neden olmuştur. Ancak karotenoid miktarlarında kayda değer değişme olmamıştır. Cd ve NaCl derişimleri ile bunların kombinasyonları özellikle yüksek derişimlerde toplam çözülebilir karbohidrat ve glukoz miktarlarında azalmalara neden olmuştur. Aminoasitlerden prolin ve sistein miktarlarında artışların olması, bu aminoasitlerin Cd ve NaCl toksisitesine yanıtta rol aldıklarını göstermektedir. İndirgenmiş askorbat miktarında belirlenen en yüksek artışlar Cd için 1 mg L⁻¹'de %72, NaCl için 40 mM'da %82 ve Cd+NaCl için 0.1 mg L⁻¹ + 40 mM'da %92 düzeylerinde bulunmuştur. Lipid peroksidasyonunda artış olması membranlarda Cd ve NaCl streslerinden kaynaklanan bir oksidatif hasarlanma olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *Ceratophyllum demersum* L., kadmiyum stresi, NaCl stresi, etkileşim, fizyolojik ve morfolojik değişmeler.

ABSTRACT
PhD THESIS

**PHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL EFFECTS OF CADMIUM
CHLORIDE, SODIUM CHLORIDE AND THEIR COMBINATIONS IN**
Ceratophyllum demersum L.

Muhittin DOĞAN

UNIVERSITY OF ÇUKUROVA
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Saadet SAYGIDEĞER
Year: 2005, **Page:** 137

Jury: Assoc. Prof. Dr. Saadet SAYGIDEĞER
Prof. Dr. Cengiz DARICI
Prof. Dr. Ferit KARGIN
Assoc. Prof. Dr. Elman İSKENDER
Assoc. Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK

In this study, some physiological and morphological changes were investigated in *Ceratophyllum demersum* L. which is treated with different concentrations of Cd (0, 0.01, 0.1 and 1 mg L⁻¹) and NaCl (0, 20, 40 and 80 mM) and their combinations (0, 0.01+20, 0.1+40 and 1+80 mg L⁻¹ + mM) during 96 hours.

At low concentrations of Cd, NaCl and Cd+NaCl, considerable morphological changes did not occur but leaf shedding and partial tissue softening were observed at high concentrations. In the macrophytes treated with 0, 0.01, 0.1 and 1 mg Cd L⁻¹, Cd concentrations increased 15.4, 33.5 and 160.0 fold, respectively, compared to control. On the otherhand, increase in Cd amount was found 14.4 and 28.1 fold at 0.01+20 and 0.1+40 Cd+NaCl combinations, respectively. In the macrophyte applied with individual NaCl at 80 mM concentration, Na concentration increased 2.31 fold and at 0.1+40 Cd+NaCl treatment caused 1.92 fold increased. However, Cd and Na concentrations following Cd+NaCl application showed decreases when compared to individual Cd and NaCl treatments. It was found that micro- and macro-nutrient concentrations of macrophyte were affected by Cd and NaCl. Although macro-nutrient K concentrations increased by 49%-132% in the effect of Cd, decline was determined after NaCl and Cd+NaCl treatments. P and N concentrations were determined to reduce following all three applications. Following Cd and NaCl applications micro-nutrient Mn increased, however, decrease was found in Cu and Zn concentrations of macrophyte tissues. There was no significant changes in Fe concentration of macrophyte tissues. Applied stress factors caused significant decline in chlorophyll-a and chlorophyll-b contents at high concentrations. In carotenoid content, however, no considerable change occurred. Cd, NaCl and their combinations especially at high concentrations caused decrease in total soluble carbohydrate and glucose amounts. Determined increases in the amounts of proline and cysteine aminoacids indicate their roles in response to Cd and NaCl toxicities. The maximum increases in reduced ascorbate contents were determined as 72%, 82% and 92% at concentrations of 1 mg Cd L⁻¹, 40 mM NaCl and 0.1+40 mg L⁻¹ + mM combination, respectively. On the otherhand, observed increases in lipid peroxidation show that oxidative damage occurred in membranes resulting from Cd and NaCl stresses.

Key words: *Ceratophyllum demersum* L., cadmium stress, NaCl stress, interaction, physiological and morphological changes.

TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans ve doktora öğrenimim boyunca bana gösterdiği yakın ilgi ve desteğinden dolayı Sayın Hocam Doç. Dr. Saadet SAYGIDEĞER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım boyunca benden yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Ferit KARGIN'a ve Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK'e ayrıca teşekkür ederim.

Yine tez çalışmalarımda desteklerini gördüğüm Dr. Erol ATAY'a, Uzman Biyolog Gonca KESER'e, Arş. Gör. Ahmet DEMİRBAŞ'a, Uzman Biyolog Osman GÜLNAZ'a, Biyolog Uğur KARADUMAN'a, Teknisyen Ertuğrul ÇANAKÇI'ya ve Teknisyen Mustafa TOMAK'a da teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca hiçbir yardımdan kaçınmayan, iyi ve kötü günümde yanımda olan Uzman Biyolog Demet USTA'ya minnettarım.

Hayatım boyunca bana maddi ve manevi desteğini esirgemeyen başta babam Ahmet DOĞAN ve annem Selime DOĞAN olmak üzere tüm aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1. Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Etmenler	3
2.1.1. Doğal Etmenler.....	3
2.1.2. Tarımsal Etmenler.....	3
2.1.3. Endüstriyel Etmenler	3
2.1.4. Evsel Etmenler.....	3
2.2. Ağır Metal Alınım Biyolojisi	4
2.2.1. Kökle Alınım.....	4
2.2.2. Ağır Metallerin Bitkideki Taşınımı.....	4
2.2.3. Ağır Metal Dirençliliği.....	5
2.3. Kadmiyum.....	6
2.3.1. Bitkilerde Cd Toksisitesinin Etkileri.....	8
2.3.2. Hücresel Düzeyde Kadmiyum Stresine Cevap Mekanizmaları.....	9
2.3.2.1. İmmobilizasyon	9
2.3.2.2. Kabul Etmeme	9
2.3.2.3. Fitoşelatinler.....	10
2.3.2.4. Belli Bölgelerde Tutma	11
2.3.2.5. Metalotiyoneinler.....	12
2.3.2.6. Stres Proteinleri.....	13
2.3.2.7. Etilen Sentezi.....	14
2.4. Tuzluluk.....	14

2.4.1. Bitkilerde Tuz Toleransı.....	15
2.4.1.1. Tuz toleransının Mekanizması.....	15
2.4.1.2. İyon Düzenlenmesi ve Lokalizasyonu.....	15
2.4.1.3. Uyuşabilir Bileşiklerin Biyosentezi.....	16
2.4.1.4. Antioksidan Enzimlerin İndüksiyonu.....	17
2.5. Askorbik Asit.....	20
2.5.1. Askorbik Asidin Hücresel Lokalizasyonu.....	20
2.5.2. Askorbik Asidin Kimyası ve Biyokimyası.....	20
2.6. Lipid Peroksidasyonu.....	23
2.6.1. Metal Aracılıklı Peroksidasyon	26
2.7 Fenolik Bileşikler.....	27
2.7.1. Bitki Fenoliklerinin Biyosentezi	27
2.7.2. Fenoliklerin Fonksiyonları.....	28
2.8. Kadmiyum, Tuz ve Tuz-Metal etkileşiminin Bitkilere Etkileri ile İlgili Çalışmalar.....	29
2.8.1. Kadmiyumunla İlgili Çalışmalar.....	29
2.8.2. Tuz Stresiyle İlgili Çalışmalar	32
2.8.3. Ağır Metal – Tuz Etkileşimiyle İlgili Çalışmalar.....	35
3. MATERYAL VE METOD.....	38
3.1. Materyal.....	38
3.1.1. Bitki Materyali.....	38
3.1.2. Stres Uygulanma Çözeltileri.....	40
3.1.3. Besin Çözeltisi.....	40
3.2. Metod.....	40
3.2.1. Deney Ortamı ve Düzeneği.....	40
3.2.2. Fotosentetik Pigment Analizi.....	41
3.2.3. Serbest Prolin Tayini.....	41
3.2.4. Askorbik Asit Analizi.....	42
3.2.5. Protein Olmayan –SH Grupların Belirlenmesi.....	43
3.2.6. Lipid Peroksidasyonu Belirlenmesi.....	43
3.2.7. Protein Analizi.....	44

3.2.8. Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi.....	44
3.2.9. Toplam Karbohidrat Analizi.....	44
3.2.10. Glukoz Analizi.....	45
3.2.11. Sistein Analizi.....	45
3.2.12. Makrofit Dokularının Element Miktarlarının Belirlenmesi.....	45
3.2.12.1. Toplam Azot Tayini.....	45
3.2.12.2. Cd, Cu, Mn, Zn, Fe, Na ve K Miktarlarının Belirlenmesi.....	47
3.2.12.3. Fosfor Tayini.....	48
3.2.13. İstatistiksel Analizler.....	48
4. BULGULAR.....	50
4.1. Morfolojik Gözlemler.....	50
4.2. <i>C. demersum</i> Dokularındaki Element Derişimleri.....	51
4.2.1. Kadmiyum Derişimi.....	51
4.2.2. Sodyum Derişimi.....	52
4.2.3. Potasyum Derişimi.....	53
4.2.4. Fosfor Derişimi.....	54
4.2.5. Toplam Azot Derişimi.....	56
4.2.6. Mangan Derişimi.....	57
4.2.7. Çinko Derişimi.....	58
4.2.8. Demir Derişimi.....	59
4.2.9. Bakır Derişimi.....	60
4.3. <i>C. demersum</i> Dokularının Fotosentetik Pigment Miktarları.....	62
4.3.1. Klorofil-a Miktarları.....	62
4.3.2. Klorofil-b Miktarları.....	63
4.3.3. Karotenoid Miktarları.....	64
4.4. <i>C. demersum</i> Dokularının Karbohidrat Miktarları.....	65
4.4.1. Toplam Karbohidrat Miktarları.....	65
4.4.2. Glukoz Miktarları.....	67
4.5. <i>C. demersum</i> Dokularının Prolin ve Sistein Miktarları.....	68
4.5.1. Prolin Miktarları.....	68
4.5.2. Sistein Miktarları.....	69

4.6. <i>C. demersum</i> Dokularının Askorbik Asit Miktarları.....	70
4.6.1. Toplam Askorbik Asit Miktarları.....	70
4.6.2. İndirgenmiş Askorbik Asit Miktarları.....	72
4.7. <i>C. demersum</i> Dokularının –SH Grup Miktarları.....	73
4.8. <i>C. demersum</i> Dokularının Fenolik Bileşik Miktarları.....	74
4.9. Malondialdehit Miktarları.....	76
4.10. <i>C. demersum</i> Dokularının Protein Miktarları.....	77
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	81
KAYNAKLAR.....	108
ÖZGEÇMİŞ.....	137

ÇİZELGELER DİZİNİ**SAYFA**

Çizelge 2.1.	Cd'nin antropojenik yayılımı.....	7
Çizelge 2.2.	Tuz stresine cevapta biriktirilen ürünler ve bunların toleranstaki fonksiyonları.....	19
Çizelge 3.1.	<i>C. demersum</i> 'un sistematigi.....	39
Çizelge 3.2.	<i>C. demersum</i> 'a uygulanan Cd, NaCl ve bunların kombinasyonları	40
Çizelge 4.1.	Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> ' a ait morfolojik gözlemler.....	51
Çizelge 4.2.	<i>C. demersum</i> 'un analiz edilen parametreleri ile dokularının Cd ve Na derişimleri arasındaki ilişki.....	79

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. Kadmiyumun bitki içindeki olası taşınım yolları ve lokalizasyonu.....	6
Şekil 2.2. Fitoşelatinin moleküler yapısı.....	10
Şekil 2.3. Cd'nin şelatlanması ve vakuolde kompartmentalizasyonunun mekanizmaları.....	12
Şekil 2.4. Bitkilerde askorbik asit sentezinin olası yolları.....	21
Şekil 2.5. Hücre duvarı ve stoplazmadaki askorbat sistemi.....	22
Şekil 2.6. Lipid peroksidasyonu kimyası.....	25
Şekil 2.7. Bitki fenoliklerinin biyosentez yolu.....	28
Şekil 3.1. <i>C. demersum</i> 'un morfolojik kısımları.....	39
Şekil 4.1. Cd ve Cd+NaCl etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki Cd derişimleri ve içerikleri.....	52
Şekil 4.2. NaCl ve Cd+NaCl etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki Na derişimleri.....	53
Şekil 4.3. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki K derişimleri.....	54
Şekil 4.4. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki P derişimleri.....	55
Şekil 4.5. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> dokularının toplam N derişimleri.....	57
Şekil 4.6. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki Mn derişimleri.....	58
Şekil 4.7. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki Zn derişimleri.....	59
Şekil 4.8. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki Fe derişimleri.....	60
Şekil 4.9. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki Cu derişimleri.....	61

Şekil 4.10. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> dokularının klorofil-a miktarları.....	63
Şekil 4.11. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un klorofil-b miktarları.....	64
Şekil 4.12. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki karotenoid miktarları.....	65
Şekil 4.13. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki toplam karbohidrat miktarları	66
Şekil 4.14. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un dokularındaki glukoz miktarları.....	68
Şekil 4.15. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un prolin miktarları.....	69
Şekil 4.16. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un sistein miktarları.....	70
Şekil 4.17. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un toplam askorbat miktarları.....	71
Şekil 4.18. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un indirgenmiş askorbat miktarları.....	73
Şekil 4.19. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un SH grup miktarları.....	74
Şekil 4.20. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un fenolik bileşik miktarları.....	75
Şekil 4.21. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un malondialdehit (MDA) miktarları.....	77
Şekil 4.22. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan <i>C. demersum</i> 'un protein miktarları.....	78

SİMGELER VE KISALTMALAR

AP	: Askorbat peroksidaz
BHT	: Butillenmiş hidroksitoluen
Cys	: Sistein
DHA	: Dehidroaskorbat
DTNB	: Dinitroditiyobenzoik asit
DTT	: Ditiyotreitöl
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
EPA	: Environmental Protection Agency
FŞ	: Fitoşelatin
Glu	: Glutamik asit
Gly	: Glisin
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon-S-transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
KAT	: Katalaz
L [•]	: Lipid radikali
LOO [•]	: Lipid proksil
LOOH	: Lipid hidroperoksit
MDA	: Malondialdehit
MDAsk	: Monodehidroaskorbat
MT	: Metalotiyonein
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NEM	: N-Etilmalaimid
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit radikal
[•] OH	: Hidroksil radikal
ROT	: Reaktif oksijen türleri
Ser	: Serin
SOD	: Süperoksit dismutaz

TBA : Tiyobarbiturik asit

TCA : Trikloroasetik asit

1. GİRİŞ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde bazı elementlerin üretim ve tüketiminin sürekli artış göstermesi, bunların çevreye yayılma ve bulaşma olasılığını artırmaktadır. Bir element gerek maden cevheri halindeyken gerekse işlenirken doğaya karışabilmektedir. Ayrıca tarımda yüksek üretim için gübre kullanımı da bu olasılığı artırmaktadır (Özbek ve ark., 1995).

Sularda bulunan metallerin kaynakları doğal yollar ve insan faaliyetleridir. Akarsu yataklarında toprağın tipine bağlı olarak zararsız halde bulunabilirler. Bazı metallerin sucul hayat ve insan sağlığına eser miktarda da olsa katkısı vardır. Sadece birkaç metal sucul sistemlerde aşırı miktarlarda bulunabilmekte ve toksik seviyeleri aşabilmektedir. EPA'nın 1993 yılı öncelikli kirleticiler listesinde 129 kirletici vardır. Bunlardan 13 tanesi metal, diğerleri organik bileşikler, pestisitler, poliklorobifeniller ve birkaç metal olmayan inorganik bileşiklerdir. Bu metaller; Kadmiyum, Kurşun, Antimon, Arsenik, Berilyum, Krom, Bakır, Civa, Nikel, Selenyum, Gümüş, Talyum ve Çinkodur. Bu metaller dünyanın birçok yerinde çevre koruma örgütleri tarafından öncelikli kirleticiler listesine alınmışlardır (Novotny, 1995).

Bitkiler bulundukları ortamlardan bazı elementleri bünyelerinde biriktirme yeteneğine sahiptirler. Bazı ağır metaller bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için gereklidir. Bunlar; Mn, Zn, Cu, Mg, Mo ve Ni' dir. Bazı bitkiler ise biyolojik işlevi bilinmeyen ağır metalleri de biriktirmektedirler. Bunlar da; Cd, Cr, Pb, Co, Ag, Se ve Hg' dir (Raskin ve ark., 1994). Farklı bitki türleri bu metalleri birlikte ve ayrı olarak yüksek derişimlerde biriktirme yeteneğine sahiptirler. Ayrıca bazı bitki türlerinin yüksek derişimdeki metal düzeylerine tolerans yetenekleri gelişmiştir (Baker ve Brooks, 1989).

Su bitkileri ve alglerin, zehirli elementleri ve metalleri sudan alarak biriktirdikleri bilinmektedir (Wang ve ark., 1998). Bazı sucul ve yarı sucul damarlı bitkiler *Eichornia crassipes* (Dierberg ve ark., 1987), *Hydrocotyle umbellata* (Jain ve ark., 1989), *Lemna minor* (Mo ve ark., 1989), *Spirogyra fluviatilis* (Saygideger, 1998), *Veronica anagallis-aquatica* ve *Ranunculus aquatilis* (Saygideger, 2000) Pb,

Cu, Fe ve Hg gibi ağır metalleri etraflarındaki metal bulaşmış çözeltilerden yapılarına almışlardır.

Su kaynakları ve toprakların ağır metallerle kirlenmesinin yanında her iki yaşam ortamı da tuzlu zirai atıklar ve maden ocağı atıkları gibi etmenlerle kirlenmektedir. Tatlı su kaynaklarından olan nehirlerde tuzluluk derişimlerinin artmasıyla birlikte insanların çeşitli amaçlar için kullanımını zorlaştırmakta ve bu alanlarda yaşayan canlıları olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Bitkiler doğada birçok stresin etkisine (biyotik ve/veya abiyotik) maruz kalabilirler. İki abiyotik stresin (ağır metal-tuz) su bitkilerindeki etkilerini açıklayan araştırma sayısı sınırlıdır.

Bu araştırmada, Adana ilinin sulak alanlarda geniş yayılım gösteren *C. demersum*'da:

- 1- Kadmiyum stresinden kaynaklanan bazı fizyolojik ve morfolojik değişimler,
- 2- NaCl tuzluluğundan kaynaklanan stresin bazı fizyolojik ve morfolojik parametrelere etkileri,
- 3- Cd+NaCl etkileşiminin bazı fizyolojik ve morfolojik proseslere etkileri belirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Etmenler

2.1.1. Doğal Etmenler

Sel, rüzgar ve yağmur gibi doğal olaylar sonucu ağır metaller kayaçlardan aşınarak derelere, nehirlerle, buralardan da deniz ve göl gibi su kaynaklarına taşınmaktadır. Toprak ve doğal su kaynaklarının toksik metallerle kirlenmesi sonucunda bu bölgelerde yaşayan organizma grupları önemli zararlar görmektedirler. Ağır metaller toprak, su ve havada organik ve inorganik materyallerle kimyasal bağlar kurarak, ligant denilen kompleks yapıları oluşturmaktadır (Salamons ve Förstner, 1995).

2.1.2. Tarımsal Etmenler

Ağır metaller tarımsal çalışmalarda özellikle yabancı otlar ve tarım zararlılarına karşı geliştirilen yeni tarım ilaçları yapımında kullanılmaktadır. Örneğin bakır, mangan ve çinko fungusit, kurşun ve arsenik ise meyvelerdeki böcek zararlılarına karşı geliştirilen ilaçlarda (insektisit) kullanılmaktadır. Bazı önemli ağır metaller de bitkiler için besin maddesi olarak tarımsal gübrelerin yapısında bulunmaktadır (Alloway ve Ayers, 1993). Tarla bitkilerine uygulanan fosfat gübrelerinin de yüksek derişimlerde Cd içerdiği bulunmuştur (He ve Singh, 1994).

2.1.3. Endüstriyel Etmenler

Ağır metallerin en fazla kullanıldığı alan metal endüstrisi olup en çok kirletenler de bunlardır. Örneğin çinko, pirinç elde edilmesinde, demiri galvanizlemede, pil sanayiinde kaplanma aşamasında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Diels ve Mergeay, 1990).

2.1.4. Evsel Etmenler

Doğal nedenlerden ileri gelen kirliliğin yanı sıra ağır metal kirlenmelerinin asıl nedenini insan kaynakları oluşturmaktadır. Evsel atık sularda ağır metal

kirlenmesine neden olanlar arasında özellikle temizlik maddeleri ön plandadır (Alloway ve Ayers, 1993).

2.2. Ağır Metal Alınım Biyolojisi

Bitkilerin ağır metal alınım biyolojisi üç ana bölüme ayrılabilir.

2.2.1. Kökle Alınım

Bitkilerin topraktaki metalleri alabilmeleri için onları hareketli forma geçirmeleri gerekir. Bitkiler toprağa bağlı metallerin hareketini çok farklı yollarla yapabilirler. Örneğin metal şelatlayıcı moleküller topraktaki metali çözmek ve şelat yapmak için rizosfere salgılanabilir (Şekil 2.1. A). Örnek olarak mugineik asit ve avenik asit *Gramineae* türleri için şelatlayıcı moleküllerdir (Kinnerseely, 1993). Bu şelatlar Fe ve Zn eksikliğine cevap olarak salınırlar ve Cu, Zn ve Mn'i topraktan hareket ettirebilirler (Romheld, 1991). (1) Metal şelatlayıcı moleküller metalotioneinler (Rauser, 1990) ve fitoşelatinlerle ilişkili olarak bitkilerde sideroforez görevi yapabilirler. (2) Plazma zarına bağlı metal redüktazlarla metal iyonlarını indirgeyebilirler. (3) Bitki kökleri ağır metalleri köklerden proton çıkışı yoluyla toprağı asitleştirerek çözebilirler. Bu üç yol kök mantarları veya kökte kolonilemiş bakteriler tarafından da yapılabilir. (Clarkson ve Luttge, 1989).

Çözünmüş metal iyonları hücre dışı (apoplastik) ya da hücre içi (simplastik) yollarla kök içine girebilirler. (Şekil 2.1. B) Metal iyonlarının çoğu özel veya genel metal iyon taşıyıcılarla ya da kanallarla serbest enerji yoluyla bitki hücrelerine girerler. Bazı ağır metaller, bitkiler için besin elementi görevi yapan diğer ağır metaller tarafından kullanılan membranlarda lokalize olmuş taşıyıcılardan kolaylıkla geçebilirler (Clarkson ve Luttge, 1989).

2.2.2. Ağır Metallerin Bitkideki Taşınımı

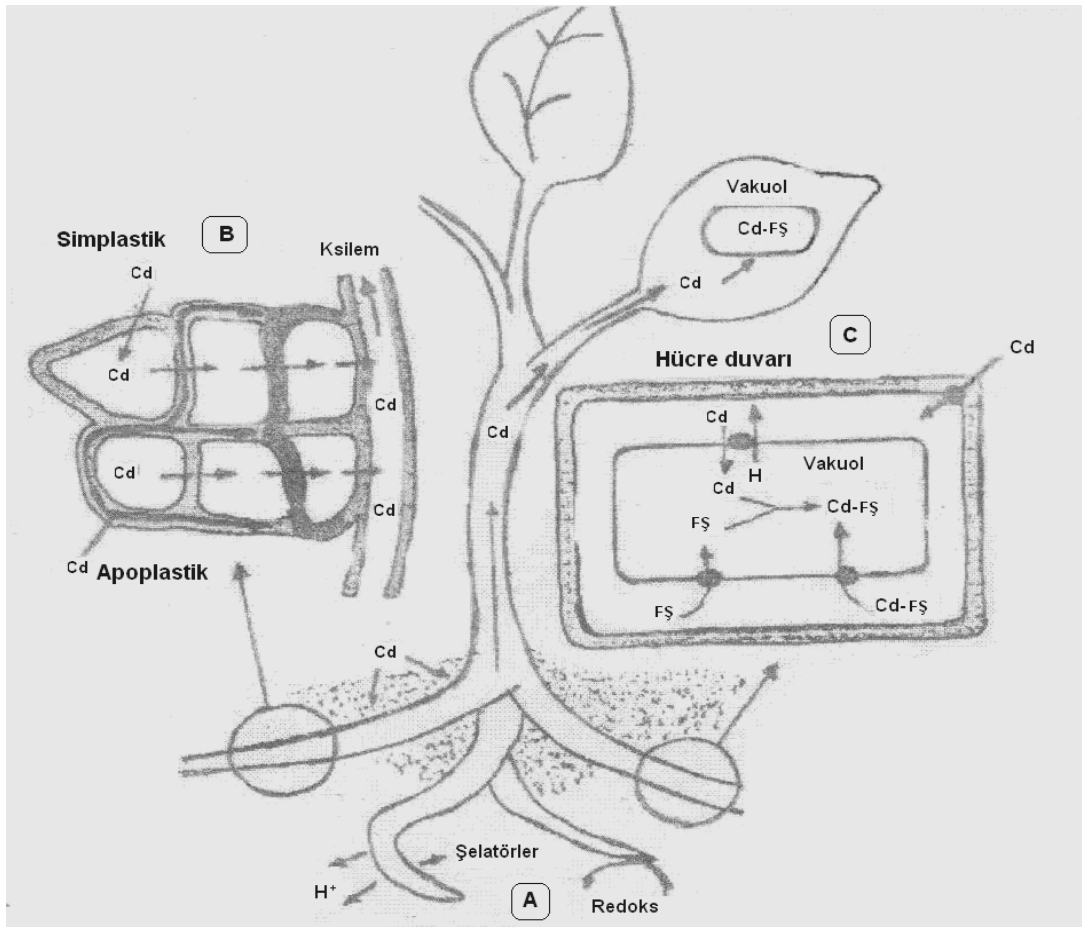
Metal iyonları kök içine girdiklerinde ya depolanırlar ya da sürgünlere gönderilirler. Filizlere metal taşınımı muhtemelen ksilemlerle olur. Ancak metaller floem yoluyla da filizlere dağıtılabilirler (Stephan ve Scholz, 1993). Metal iyonları ksilem borularına girmek için öncelikle kaspari şeridini geçmek zorundadırlar.

Hücre dışı taşınma bloke edildiğinden metal iyonları bu suya geçirimsiz hücre duvarı şeridini geçmek için intraselüler olarak hareket etmek zorundadırlar. Ksilem hücre duvarı, metal protonların hareketini önemli ölçüde yavaşlatması beklenen yüksek bir proton değişim kapasitesine sahiptirler. Bu nedenle Cd-sitrat gibi metal-şelat kompleksleri transpirasyon akımında metal hareketlerini kolaylaştırırlar. X-ışını spektroskopisi kullanılarak 7 gün süreyle Cd etkisinde *Brassica juncea*'nın ksilem özsuyunda metalin oksijen atomları tarafından şelat hale gelmesi, Cd translokasyonuna organik asitlerin karıştığını destekler. Ksilem özsuyunda fitoşelatinlerin metal bağlanmasıyla da ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Przemeck ve Haase, 1991). Nikotinamin, Fe'nin floemde transportuyla ilgilidir. Zn, Co, Ni ve Cu'ya bağlanabilir ve floemde genel bir ağır metal taşıyıcısı olarak görev yapabilir (Stephan ve Scholz, 1993). Buna ek olarak metaller floemde organik asitler, fitoşelatinler ve metalotioneinlerle şelat oluşturarak taşınabilirler (Salt ve ark., 1995).

2.2.3. Ağır Metal Dirençliliği

Bir bitki ağır metallerin toksik etkilerine karşı koymak için ya onların hücrelere alınmasını sınırlayarak hücre içine girdiklerinde de detoksifiye etmek (Cumming ve Taylor, 1990) ya da ağır metal metabolizmasını geliştirmek zorundadır. Hücresel alınımı azaltarak ağır metal toksisitesinin önlenmesi ile ilgili kanıtlar çok sınırlıdır. Ancak ağır metal alınımını önleme kök ucu meristemi gibi hassas dokular için uygun bir strateji olabilir. Ağır metallerle kirlenmiş topraklardaki bazı endemik bitki ekotiplerinin hücre duvarları asit fosfatazlar gibi ağır metale dirençli enzim içerdiği görülmüştür (Thurman, 1981). Ağır metaller hücre içinde biriktirildiklerinde detoksifiye edilmeleri gerekir. Bu da metale bağlı olan şelatlanma, sınırlama ve çöktürme şeklinde olabilir. Çinko organik asitlerle şelatlanıp vakuolde biriktirilebilir (Brooks ve ark., 1981). Çinko etkisinde bırakılmış tütün ve arpanın vakuolleri izole edildiğinde yüksek düzeyde Zn içerdikleri görülmüştür (Brune ve ark., 1994). Kadmiyumun da tiyolce zengin peptitlerle ilişkili olan fitoşelatinlerin bulunduğu vakuol içinde biriktirildiği bilinmektedir (Van Steveninck ve ark., 1992). (Şekil 2.1.C.) Cd ve Cd-fitoşelat kompleksinin taşınmasındaki mekanizmalar

tonoplasttan geçiş (Salt ve Wagner, 1993) ve Cd'nin fitoşelatinlerle ilişkili olarak vakuol içinde biriktirilmesiyle gerçekleşmektedir. Bakır etkisinde bırakılan bitkilerde de fitoşelatin sentezlendiği bulunmuştur (Salt ve ark., 1989). Kurşun etkisinde *Brassica juncea*'nın köklerinde fitoşelatinlerin üretildiğini ve fitoşelatinlerin Pb detoksifikasyonu ile ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur (Salt ve ark., 1995).



Şekil 2.1. Kadmiyumun bitki içindeki olası taşınım yolları ve lokalizasyonu (Salt ve ark., 1995).

2.3. Kadmiyum

Cd, Cr, Hg ve Sn gibi yoğunluğu 5.0 g cm^{-3} 'ten büyük metaller ağır metaller olarak bilinirler. Bunlar özellikle yoğun antropojenik etmenlerin olduğu alanlarda önemli çevre kirleticileridir. Toprak, su ve havada eser miktarlarda bile bütün canlılar için tehlikeli olabilirler. Cd (yoğunluğu 8.6 g cm^{-3}) ısıtma sistemleri, trafik, güç istasyonları, metal işleyen endüstriler, çimento fabrikaları gibi çeşitli

kaynaklardan çevreye salınırlar (Çizelge 2.1). İnsan faaliyetlerinin az olduğu alanlardaki Cd'nin kaynakları kayaların mineralizasyonudur (di Toppi ve Gabbrielli, 1999). Wagner (1993)'in ölçümlerine göre kirlenmemiş toprakların Cd derişimi 0.04 ile 0.32 μM arasında değişmektedir. 0.32 ile 1.0 μM Cd derişimine sahip topraklar orta derecede kirlenmiş sayılmaktadır. Cd oldukça hareketli bir element olduğundan topraktaki tüm organizmalar için tehlike arz eder. Bazı atık sularındaki Cd derişimi 10 mg L^{-1} 'den yüksek olabilir. Kirlenmemiş sularındaki Cd konsantrasyonunun ise genellikle 0.001 mg L^{-1} 'den düşük olduğu belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. Kadmiyumun insan faaliyetleri tarafından yayılımı (Mhatre ve Pankhurst, 1997).

	$10^3 \text{ ton yıl}^{-1}$
Atmosferdeki yayılımı	
Enerji üretimi	0.79
Maden arıtımı ve rafineriler	5.43
Fabrika işlemleri	0.60
Atık yakımı	0.75
Topraklardaki yayılımı	
Tarımsal ve insan atıkları	2.20
Tomrukçuluk ve ağaç atıkları	1.10
Şehir çöpleri	4.20
Lağımalar ve organik atıklar	0.18
Metal fabrikalarından kaynaklanan katı atıklar	0.04
Kömür külleri	7.20
Gübreler ve turba	0.20
Atmosferik çöküntüler	5.30

Yüksek yapılı bitkiler Cd'yi ortamdaki metalin derişimine bağlı olarak alırlar. Metalin bitkiler tarafından alınımı ortamdaki diğer elementlerin derişimine, pH'ya, redoks potansiyeline, sıcaklığa ve ortamdaki organik maddelere bağlıdır. Genelde Cd iyonlarının alınımında K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn ve Ni gibi besin elementlerinin kullandığı trans-membran taşıyıcıları ile rekabet eder (Clarkson ve Lüttge, 1989; Rivetta ve ark., 1997).

2.3.1. Bitkilerde Cd Toksisitesinin Etkileri

Kadmiyum toksisitesinin etkileri kolaylıkla tanımlanabilir. Bitkilerdeki Cd toksisitesinin en belirgin özellikleri büyümenin yavaşlaması ve klorozdur. Kloroz toksik metallerin etkileşimi ve Fe eksikliğinden dolayı ortaya çıkar. Aşırı Cd birikiminden kaynaklanan kloroz yapraklardaki Fe ile doğrudan ya da dolaylı etkileşmeden dolayı ortaya çıkar (Das ve ark., 1997). Haghiri (1973) büyüme ortamındaki yüksek Cd miktarının bitkilerde Fe alınımını baskıladığını rapor etmiştir. Root ve ark. (1975) yaptıkları araştırmada Cd tarafından indüklenen klorozun Fe:Zn oranındaki değişimden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Diğer araştırmacılar ise klorozun indüklenmiş fosfor eksikliği ya da mangan taşınmasında meydana gelen problemlerden kaynaklandığını rapor etmişlerdir (Goldbold ve Hutterman, 1985). Cd toksisitesinin fizyolojik etkileriyle ilgili araştırmaların çoğu tek bir bitki türü veya varyeteleri arasında yapılmıştır. Cd genelde bitkiler tarafından bazı elementlerin (Ca, Mg, P ve K) alınımı, taşınımı ve kullanımı ile etkileşir. Önceden rapor edildiği gibi birçok çevresel faktör biyolojik sistemlerde metaller arasındaki etkileşimi etkilemektedir (Sharma ve ark., 1985). Kadmiyumun su mercimeği (*Lemna*) üzerindeki etkisinin 20-30 °C'ler arasında sıcaklıktan bağımsız olduğu bulunmuştur (Nasu ve Kugimoto, 1981). Diğer birçok türde ise muhtemelen toksisite sıcaklık ile azalır. pH artışları genellikle türlerin geniş bir grubunda ölüme neden olur (Das ve ark., 1997).

Kadmiyum ilk olarak bitki kökleriyle alınır ve toksik etkileri ilk bu bölgede olur. Dokulara geçen Cd RNA sentezini değiştirebilir ve ribonükleaz aktivitesini inhibe edebilir (Shah ve Dubey, 1995). Cd ayrıca sürgünlerde nitrat redüktaz aktivitesinin inhibisyonuna neden olarak sürgünlere azot taşınmasının azalmasına neden olabilir (Hernandez ve ark., 1996). Benzer biçimde Fe(III) redüktazın inhibisyonu sonucu Fe(II) eksikliğini ortaya çıkar ve sonuç olarak bu da fotosentezi etkiler (Alcantara ve ark., 1994). Genel anlamda Cd stresi bitkilerde yaprak kıvrılmalarına ve kloroza neden olur. Kök ve sürgünlerde büyümeyi engeller.

Kadmiyum toksisitesi bitki su kütlesinin bozulmasına yol açar (Costa ve Morel, 1994). Genelde fotosistem I ve fotosistem II'deki fotosentetik aparatlara zarar verir (Siedlecka ve Krupa, 1996). *Brassica napus* bitkilerinde Cd toplam klorofil ve

karoten miktarını azaltmıştır (Larsson ve ark., 1998). Bundan başka hücresel düzeyde artan Cd konsantrasyonu sonucu mitokondriyal iç membran zarlarının H^+ geçirgenliği artarak oksidatif fosforilasyon inhibe olabilir (Kessler ve Brand, 1995).

2.3.2. Hücresel Düzeyde Kadmiyum Stresine Cevap Mekanizmaları

Bitki hücreleri Cd stresine cevapta (1) immobilizasyon (durağanlaştırma), (2) kabul etmeme, (3) fitoşelatinlerin sentezi, (4) belli bölgelerde tutma, (5) metalotiyoneinlerin sentezi, (6) stres proteinlerin sentezi ve (7) etilenin üretimi gibi birçok savunma sistemine başvurabilir.

2.3.2.1. İmmobilizasyon

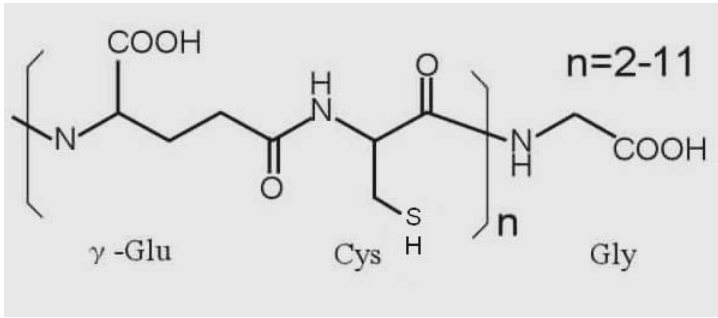
Kök düzeyinde Cd stresine karşı başlıca işleyen ilk bariyer hücre duvarı yoluyla kadmiyumun immobilizasyonu (Nishizono ve ark., 1989) ve ekstraselüler (hücre dışı) karbohidratlar (Verkleij ve Schat, 1990) olabilir. Kadmiyum iyonları çalı fasulyesinin kök ve yapraklarında çoğunlukla pektik yapılar ve hücre duvarının histidil grupları tarafından bağlanmıştır (Leita ve ark., 1991). Bu mekanizma ortamdaki Cd derişimi ve bitki türüne göre değişiklik gösterebilir. Domateste (Inouhe ve ark.,1991) ve *Silene cucubalus*'da hücre duvarlarında (Verkleij ve Schat, 1990) Cd birikimi rapor edilmiştir. Fakat tolerant ve tolerant olmayan bitki türleri arasında hücre duvarına bağlanma ile ilgili bir farklılık gözlenmemiştir (Verkleij ve ark., 1990).

2.3.2.2. Kabul Etmeme

Plazma membranın etkisiyle Cd iyonlarının sitoplazmaya girişinin engellenmesi teorik olarak en etkili savunma mekanizması olarak belirtilmiştir. Turp tohumlarının çimlenmesinin erken dönemlerinde Cd'nin plazma zarındaki Ca kanalları boyunca hücre içine girdiği rapor edilmiştir (Rivetta ve ark., 1997). *Lactuca sativa* ve *Lupinus albus*'da kök salgılarında asparajin düzeylerinde artma olmuştur (Costa ve ark., 1997).

2.3.2.3. Fitoşelatinler

Genelde Cd kükürt metabolizmasının metabolik proseslerine karşı yüksek affinite gösterir. İlk etkilerini ATP-sülfürilaz (De Knecht ve ark, 1995) ve adenzin 5-fosfosülfat sülfotransferaz üzerine gösterir (Nussbaum ve ark, 1988). Kadmiyum hücre sitoplazmasına girdiğinde kükürt metabolizmasıyla ilişkili bir mekanizma olan fitoşelatin sentezi önemli oranda artmaktadır. Fitoşelatinlerin izole edilmesi ve saflaştırılması ilk kez Grill ve ark. (1985) tarafından yapılmıştır. Ağır metaller arasında özellikle Cd fitoşelatin (γ -Glu-Cys) $_n$ -Gly ($n=2-11$) sentezini aktive edebilirler (Şekil 2.2). Fitoşelatinler sistein yapısındaki tiyol gruplardan dolayı bu metali şelatlarlar. Sonuç olarak Cd'nin sitoplazmada serbest olarak dolaşımını engelleyen kompleksler (moleküler ağırlığı 2500 ya da 3600 Dalton) oluştururlar (Grill ve ark., 1985).



Şekil 2.2. Fitoşelatinin moleküler yapısı.

Fitoşelatinler spesifik bir -glutamil sistein dipeptidil transpeptidaz olan fitoşelatin sentez yolu ile glutatyondan sentezlenirler (Grill ve ark. 1989). Kadmiyum uygulamasının birkaç dakika sonrasında inaktif olan fitoşelatin sintaz aktive edilerek fitoşelatin sentezlenir ve ortamdaki serbest Cd şelatlanmaya başlar. Serbest Cd oranı azaldığında da bu enzim inaktive edilir (Loeffler ve ark., 1989). Fitoşelatin üretim kapasitesi yüksek olan bitkilerde Cd'nin şelatlanması detoksifikasyonun önemli bir mekanizmasıdır (Gekeler ve ark., 1989). Kadmiyum toksisitesinde biyo-indikatör olarak fitoşelatinlerin kullanılması Keltjens ve Van Beusichem (1998) tarafından önerilmiştir. İlginç olarak dikkate değer biçimde fitoşelatinlere benzeyen fakat aynı olmayan bazı bileşikler vardır. Bunlara izo-fitoşelatinler denilmektedir (Zenk,1996). Bunlar:

A) Fabaceae familyasına ait türler homofitoşelatinler üretirler. Homofitoşelatinleri terminal aminoasit olarak Gly yerine β -Alanin varlığı ile karakterize edilirler (Gril ve ark.1986).

B) Monokotiledonlar arasında bazı Poaceae'lerde fitoşelatinlerin yapısındaki Gly yerine Ser taşıyan hidroksimetil-fitoşelatinler bulunmuştur (Klapheck ve ark,1994).

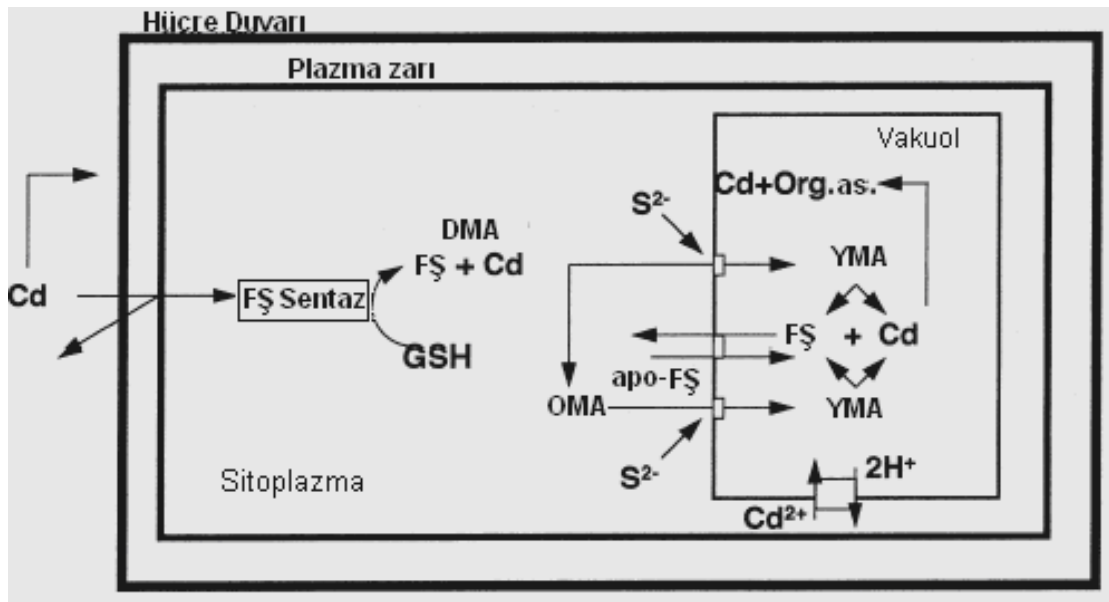
C) *Zea mays*'da Gly aminoasidi yerine Glu aminoasidi taşıyan izo-fitoşelatinler vardır (Meuwly ve ark.1993).

Fitoşelatin ve izo-fitoşelatin üreten bitkilerde Gly'nin eksik olduğu fitoşelatinleri ifade eden desGly-fitoşelatinler de çeşitli oranlarda bulunabilirler (Bernhard ve Kagi, 1987). DesGly fitoşelatinler, fitoşelatinlerin Gly'i ayırma yeteneğindeki bir karboksipeptidazın degradasyonu ile oluşabilirler (Kubota ve ark 1995).

2.3.2.4. Belli Bölgelerde Tutma

Kadmiyum detoksifikasyonundaki önemli proseslerden biri de metalin vakuolde tutularak sitoplazmada serbest olarak dolaşımının engellenmesidir (Şekil 2.3). Cd uygulaması fitoşelatin sentaz enzimini aktive etmekte ve düşük moleküler ağırlıklı fitoşelatin kompleksi Cd'yi bağlamaktadır (Vögelli ve Wagner, 1996). *Rauvolfia serpentina*'nın hücre süspansiyon kültürlerinde orta moleküler ağırlıklı bir kompleksin yüksek polimerizasyon seviyesiyle Cd'yi fitoşelatinlere bağladığı rapor edilmiştir (Kneer ve Zenk, 1992). Bu kompleksler muhtemelen tonoplast düzeyinde asit-labil kükürt (S^{2-}) kazanır ve yüksek moleküler ağırlıklı kompleks oluşur (Speiser ve ark. 1992). Özellikle kükürt grupları tarafından stabilize edilmiş yüksek moleküler ağırlıklı kompleksler kadmiyum detoksifikasyonunda kararlı bir yapı oluştururlar. *Schizosaccharomyces pombe*'de HTM1 proteini için kodlanan *htm1* geni Cd-fitoşelatinleri etkili bir şekilde vakuol içine taşıma yeteneğinde olduğu bulunmuştur (Ortiz ve ark. 1995). Bundan başka MgATP varlığında Cd-fitoşelatin kompleksler spesifik taşıyıcılar yoluyla konsantrasyon gradientine karşı tonoplasta taşınırlar. Bunların tonoplast vezikülleri içinde dış ortama göre 38 kat daha fazla akümüle olduğu bulunmuştur (Salt ve Rauser, 1995). Serbest Cd iyonları $Cd^{+2}/2H^{+}$ antiport

yoluyla da vakuol içine alınırlar (Salt ve Wagner, 1993). Vakuol pH'sı asidik olduğu için yüksek moleküler ağırlıklı kompleksler parçalanır ve Cd vakuoler organik asitlerle (oksalat, malat ve sitrat) (Krotz ve ark. 1989) ve aminoasitlerle kompleksleşebilir. Apo-fitoşelatinler vakuoler hidrolazlar tarafından parçalanabilir ve/veya onlar görevlerini yerine getirdikleri sitoplazmaya tekrar dönebildikleri belirtilmiştir (di Toppi ve Gabbrielli, 1999).



Şekil 2.3. Kadmiyumun şelatlanması ve vakuolde kompartmentalizasyonunun mekanizmaları (di Toppi ve Gabbrielli, 1999). Şekilde FŞ fitoşelatini, GSH redükte glutatyonu, DMA düşük moleküler ağırlıklı kompleksi, OMA orta moleküler ağırlıklı kompleksi, YMA yüksek moleküler ağırlıklı kompleksi ve Org. as. Organik asitleri ifade eder).

2.3.2.5. Metalotiyoneinler

Hayvanlar, mavi-yeşil algler ve mantarlar da Cd ve diğer ağır metalleri sisteyince zengin ve aromatik aminoasit içermeyen olan metalotiyoneinler yoluyla kompleksleştirilir ve detoksifiye edilebilirler (Kagi, 1991).

Arabidopsis thaliana'da bakır tarafından indüklenmiş MT1 (4500 Dalton) ve MT2 (8000 Dalton) olarak adlandırılmış iki farklı metalotiyonein türevi poliklonal antibadi kullanılarak izole edilmiştir (Murphy ve ark. 1997). Bundan başka buğday tohumlarında E_c metalotiyoneininin tohum çimlenmesinin ilk evrelerinde Zn

metabolizmasını düzenlediği bulunmuştur (Lane ve ark. 1987). Bitki metalotiyoneinlerinde sistein rezüdüleri Cys-x-Cys, Cys-x-x-Cys (yapıdaki x, sisteinden farklı bir aminoasittir) ya da Cys-Cys şeklinde bulunur. Ancak mevcut çalışmalar ışığında yüksek bitkilerde Cd tarafından indüklenmiş metalotiyoneinlerin kesin kanıtlarına ulaşamamıştır. Bu nedenle metalotiyoneinlerin Cd detoksifikasyonundaki rolleri fitoşelatinler ve stres proteinlerine kıyasla ikincildir (di Toppi ve Gabbrielli, 1999).

2.3.2.6. Stres Proteinleri

Yüksek sıcaklık, ağır metal, tuzluluk ve kuraklık gibi stres koşulları altında bitki hücreleri farklı stres proteinleri sentezledikleri bilinmektedir (di Toppi ve Gabbrielli, 1999). Bitkilerde sıcak şok proteinlerinin (SSP) birçok türü bulunmuştur. Sabehat ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada domates bitkilerinde soğuk stresi nedeniyle meydana gelen yaralanmalara karşı sıcak şok proteinlerin rolü olduğunu bulmuşlardır.

Kadmiyum etkisindeki hücre DNA'sının stres proteinleri sentezini düzenleyen spesifik mRNA transkriptleri ürettiği kanıtlanmıştır (Schöffl ve Key, 1982). Cd, soya fasulyesinde bir *Gmhsp26A* geni tarafından kopyalanan pre-mRNA'dan bir intron ayrılmasını inhibe ederek stres protein sentezini düzenler (Czarnecka ve ark., 1984). 1 mM Cd etkisinde bırakılan *L. peruvianum* hücre kültürlerinde SSP70'in önemli miktarları plazma zarına, mitokondri zarlarına ve endoplazmik retikulumla bağladığı bulunmuştur (Neumann ve ark., 1994). Bu durum Cd ve Cd ile denature olmuş proteinler arasında kompleks oluşumu ile ilgilidir.

Cd uygulanması birçok türde moleküler ağırlıkları 10.000 ile 70.000 Dalton arasında değişen çok sayıda stres proteinlerin sentezini indüklediği bulunmuştur. Kadmiyum etkisinde bırakılmış *Phasaolus vulgaris* köklerinde moleküler ağırlıkları 42 000 (Leita ve ark., 1991), 52.000 ve 19.000 Dalton olan proteinler indüklenmiştir (Marchetti ve Leita, 1995). *Datura innoxia*'nın hücre süspansiyon kültürlerinde Cd'nin 70.000, 50.000-60.000, 22.000-24.000 ve 20.000 Dalton ağırlıklı proteinleri indüklediği bulunmuştur (Urwin ve ark., 1996).

2.3.2.7. Etilen Sentezi

Cd etkisinde bırakılan *P. vulgaris* bitkilerinde çözülebilir ve çözülemez fenoliklerin akümüle olduğu belirlenmiştir. Ayrıca etilen üretimi guajakol peroksidaz aktivitesini de artırmıştır (Fuhrer, 1982). Aynı bitki türü ile yapılan diğer bir araştırmada Cd etkisindeki bitkinin köklerinde etilen üretimi sürgünlerden daha fazla olduğu bulunmuştur. Cd stresi sırasında etilen üretiminin stimülasyonu 5-10 saat metal muamelesinde maksimum seviyeye ulaşmış, daha sonra yavaş yavaş düşerek bir gün içinde kontrol seviyesine ulaşmıştır. Bu araştırmacılara göre etilen üretimindeki bu azalış, Cd'nin hücre içinde bağlanmasından kaynaklanmaktadır (Rodecap ve ark., 1981). Şimdiye kadar yapılan çalışmaların azlığı nedeniyle Cd stresi ve etilen biyosentezi arasındaki ilişkinin (moleküler/hücresel düzeyde) tam olarak açıklanmasının mümkün olmadığı belirtilmiştir (di Toppi ve Gabbrielli, 1999).

2.4. Tuzluluk

Tuzluluk bitki büyüme ve gelişimini sınırlayan en önemli çevresel etmenlerden biridir. Yüksek tuzluluğun bitkiler üzerindeki zararlı etkileri bitkinin ölümü ve/veya üretimin düşmesi şeklinde gözlenebilir. Birçok bitki türü ya hücrelerine tuzu almayarak ya da tuzu hücre içinde tolere edecek mekanizmalar geliştirmişlerdir. Tuz stresi etkisinde fotosentez, protein sentezi, enerji ve lipid metabolizması etkilenir. Esas anlamda tuz stresine ilk cevap yaprak yüzey alanının büyümesinde azalma şeklinde kendini gösterir. Hücre büyümesi için gerekli olan karbohidratlar fotosentez esnasında sağlanır. Fotosentez oranları bitki tuz stresi (özellikle NaCl stresi) altında iken genelde düşüktür. Tuz stresi biyolojisi ve bitkilerin yüksek tuza karşı gösterdikleri tepkiler geçen yirmi yıl boyunca araştırmacılar tarafından tartışılmıştır. Bu araştırmalarda tuz stresinin fizyolojik ve biyokimyasal etkileri ile bitkilerin tuz stresine karşı göstermiş oldukları tolerans mekanizmaları detaylı olarak araştırılmıştır (Parida ve Das, 2005).

2.4.1. Bitkilerde Tuz Toleransı

2.4.1.1. Tuz Toleransının Mekanizması

Bitkiler tuz stresinin üstesinden gelmek için değişik moleküler ve biyokimyasal mekanizmalar geliştirmiştir. Biyokimyasal yollar tuz stresinin geliştirdiği eklemeli ve muhtemelen sinerjistik olarak etki eden ürünlere ve proseslere etki yapar (Iyengar and Reddy, 1996). Biyokimyasal stratejiler (1) kabul etmeme, (2) kökler tarafından iyon alınımının kontrolü ve yapraklara transportu, (3) hücrel ve tüm bitki düzeyinde iyonların belli bölgelerde tutulması, (4) uyumlu bileşiklerin sentezi, (5) fotosenteik yolda değişme, (6) membran yapısında değişme, (7) antioksidan enzimlerin indüklenmesini ve (8) bitki hormonlarının indüksiyonunu içerir (Parida ve Das, 2005).

Tuz tolerans mekanizmaları basit ya da karmaşık olabilir. Basit mekanizmalar biyokimyasal yolların farklılaşması şeklinde oluşur. Yüksek komplekslik gösteren mekanizmalar ise fotosentez ve respirasyonda (Botella ve ark., 1994); kromatin ve kromozom yapısında meydana gelen önemli proseslerdeki değişiklikleri kapsar (Walbot ve Cullis, 1985).

2.4.1.2. İyon Düzenlenmesi ve Lokalizasyonu

Bitkilerde iyon alınımı ve lokalizasyonunun dengelenmesi tuzlu koşullarda daha da önem kazanır (Adams ve ark., 1992a). Gerek glikofit (tuz tolerant olmayan bitki) gerekse halofit bitkiler sitoplazmada yüksek miktarlarda tuzu tolere edemezler. Bu nedenle aşırı tuzu ya vakuolde tutarlar ya da farklı dokularda metabolik fonksiyonlarda kullanmak için lokalize ederler (Iyengar ve Reddy, 1996). Glikofitler sodyum alınımını sınırlandırır ya da yaşlı dokuları depo komponenti gibi kullanarak sodyumu biriktirirler (Cheeseman, 1988).

Sitoplazmadan sodyumun uzaklaştırılması ya da vakoullerde lokalizasyonu tuzun indükleyebildiği bir enzim Na^+/H^+ antiporter tarafından yapılır (Apse ve ark., 1999). Vakuolar tip H^+ -ATPaz (V-ATPaz) ve vakuolar pirofosfataz (V-PPaz) vakuolar membranda birlikte bulunurlar (Dietz ve ark., 2001). V-ATPaz bitki hücrelerinde bulunan birincil H^+ pompasıdır.

2.4.1.3. Uyuşabilir Bileşiklerin Biyosentezi

Vakuoldeki iyonik dengeyi sağlamak üzere sitoplazmada normal bitki metabolizmasıyla etkileşmeyen ve uyuşabilir bileşikler olarak adlandırılan düşük moleküler ağırlıklı bileşikler sentezlenebilmektedir (Çizelge 2.2). Bunlar biyokimyasal reaksiyonlarda suyun yerini alırlar (Ford, 1984). Bu uyuşabilir bileşikler prolin (Singh ve ark., 2000), glisin betain (Wang ve Nil, 2000), karbohidratlar (Bohnert ve Jensen, 1996) ve polioller (Ford, 1984)'dir.

Polioller, düşük moleküler ağırlıklı şaperonlar ve stres tarafından oluşturulmuş reaktif oksijen radikallerinin temizlenmesinde görev yapan uyuşabilir bileşiklerdir (Smirnoff ve Cumbes, 1989). Polioller siklik (örneğin pinitol) ve asiklik (örneğin mannitol) olarak sınıflandırılır. Bir alkol şekeri olan ve tuz stresinde uyuşabilir bir solut olan mannitol, kerevizde mannoz-6-fosfat redüktaz enziminin etkisiyle sentezlenir (Zhifang ve Loescher, 2003). Pinitol ononitol epimeraz ve inositol-o-metiltransfereaz enzim serileri yoluyla miyo-inositolden sentezlenir (Bohnert and Jensen, 1996). Polioller osmotik ayarlama ve ozmoprotektan olarak işlev yaparlar. Ozmotik ayarlama sitoplazmada suyun alıkonmasını kolaylaştırıcı ozmolitler olarak ve sodyumun apoplast ve vakuollerde tutulmasını sağlayacak şekilde işlev yaparlar. Ozmolitler protein kompleksler, membranlar veya enzimler ile etkileşerek hücrel yapıları korumaktadır (Crowe ve ark., 1992).

Glukoz, fruktoz, sukroz, fruktanlar ve nişasta gibi karbohidratlar tuz stresi altında biriktirilir (Parida ve ark., 2002). Bunların önemli fonksiyonları ozmotik koruma, ozmotik ayarlama, karbon depolama ve radikal temizlemedir. Tuz stresinin birçok bitkide indirgen şekerleri (glukoz, fruktoz), sukroz ve fruktanları artırdığı rapor edilmiştir (Kerepesi ve Galiba, 2000). Buna karşın *Vicia faba*'da tuz stresi çözülebilir ve hidrolize olabilir karbohidratları azaltmıştır (Gadallah, 1999). *Bruguiera parviflora*'da ise tuz stresi altında yetiştirildiğinde yapraklarda indirgen olan ve olmayan karbohidratların arttığı, artarken, nişasta miktarlarının ise azaldığı gösterilmiştir (Parida ve ark., 2002).

Bitkiler tuz stresi altında azot içeren bileşikleri de biriktirirler. Azot içeren bileşiklerin en önemlilerini aminoasitler, amidler, proteinler, kuaterner amonyumlu bileşikler ve poliaminlerdir. Spesifik azot içeren bileşikler bitkilerin değişik

gruplarında tuzlu ortamlarda akümüle edilirler. Stres şartlarında bu bileşikler ozmotik ayarlama, makro moleküllerin korunması, azot depolanması, hücresel pH'nın korunması, hücrelerin detoksifikasyonunda ve serbest radikallerin temizlenmesinde işlev yapmaktadırlar (Çizelge 2.2). Bu bileşiklerin birikimi genellikle tuz stresi ile korelasyon gösterir (Mansour, 2000). Tuz stresi etkisinde bırakılan bitkilerin serbest aminoasit ve diğer azot içeren bileşiklerin birikimi ile ilgili birçok rapor vardır. Glisin betain içeriği birçok bitkide tuz stresinde artmıştır (Khan ve ark., 1999; Muthukumarasamy ve ark., 2000; Wang ve Nil, 2000).

Birçok bitki tuzlu şartlarda toksik olmayan ancak koruyucu ozmolit olarak görev yapan prolin biriktirir (Muthukumarasamy ve ark., 2000; Singh ve ark., 2000). NaCl uygulanan buğday çeşitlerinde toplam aminoasitlerin %55'ini oluşturan ve en fazla bulunan aminoasitlerden sistein, arjinin ve methionin azalırken, valin, izolösin, aspartik asit ve prolin miktarları ise değişik oranlarda artışlar göstermiş, toplam aminoasit miktarındaki artış kontrole göre 16 kat daha fazla olmuştur (Elshintinawy ve Elshourbagy, 2001). *Pringlea antiscorbutica*'nın kök, gövde ve yapraklarında NaCl etkisinde prolin akümülasyonu olmuştur. Bu ozmolitin birikiminin sitoplazmada vakuolleden 2-3 kat daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Aubert ve ark., 1999).

Prolin, kuaterner amonyum ve sülfonyumlu ozmolitler fizyolojik pH'da zwitter iyonu karakterindedir. Anılan bileşikler iyonik olmasına karşın net bir yüke sahip değildirler (Parida ve Das, 2005). Uyuşabilir bileşikler hücre içi biyokimyayı bozmadan yüksek miktarlarda biriktirilebilirler. Bu bileşikler tuz stresi altında enzimlerin normal aktivite gösterebilmesi için koruyucu rol oynamaktadırlar. Anılan bileşiklerin pH (ya da sitoplazmanın yük dengesine) veya organellerin lümenal bileşenlerine önemli etki yapmadığı sanılmaktadır (Rhodes ve Hanson, 1993).

2.4.1.4. Antioksidan Enzimlerin İndüksiyonu

Tuz stresi hücresel düzeydeki mevcut suyun osmotik olarak bağlanmasına ve bitkilerin fizyolojik olarak karışıklığa girmesine neden olur (Cheeseman, 1988). Su yetersizliği süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikal (Halliwell ve Gutteridge, 1985) ve singlet oksijen (Elstner, 1987) gibi reaktif oksijen türlerinin sitoplazmada

hızlı artmasına yol açar. Bu sitosolik aktive edilmiş oksijen türleri lipidler (Fridovich, 1986; Wise ve Naylor, 1987), protein ve nükleik asitlerde (Imlay ve Linn, 1988) oksidatif hasarlanma yoluyla normal metabolizmayı ciddi bir biçimde bozabilir. İnternal O_2 konsantrasyonları fotosentez sırasında yüksek olduğundan (Steiger ve ark., 1977) kloroplastlar genellikle aktive edilmiş oksijen türlerini üretme eğilimindedirler (Asada ve Takahashi, 1987). Süperoksit üretildiğinde enzimatik ya da enzimatrik olmayan proseslerle hızlı bir şekilde H_2O_2 ve suya dismutasyona uğratılır (Imlay ve Linn, 1988).

Bitkiler reaktif oksijen türlerine çeşitli seviyelerde antioksidanlarla karşı koyarlar. Metaloenzim süperoksit dismutaz süperoksidi H_2O_2 'ye dönüştürür. Katalaz ve çeşitli tipteki peroksidazlar H_2O_2 'nin bozulmasını katalizler (Chang ve ark., 1984). Katalaz kloroplastlarda olmadığından dolayı bu organelde hidrojen peroksit askorbata spesifik peroksidazlarla askorbat-glutasyon döngüsü boyunca detoksifikasyona uğratılabilir (Chen ve Asada, 1989; Asada, 1992). Askorbat ve glutasyonun her ikisinin de kloroplastlarda milimolar düzeylerde olduğu rapor edilmiştir (Halliwell, 1982). Askorbat okside α - tokoferolün α -kromoksil radikalinin bir indirgeyicisi gibi işlev yaparak ya da süperoksit radikali ile direkt reaksiyona girme yoluyla da okside edebilir (Foyer ve ark., 1991). Tilakoid membranlar α - tokoferol bakımından zengindir. Bu antioksidan sadece süperoksitle reaksiyona girmez, bunun yanında hidroksil, peroksil ve alkoksil radikallerinin temizlenmesine de yardımcı olur (Halliwell, 1987).

Yapılan birçok çalışmada antioksidan enzimlerden KAT, SOD, AP, guajakol peroksidaz ve GR aktivitesinin tuzlu koşullarda yetişen bitkilerde arttığı gösterilmiştir (Kennedy ve De Fillippis, 1999; Benavides ve ark., 2000; Sreenivasulu ve ark., 2000; Lee ve ark., 2001; Mittova ve ark., 2002) (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Tuz stresine cevapta biriktirilen ürünler ve bunların toleranstaki fonksiyonları (Parida ve Das, 2005).

Ürün grubu	Spesifik bileşik	Fonksiyonları	Kaynak
İyonlar	Sodyum, Klor	Potasyum engellemesi/ taşınımı	I
Proteinler	Ozmotin; SOD/KAT	Patojenlere ilgili proteinler; Ozmotik koruma Radikal detoksifikasyonu	II
Aminoasitler	Prolin; Ektoin	Osmotik koruma Osmotik ayarlama	III
Karbohidratlar	Glukoz, Fruktoz Sukroz; Fruktanlar	Osmotik koruma, Osmotik ayarlama, karbon depolama	IV
Polioller	Mannitol; Pinitol	Ozmotik ayarlama, karbon depolama; Radikal temizleme, ozmotik koruma ve ayarlama	V
Poliaminler	Spermin, Spermidin	İyon balansı, kromatin korunması	VI
Kuaterner aminler	Glisin betain	Ozmotik koruma, tilakoid ve plazma zarı bütünlüğünün korunması	VII
	β -Alanin betain Kolin-o-sülfat	Ozmotik koruma Ozmotik koruma	
Pigmentler	Karotenoidler, Antosiyaninler, Betalaninler	Foto-inhibisyona karşı koruma	VIII

(I) Blumwald ve ark. (2000); Nilu ve ark. (1995) Koyro (2000), (II) King ve ark. (1988), Bohnert ve Jensen (1996); Allen ve ark. (1997); Hernandez ve ark. (2000) (III) Khatkar ve Kuhad (2000); Singh ve ark. (2000); Lin ve ark. (2002) (IV) Kerepesi ve Galiba (2000), Bohnert ve Jensen (1996) (V) Popp ve ark. (1985), Ford (1984), Orthen ve ark. (1994) (VI) Tiburico ve ark. (1993); SantaCruz ve ark. (1998) (VII) Wang ve Nil (2000); Rhodes ve Hanson (1993); Nuccio ve ark. (1999) (VIII) Foyer ve ark. (1994); Adams ve ark. (1992b); Kennedy ve De Fillippis (1999).

2.5. Askorbik Asit

2.5.1. Askorbik Asidin Hücresel Lokalizasyonu

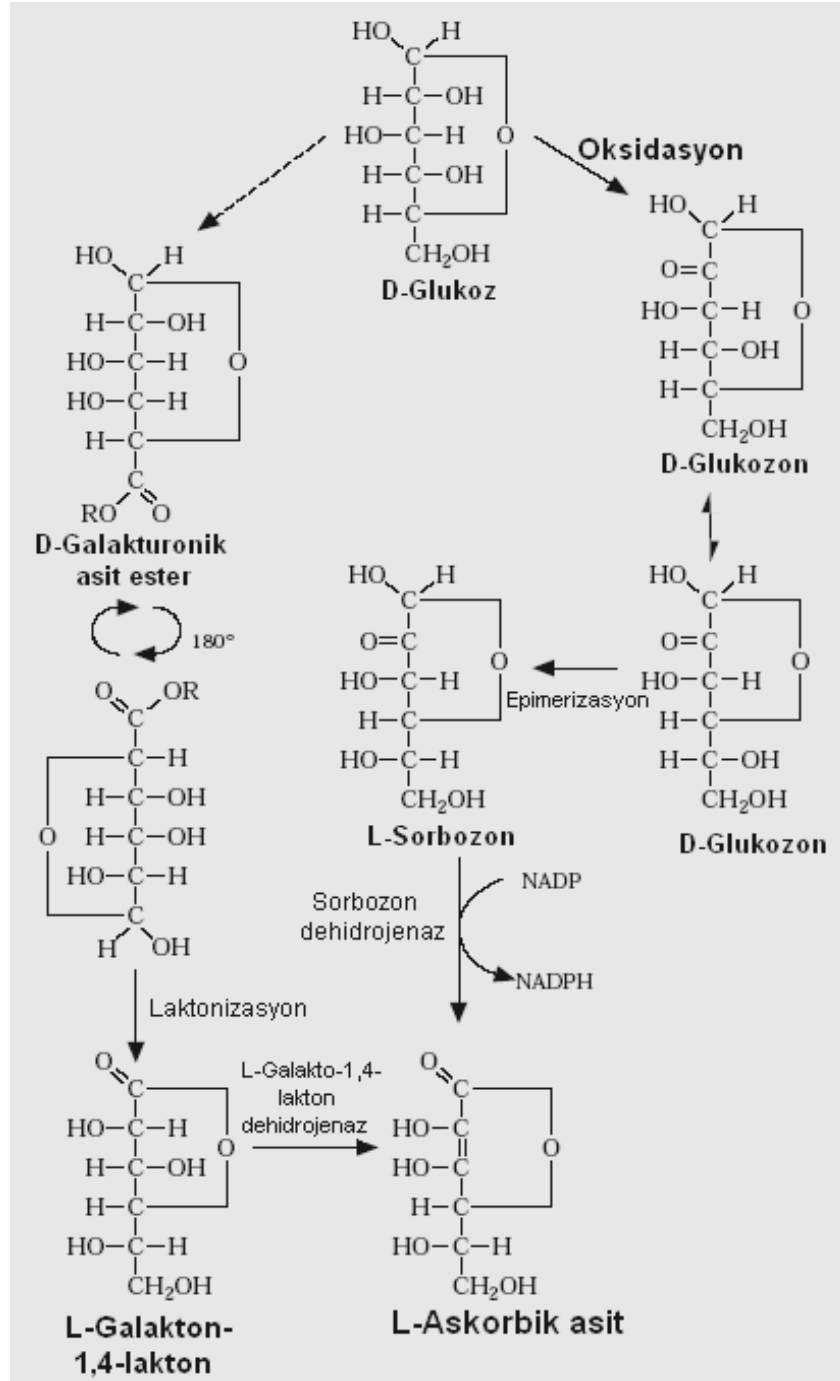
Askorbik asit ve askorbat peroksidaz algler ve karayosunlarını da içine alan bütün fotosentetik ökaryotlarda bulunur (Loewus, 1980). Askorbat peroksidaz Prokaryotlar arasında da bazı Mavi-Yeşil alglerde bulunmuştur (Miyake ve ark., 1991). Askorbik asit sitoplazmada, kloroplastlarda, vakuollerde, mitokondride ve hücre duvarında bulunur. Askorbik asidin kloroplastlarda daha yüksek konsantrasyonlarda bulunması fotosentezdeki rolü ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Foyer, 1993).

2.5.2. Askorbik Asitin Kimyası ve Biyokimyası

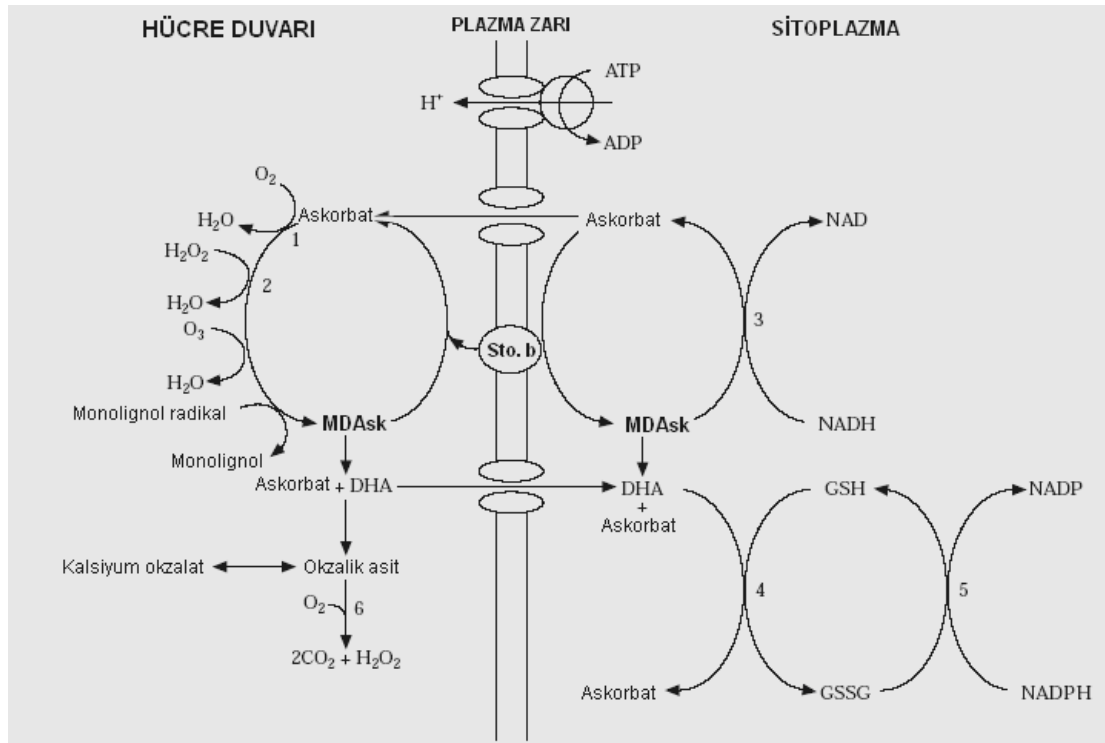
Önemli bir metabolit olan askorbik asitin bitkilerdeki biyosentezi tam olarak bilinmemektedir. Olası iki yol Şekil 2.4'te gösterilmiştir. Ekzogen L-galakto-1,4-lakton (GAL)'ın askorbata hızlı dönüşümünü destekler (De Gara ve ark., 1994). Bu yol için ileri bir destek likorinin etkisiyle sağlanmıştır. Bu alkoloid hayvanlarda askorbütü indükleyebilir ve bitkilerde askorbat düzeyini azaltır (Arrigoni ve ark., 1975). De Gara ve ark. (1994) likorinin GAL dehidrojenaz ve L-gulano-1,4-lakton (GUL) oksidaz enzimlerini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Teorik olarak D-glukozun GAL'a dönüşümü karbon iskeletin dönüşümü gerektirir. Fakat yapılan detaylı araştırmalar bu dönmenin olmadığı ispatlamıştır.

Askorbik asidin indirgeyici özellikleri karbon (C) 2/3'deki reaktif ene-diyol gruptan kaynaklanır. Asidik özellikleri C3'deki hidroksil grubun iyonizasyonu ile sağlanır ($pK_a=4.17$). Oksidasyon ilk olarak monodehidroaskorbat radikalini oluşumundan kaynaklanır. Dehidroaskorbat pH 7.0'ın üstündeki düzeylerde sabit değildir. Dolayısıyla DHA lipid kayıplarını önlemek için toplam askorbat havuzunu indirgenmiş durumda koruması gerekir. Normal koşullarda askorbat havuzunun % 90 kadarı indirgenmiş durumundadır (Foyer, 1993). Bu duruma iki enzim aracılığıyla ulaşılır: (1) NAD(P)H'ı indirgeyici olarak kullanan monodehidroaskorbat redüktaz (MDAR) ve (2) glutatyonu indirgeyici olarak kullanan dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) bitki hücrelerinde askorbatı diğer bir çözülebilen antioksidant olan

glutatyona bağlar. Bu reaksiyonlar birlikte askorbat-glutasyon döngüsünü oluşturur (Halliwell-Foyer-Asada, Şekil 2.5) (Foyer, 1993). Askorbat oksidasyonunu iki enzim katalizler. Bunlar askorbat oksidaz (Loewus, 1980) ve askorbat peroksidazdır (Asada, 1994).



Şekil 2.4. Bitkilerde askorbik asit sentezinin olası yolları (Simirnoff, 1996).



Şekil 2.5. Hücre duvarı ve sitoplazmadaki askorbat sistemi (Simirnof, 1996).

Askorbatın biyokimyasal reaksiyonları dört kategoriye ayrılabilir:

1-Antioksidan özelliği: Askorbat süperoksit, singlet oksijen, ozon ve hidrojen peroksit ile hızlı bir şekilde reaksiyona girer. Askorbat herbisit ve bazı kirleticilerin etkisinde kalındığında ve oksijenli solunum sırasında üretilmiş zararlı oksijen türlerinin giderildiği reaksiyonlara katılır. MDAsk ve DHA Askorbat-Glutatyon döngüsüyle askorbata indirgenir (Şekil 2.5). Buna ek olarak askorbat α -kromanoksil radikalden bir lipofilik antioksidan olan α -tokoferol (E vitamini)'ü yeniden oluşturur (Asada, 1994).

2-Enzim katalizörü: Askorbik asit, hidroksiprolin ve hidroksilisinin sentezini kapsayan prolil ve lisil hidroksilazlar gibi enzim serilerinde bir kofaktördür (Davies ve ark., 1991). Ekstensin gibi hidroksiprolince zengin proteinler hücre zarı yapısal proteinleridir (Carpita ve Gibeaut, 1993). Askorbat en azından in vitro etilen oluşturan enzim için de gereklidir. Bu enzim askorbata bağlı diğer hidroksilazlarla homolog serisine sahiptir (Smith ve ark., 1992).

3-Elektron taşınması: Askorbat in vitro elektron vericisi olarak fotosentetik ve mitokondriyal elektron taşınmasında önemli role sahiptir. Yapılan çalışmalar

monodehidroaskorbat radikalın fotosistem II'den (in vivo) bir elektron alıcısı gibi davranabileceğini desteklemektedir (Miyake ve Asada, 1992).

4-Okzalal ve tartarat sentezi: Askorbat okzalal ve tartarat formuna bölünebilir (Saito, 1996). Diğer yollar okzalal sentezine katılabilir. Ancak askorbat muhtemelen üzümde tartaratın ana kaynağıdır (Simirnoff, 1996).

2.6. Lipid Peroksidasyonu

Lipid, hücreleri ve hücrel organelleri çevreleyen membranın önemli bir bileşenidir. Membran lipidlerinin oksidatif bozulması lipid peroksidasyonu olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu hücre membranındaki doymamış yağ asitlerinin serbest radikallerle etkileşerek bir seri reaksiyon sonucu bozulmaları ve lipid hidroperoksidlerin oluşmasıdır. Lipid peroksidasyonu sırasında polar oksijen kısım (hidroperoksi kısım) poliansatüre yağ asitlerinin hidrofobik kuyruklarına sokulur. Bu işlemin iki sonucu vardır;

1- Hidroperoksi grup varlığında hidrofobik lipid/lipid ve lipid/protein etkileşimleri bozulur. Bu durum biyomembranlarda ve lipoproteinlerde yapısal değişime neden olur.

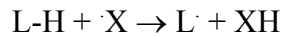
2- Hidroperoksi lipidler diğer membran ve/veya lipoprotein bileşenlerde ikincil modifikasyonları indükleyen serbest radikal oluşumunun kaynağıdır (Kuhn ve Borchert, 2002).

Peroksidasyon sonucunda lipid hidroperoksidler, lipid epoksidler, epoksi alkoller ve MDA, etan, pentan gibi kısa zincirli bileşikler ile 4-hidroksi-nonenal (4-HNE) oluşur. Malondialdehit ve 4-HNE gibi aldehydlerin biyolojik aktiviteleri DNA ve proteinlerle çapraz bağlanarak moleküllerin işlev/faaliyetini değiştirmeleri şeklindedir (Griffiths ve ark., 2002). Biyolojik sistemlerde MDA üreten tek mekanizma lipid peroksidasyonudur. Malondialdehit lipid peroksidasyonunun ana ürünü değildir, ancak tipik parçalanma ürünüdür ve lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde yaygın olarak kullanılır. Ksenobiyotikler serbest radikal oluşumunu arttırarak ya da hücrenin peroksidasyon reaksiyonlarına karşı savunma kapasitesini

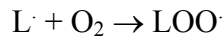
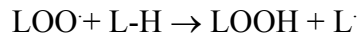
azaltarak lipid peroksidasyonunu arttırabilirler (Horton ve Fairhurst, 1987; Lackner, 1998).

Lipid peroksidasyonu başlama, ilerleme ve sonlanma olmak üzere üç aşamada yürür (Halliwell ve Gutteridge, 1999);

1. Başlama: Hidroksil radikal gibi oksitleyici bir radikal türün poliansatüre yağ asitlerinden bir allilik hidrojen atomu ayırması ile lipid peroksidasyonu başlar. Poliansatüre yağ asitlerinden allilik hidrojenin ayrılması ile lipid radikal (L $\cdot$) oluşur. Aerobik ortamda bu radikal oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksil radikal (LOO $\cdot$) oluşur. Yüksek reaktivitesi nedeniyle, HO $\cdot$ doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek sistemden bir hidrojen atomunun ayrılması ile ya da çift bağların eklenmesi yolu ile karbon-merkezli radikal oluşturur.

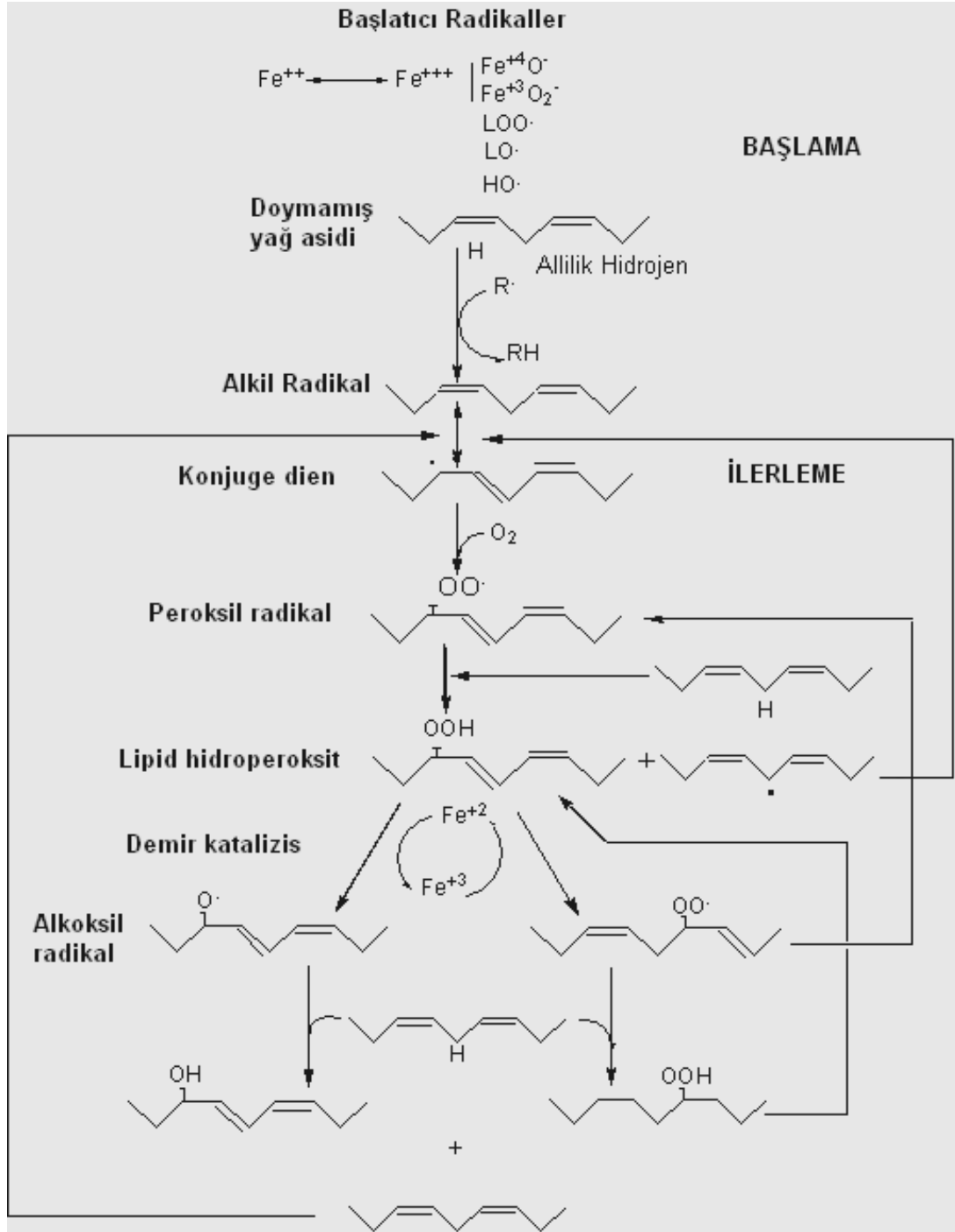


2. İlerleme: Başlama ve ilerleme işlemlerinde üretilen karbon merkezli radikaller moleküler düzenlenmeye uğrarlar. Lipid peroksil radikal başka bir lipid molekülden bir allilik hidrojen molekülü ayrılır. Böylece lipid hidroperoksit (LOOH) ve ikinci bir lipid radikal oluşur. Lipid peroksil radikal başka bir lipid molekülden bir hidrojen atomu ayırma yeteneğindedir. Bu lipid peroksidasyonunun zincirleme olarak ilerlemesine neden olur. Oluşan karbon radikal başka bir peroksil radikal oluşturmak üzere ileri oksijen eklenme reaksiyonu geçirebilir ve böylece lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonları şeklinde devam eder. Lipid peroksil radikal hidrojen atomu ile birleşerek bir LOOH oluşturur (Şekil 2.6).

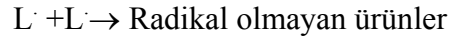
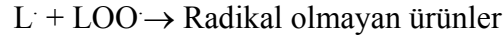
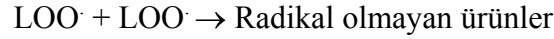


3. Sonlanma: Başka bir radikal, protein ya da serbest radikal yakalama yeteneğindeki bileşik ile reaksiyon sonucu sonlanma meydana gelir ve stabil son ürün oluşur. Oluşan hidroperoksit lipid peroksidasyon işlemini bitirmek üzere farklı reaksiyonlar geçirebilir. Bir hidroksi yağ asidine indirgenebilir ya da siklik endoperoksitleri oluşturmak üzere siklizasyon geçirebilir. Son ürünlerin oluşumu

lipid peroksidasyonunun sonlanma aşamasını oluşturur. Radikaller, aldehidler ve lipid peroksidasyonunun diğer ürünleri arasındaki kompleks reaksiyonlar membran proteinlerinde önemli zararlara neden olabilir.



Şekil 2.6. Lipid peroksidasyonu kimyası (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

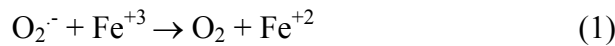


Genel olarak lipid peroksidasyonunun etkileri membran akışkanlığının azalması, membranın normal koşullarda geçirimsizlik sağladığı maddelere karşı (Ca^{+2} gibi) zayıflığının artması ve membrana bağlı enzimlerin inaktivasyonudur. Aldehidler ve pentan gibi hidrokarbonları üretmek üzere yağ asidi zincirlerinde devam eden fragmentasyon membran bütünlüğünün tamamen kaybolmasına neden olur. Bu yolla lizozom membranlarının bozulması lizozomal enzimleri komşu hücrelere boşaltarak lipid peroksidasyonunun neden olduğu zararın artmasına neden olur (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

2.6.1. Metal Aracılıklı Peroksidasyon

Demir ve bakır gibi geçiş metaller serbest radikaller ile yürütülen lipid peroksidasyonu reaksiyonlarının çoğunun başlatılmasında önemli rol oynarlar. Çoğu durumda bu metaller önce askorbat, O_2^- ya da tiyoller gibi indirgeyici ajanlar ile aktive edilirler. Metal iyonlarının aracılık ettiği peroksidasyon iki kategoriye ayrılır; LOOH bağımsız ve LOOH bağımlı başlama. İlk durumda, başlangıçta hidroperoksitler yoktur ya da H_2O_2 ile rekabet edemeyecek kadar düşük miktarlarda bulunurlar. İkinci durumda başından beri önemli miktarlarda LOOH bulunur. LOOH bağımlı başlama O_2^- ve H_2O_2 tarafından yürütülür.

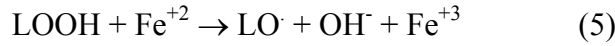
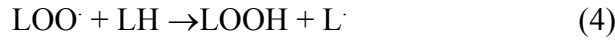
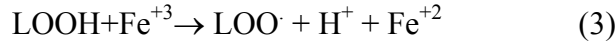
Redoks metal olarak demirin varlığında mekanizma demir-katalizli Haber-Weiss döngüsüdür. Bu döngüde O_2^- tarafından Fe^{+3} 'ün redüksiyonu (Reaksiyon 1) H_2O_2 tarafından Fe^{+2} reoksidasyonu (Reaksiyon 2) ile birleşir.



İkinci aşama $\text{HO}^\cdot$ oluşumu ile sonuçlanan Fenton reaksiyonudur. Bakır (II) indüklü reaksiyonlar için de benzer mekanizma geçerlidir.

Peroksidasyonun LOOH bağımlı başlaması redoks metaller ile (özellikle demir) indüklenir. Lipid hidroperoksitin aktivasyonu için iki genel yol vardır.

a) Demir (III) ile LOOH oksidasyonu ve sonrasında LOO[•] ile hidrojen ayrılması (Reaksiyon 3 ve 4) ve b) Demir (II) ile LOOH redüksiyonu ve sonrasında LO[•] ile hidrojen ayrılması (Reaksiyon 5 ve 6).

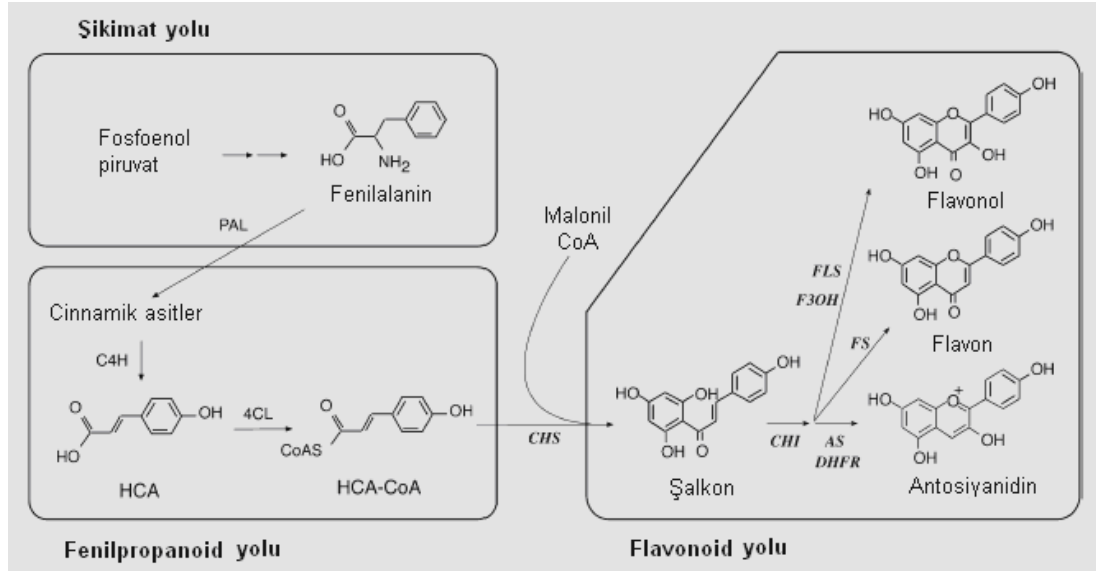


Süperoksit radikal, askorbat ve tiyoller gibi demir indirgeyiciler LOOH bağımlı lipid peroksidasyonunun başlamasını sağlarlar (Girotti, 1985).

2.7. Fenolik Bileşikler

2.7.1. Bitki Fenoliklerinin Biyosentezi

Fenolikler en az bir aromatik halka (6C) taşıyan, bir yada daha fazla hidroksil grubuna sahip kimyasal bileşiklerdir. Hidroksicinnamik asitler (HCA; C6-C3) ve flavonoidler (C6-C3-C6) temel karbon iskeletine sahiptirler. Şekil 2.7’de fenolik bileşiklerin biyosentez yolu gösterilmiştir. HCA ve flavonoidler fenilalanin amonyum liyaz enzimi tarafından fenilalanininden oluşturulmuş cinnamik asitten türerler (Herrmann, 1995). Cinnamik asit o-metiltransferaz ve cinnamat-4-transferaz (C4H) tarafından HCA’ya modifiye edilir. 4-kumarat:CoA liyaz (4-CL) enzimi hidroksicinnamol CoA (HAC-CoA) oluşumunu katalizler ve bu aktive olmuş ara ürünler flavonoid ve ligninin biyosentezinde kullanılırlar. Flavonoid sentezi şalkon sentaz (CHS) tarafından katalizlenmiş malonil CoA’nın üç molekülü ve HCA-CoA’nın yoğunlaşması ile başlar. Şalkon antosiyanin sentaz (AS), dihidroflavonol redüktaz (DHFR), Flavonol sentaz (FLS), Flavon sentaz (FS), izoflavon sentaz (IFS), Flavon 3-hidroksilaz (F3OH) ve şalkon izomeraz (CHI) tarafından flavon, flavonol ve antosiyanini de içeren diğer flavonoid gruplarına dönüştürülür (Douglas, 1996; Shirley, 1996).



Şekil 2.7. Bitki fenoliklerinin biyosentez yolu (Sakihama ve ark., 2002).

2.7.2. Fenoliklerin Fonksiyonları

Flavonoidler genel olarak çiçek, yaprak, gövde, kök, tohum ve meyve gibi bitki organlarının epidermal hücrelerinde glikozid ve glikozid olmayan formlarda biriktirilirler. Bu glikozidlerin subselüler lokalizasyonu başlıca vakuol ve apoplast gibi hidrofilik bölgelerde sınırlandırılır (McClure, 1975; Wollenweber ve Dietz, 1981). Glutatyon-S-tranferazlar (GST) tanımda ve antosiyaninlerin vakuole taşınmasında görev yapar (Edwards ve ark., 2000).

Polifenoller serbest radikalleri temizlemek için ideal bir kimyasal yapıya sahiptirler ve askorbik asit ve tokoferolden çok daha etkili antioksidan özellik gösterirler. Antioksidan özellikleri (1) onların hidrojen ya da elektron vericisi olarak yüksek reaktivitelerinden, (2) polifenollerden türemiş radikalleri stabilize edebilme yeteneği ve eşleşmemiş elektronların delokalizasyonundan ve (3) Fenton reaksiyonlarını başlatan metal iyonlarını şelatlayabilme özelliğinden ortaya çıkar (Rice-Evans ve ark. 1997). Fenoliklerin antioksidatif özelliklerinin diğer bir mekanizması flavonoidlerin peroksidasyon kinetiklerini değiştirebilme yeteneğidir. Bunu da lipid dizilerinin modifikasyonu ve membranların geçirgenliğini azaltma yoluyla olmaktadır (Arora ve ark, 2000). Bu değişiklikler serbest radikallerin difüzyonunu ve peroksidatif reaksiyonları sınırlarlar (Takahama ve Oniki, 1992).

Oksidatif korumada fenolik bileşiklerin rolü hala çelişkilidir. Fenolik asitler ve flavonoidler katechol-, Pirogallol- ve 3-hidroksi-4-karbonil konfigürasyonla şelat yaparlar ve pH 5'te Fe^{+3} 'ü indirgeyebilirler. Ayrıca linoleik asitin peroksidasyonunu inhibe ederler (Moran ve ark., 1997). Stadler ve ark. (1995)'na göre fenolik bileşiklerin rolü onların oransal derişimine bağlıdır. Fenton reaksiyonu tarafından indüklenmiş etil linoleik asit peroksidasyonu polifenollerin düşük konsantrasyonlarında inhibe edilmiştir. Bunun aksine polifenollerin yüksek konsantrasyonları ise lipid peroksidasyonunu teşvik etmiştir. Araştırmacılara göre bunun nedeni şelatlanmış reaktif Fe^{+3} 'ün aktif Fe^{+2} durumuna dönmesinden dolayı olabilir.

2.8. Kadmiyum, Tuz ve Tuz-Metal etkileşiminin Bitkilere Etkileri ile İlgili Çalışmalar

2.8.1. Kadmiyumunla İlgili Çalışmalar

Kadmiyumun karasal ve sucul ortamlarda yaşayan bitkilerde neden olduğu fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler ile bitkilerin metallerle karşı geliştirdikleri tolerans mekanizmaları hakkında birçok araştırma yapılmıştır.

Wu ve ark. (1995) bakır ve kadmiyumun tek hücreli alglerin hücre içi prolin akümülyasyonuna etkilerini araştırmışlardır. Her iki metalle test edilen alglerdeki prolin miktarları *Chlorella* > *Pediastrum* > *Anacystis* > *Nitzschia* şeklinde olmuştur. Fakat bakırın prolin birikimini kadmiyumdan daha fazla artırdığı bulunmuştur.

Gupta ve Chandra (1996) köksüz su altı bir makrofit olan *C. demersum*'un Cd akümülyasyon kapasitesini belirlemek için bir çalışma yapmışlardır. Makrofitler % 3'lük Hoagland besin çözeltisi içinde 0.05, 0.1, 1 ve 2 mg L⁻¹ lik Cd etkisinde 48, 72 ve 168 saat bekletilmiştir. Makrofitlerin bütün test çözeltilerinde önemli miktarlarda Cd akümüle ettiği bulunmuştur. Klorofil ve karotenoid miktarlarında ise artan Cd derişimi ve test edilen süreye göre önemli düzeylerde azalmalar bulunmuştur.

Ouariti ve ark. (1997) domateste (*Lycopersicon esculentum*) Cd ve Cu akümülyasyonu ile bu metallerin büyüme ve lipid kompozisyonlarına etkilerini araştırmışlardır. Her iki metalin akümülyasyonu da artan metal derişimi ile artış

göstermiştir. Metallerin birikimi köklerde yapraklara kıyasla daha fazla olmuştur. Kök büyümesi ve ilk yaprak gelişimi her iki metalden olumsuz yönde etkilenmiştir. Ayrıca ağır metallerle streslenmiş bitkilerde lipid miktarı ve doymuş yağ asidi kompozisyonlarında önemli azalmalar bulunmuştur. Cd stresinde bırakılan domateslerin yapraklarında glikolipid miktarları köklere göre fazla azalma göstermişken, Cu etkisinde bırakılan bitkilerin her iki organı da benzer şekilde etkilenmiştir. Benzer şekilde her iki metal etkisinde kök ve yaprakların fosfolipid ve nötral lipid miktarları köklerde yapraklara nazaran daha fazla azalmalar göstermiştir.

Schat ve ark. (1997) *Silene vulgaris*'in metal tolerat ve metal tolerat olmayan ekotipini Cu, Cd ve Zn etkisinde bırakarak prolin akümülyasyonuna etkilerini incelemişlerdir. Tolerat olmayan ekotip özellikle yapraklarında yüksek miktarlarda prolin biriktirmiştir. Bu metallerin eşit derişimlerinin etkisinde bırakılan tolerat olmayan türde prolin akümülyasyonları sırasıyla Cd>Zn>Cu şeklinde bulunmuştur. Metal tolerat ekotip tolerat olmayan türe göre yapraklarında 5-6 kat daha fazla prolin biriktirmiştir.

Costa ve Spitz (1997) Cd stresinin (0, 0.01, 0.1, 1, 10 ve 100 µM) *Lupinus albus* L.'de çözülebilir karbohidrat, serbest aminoasit ve protein miktarlarına etkilerini araştırmışlardır. Kadmiyum 0.01 ve 0.1 µM'lık derişimlerde kontrole göre önemli biyomas değişikliğine neden olmamıştır. Düşük Cd uygulamalarında (0.01 ve 0.1 µM) toplam çözülebilir karbohidrat ve toplam serbest aminoasit miktarlarında artışlar bulunmuştur. Fakat test edilen diğer Cd derişimleri ise bu parametreleri önemli düzeylerde azaltmıştır. Bunların aksine mannoz, rafinnoz ve hidroksiprolin miktarlarının artan Cd uygulamasıyla birlikte arttığı bulunmuştur.

Shah ve Dubey (1998) yaptıkları bir çalışmada toksik metallerden Cd'nin iki farklı çeltik (*Oryza sativa* L.) genotipinde prolin birikimi ve ribonükleaz aktivitesine etkisini araştırmışlardır ve 100 ve 500 µM Cd etkisinde yüksek miktarda prolin birikimi olduğunu bildirmişlerdir.

Mendelssohn ve ark. (2001) sucul makrofitlerden *Typha domingensis*'i 0, 20, 40, 60, 80 mg L⁻¹ CdCl₂ etkisinde *Spartina alterniflora*'yı ise 0, 30, 60, 90, 120 mg L⁻¹ CdCl₂ etkisinde yetiştirmişlerdir. Kadmiyum uygulaması her iki türde de

büyümeyi şiddetli bir biçimde inhibe etmiştir. Yaprak büyümesi kısa süreli düşük Cd etkisinde bile önemli düzeylerde azalmıştır.

Sucul makrofit olan *Phragmites australis* yüksek Cd konsantrasyonunun etkisinde 21 gün boyunca bırakılarak makrofitteki Cd dağılımı ile antioksidan miktarları ve antioksidan enzimlerin aktiviteleri belirlenmiştir. En yüksek Cd biyoakümülyasyonu köklerde bulunmuştur. Genelde bitki köklerinde yüksek GSH miktarı bulunmuştur. Artan GST aktivitesinin *P. australis*'in yüksek Cd toksisitesinde ortaya çıkan detoksifikasyon mekanizmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. SOD, AP, GR ve KAT aktiviteleri ise kök, gövde ve yapraklarda kontrole göre azalmıştır (Iannelli ve ark, 2002).

Chen ve ark. (2003) havuç ve turp köklerini su kültürleri için 0, 20, 40, 60, 80 ve 100 mg L⁻¹ ve saksı denemeleri için 0, 20, 60, 100 ve 150 mg L⁻¹ Cd'nin etkisinde bırakarak SOD, KAT, polifenol oksidaz ve peroksidaz aktiviteleri ile serbest prolin ve malondialdehit miktarındaki değişimi araştırmışlardır. Her iki bitkinin tohumlarının çimlenme oranları ve kök büyümeleri düşük Cd uygulamasında bile inhibe olmuştur. Köklerin prolin akümülyasyonu 20 mg L⁻¹'lik derişimde maksimum düzeye çıkmış, artan Cd derişimi ile prolin miktarının da azaldığı bulunmuştur. Analiz edilen antioksidan enzimlerde her iki türde ve her iki ortamda artan Cd stresinden dolayı azalma olduğu bulunmuştur.

Dhir ve ark. (2004) hidrofitlerden *Ceratophyllum*, *Wolffia* ve *Hydrilla* ile mezofitlerden *Brassica juncea*, *Vigna radiata* ve *Triticum aestivum*'u Cd etkisinde bırakarak bu bitkilerdeki metal stresini lipid peroksidasyonuna ve prolin akümülyasyonlarına göre değerlendirmişlerdir. Sucul makrofitlerin hiçbir Cd stresine karşı prolin akümülyasyonu göstermemiştir. Mezofitler ise metal stresine bağlı olarak dokularında artan Cd derişimiyle birlikte önemli miktarlarda prolin biriktirmişlerdir. Cd etkisinde hidrofitlerde meydana gelen lipid peroksidasyonu düşük bulunmuştur. Bunların aksine Cd etkisindeki mezofitlerde lipid peroksidasyonunda önemli artışlar olmuştur. Her iki bitki grubunun klorofil a ve klorofil b miktarları da Cd etkisinde azalmıştır.

2.8.2. Tuz Stresiyle İlgili Çalışmalar

McMillan ve Moseley (1967) Teksas (A.B.D.) eyaletinin deniz kıyılarında yetişen makrofitlerden *Thalassia testudinum*, *Diplanthera wrightii*, *Halophila engelmanni*, *Ruppia maritima* L. ve *Syringodium filiforme*'nin tuz toleranslarını araştırmışlardır. Kontrollü koşullarda yapılan araştırmaya göre en yüksek tuz toleransını *D. wrightii* göstermiştir. En düşük tuzluluk toleranslarını ise *T. testudinum* ve *R. maritima*'nın gösterdiği bulunmuştur.

Phleger (1971) bataklık bitkilerinden *Spartina foliosa* Trin.'de tuzluluğun (% 0- % 1.25 deniz suyu) büyüme üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Bitkinin doğal ortamı deniz suyu olmasına karşın en iyi gelişim ve canlılığın tatlı suda olduğu görülmüştür. Protein ve lipid miktarları da tatlı suda yetiştirilen bitkilerde deniz sulu ortamlardakine nazaran daha yüksek bulunmuştur. Tatlı suda yetişen bitkinin sodyum içeriği deniz suyundakilerden daha düşük bulunmasına karşın tatlı sudaki bitkilerde potasyum miktarları daha yüksek bulunmuştur.

Haller ve ark. (1974) sera koşullarında on farklı tür makrofit üzerinde tuzluluğun etkilerini araştırmışlardır. *Pistia stratiotes* L. ve *Eichornia crassipes* (Mart.) Solms'da % 0.166 ve % 0.25'lik tuzluluğun toksik olduğu bulunmuştur. Yüzücü yapraklı makrofitlerden *Lemna minor* L. 'de %1.665 ya da daha yüksek tuz derişimleri toksik etki göstermiştir. Fakat daha düşük tuz derişimlerinde (% 0.083, %0.166, % 0.25 ve % 0.333) yetiştirilen *Lemna* bitkilerinin besin elementli göl sulu (tatlı su) ortamdakilere göre daha iyi geliştikleri bulunmuştur. Araştırmada kullanılan diğer sucul makrofitlerde (*Hydrilla verticillata* Royle, *Myriophyllum spicatum* L., *Najas quadalupensis* (Spreng.) Magnus, *Vallisneria americana* Michx., *Azolla caroliana* Willd. ve *Salvinia roduntifolia* Willd.) ise büyümenin artan tuzlulukla birlikte azaldığı bulunmuştur.

Gossett ve ark. (1994) yaptıkları araştırmada *Gossypium hirsutum* L.'da NaCl stresinin SOD, guajakol peroksidaz ve GR aktivitelerini artırdığını, KAT ve AP aktivitelerini ise azalttığını rapor etmişlerdir. Ayrıca tuz stresinin enzimatik olmayan antioksidanlardan askorbat, toplam glutatyon ve α -tokoferol seviyelerinde de bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur.

Lechno ve ark. (1997) tuz stresinin kabak bitkisi üzerindeki etkileriyle ilgili bir araştırma yapmışlardır. Antioksidan enzimlerden KAT ve GR aktiviteleri ile antioksidanlardan askorbat ve redükte glutatyon miktarlarında artışların olduğunu bulmuşlardır. Fakat tuz stresi kabak bitkisinin SOD aktivitesini etkilememiştir.

Rout ve ark., (1998) sucul makrofitlerden *Hydrilla verticillata*, *Najas indica* ve *Najas gramania*'da farklı NaCl derişimlerinin etkilerini araştırmışlardır. Her üç makrofitte de NaCl klorofil-a/klorofil-b oranlarını önemli derecede azaltmıştır. *H. verticillata*'da, prolin miktarı % 1.5 ve % 2.5'lik NaCl etkisinde azalmıştır. Araştırmacılar bu bulgulara dayanarak prolinin bu tür ekolojik özelliğe sahip bitkiler için bir gösterge olamayacağı sonucuna varmışlardır. Bunun yerine tuz stresinde klorofil-a/klorofil-b oranlarının su bitkileri için bir indikatör olabileceği sonucuna varmışlardır.

Tuz stresine farklı düzeylerde tolerans gösteren dört çeltik (*O. sativa* L.) çeşidi tuz stresli koşullarda yetiştirilmiştir. Yüksek NaCl'li derişimlerde Pokkali çeşidi dışındakilerde büyüme oranları önemli düzeylerde azalmıştır. Tuz tolerant olmayan çeşitler (Hitomebore ve R28) yüksek tuz derişimli ortamlarda yetiştirildiğinde SOD aktivitelerinde azalmalar olmuşken peroksidaz aktivitelerinde artışlar bulunmuştur. Tuz tolerant olmayan bu iki türde yüksek Na akümülyasyonunun yanında lipid peroksidasyonunda da artışlar olmuştur. Deney sonuçlarına göre tuza tolerant çeşitler antioksidan enzimlerin spesifik aktivitelerini koruyarak radikal üretimine karşı bir savunma oluşturdukları sonucuna varılmıştır (Dionisio-Sese ve Tobita, 1998).

Liang (1999) yaptığı araştırmada tuz stresinin etkisinde bırakılan arpanın yapraklarında SOD aktivitesi ile köklerinin H^+ -ATPaz aktivitelerinde artışlar bulmuştur. Yaprakların MDA miktarları ise tuz stresi tarafından azaltılmıştır.

Kerepesi ve Galiba (2000) buğdaylar (*Triticum aestivum* L.) ile ozmotik ve tuz stresi çalışmaları yaparak toplam çözülebilir karbohidrat, fruktoz, glukoz, sukroz ve fruktan miktarlarını belirlemişlerdir. Tolerant türler çözülebilir karbohidratları hassas olan türlere kıyasla daha fazla biriktirmişlerdir. Ayrıca iyonik stresin sukroz, fruktan ve indirgen karbohidrat miktarlarını önemli düzeylerde artırdığı bulunmuştur.

Agastian ve ark. (2000) farklı dut genotiplerini tuz stresi etkisinde bırakmışlardır. Klorofil ve toplam karotenoid miktarları tuzluluk tarafından dikkate değer bir biçimde azaltılmıştır. Düşük tuzlulukta fotosentetik CO₂ alınımı kontrole göre artmış, yüksek tuzlulukta ise azalmıştır. Aynı şekilde düşük tuz derişimlerinde çözülebilir protein, çözülebilir karbohidrat, sukroz, nişasta ve fenoller artış göstermişken, yüksek tuzlulukta azalmıştır.

Rout ve Shaw (2001) tuzluluğa farklı düzeylerde tolerans gösteren sucul makrofitlerden *Hydrilla verticillata*, *Najas indica* ve *Najas gramenia*'da deniz suyu ve saf NaCl'nin hücre içi Na, K, Mg ve Ca miktarları ile fotosentetik pigmentlere etkilerini araştırmışlardır. NaCl tuzluluğuna tuza hassas makrofit *H. verticillata* ve orta düzeyde tuza tolerant *N. indica*'da klorofil/karotenid oranlarında önemli düzeylerde artışlar bulmuşlardır. Ancak tuza tolerant *N. gramenia*'da böyle bir değişiklik olmadığını görmüşlerdir. Hücre içi Na derişimlerinin hem deniz suyu hem de NaCl uygulamaları sonucunda önemli miktarlarda arttığı bulunmuştur. Her iki tuz uygulamasında makrofitlerdeki K konsantrasyonları, *N. gramenia* hariç, diğer iki türde azalmıştır.

Panda ve Upadhyay (2003) serbest yüzücü yapraklı makrofitlerden *Lemna minor* L.'de farklı NaCl derişimlerinin (0, 50, 100 ve 200 mM) biki köklerinde meydana getirdiği oksidatif hasarlanmayı histokimyasal ve biyokimyasal olarak belirlemişlerdir. Köklerin histokimyasal analizlerine göre yüksek NaCl etkisindeki kök kesitlerinin daha fazla boyandığı, dolayısıyla membranların yapısında hasarlanma olduğu sonucunu vermiştir. Bu bulgular tiyobarbutirik asit reaktif maddeler ve peroksit miktarındaki artışlarla da doğrulanmıştır. Tuz stresi altında makrofitin antioksidan enzimlerinden SOD, guajakol peroksidaz, ve glutatyon redüktaz aktivitelerinde artışlar bulunmuşken, katalaz aktivitelerinde azalmalar olduğu belirlenmiştir. Ayrıca enzimatik olmayan antioksidanlardan askorbat miktarlarında da artan NaCl derişimi ile birlikte artışlar olduğu bulunmuştur.

Meloni ve ark. (2003) iki farklı pamuk varyetesinde (Guazuncho ve Pora) NaCl (50, 100 ve 200 µM NaCl) stresinin antioksidan enzimlerden SOD, peroksidaz ve GR aktivitelerine, lipid peroksidasyonuna ve klorofil miktarlarına etkilerini araştırmışlardır. Pora varyetesinde SOD aktivitesi artan tuzlulukla artarken,

Guazuncho varyetesinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Peroksidaz aktivitesi her iki varyetede benzer özellikler göstermiştir. Pora varyetesinde GR aktivitesi %53 oranında artmış, Guazuncho varyetesinde ise herhangi bir değişim gözlenmemiştir. NaCl stresinin sonucu olarak Guazuncho varyetesinde klorofil miktarlarında önemli düzeylerde azalmalar bulunmuştur.

Kafi ve ark. (2003) farklı NaCl derişimleri (0, 100, 200 ve 300 mM) etkisinde bıraktıkları tuza tolerant ve tuza hassas buğday çeşitlerinde prolin ve karbohidrat miktarlarını araştırmışlardır. Prolin ve karbohidrat miktarlarının buğday çeşitleri ve bitkilerin kısımları arasında dikkate değer oranlarda farklılıklar gösterdiğini bulmuşlardır. 200 mM'a kadar tuz uygulaması bütün buğday çeşitlerinde toplam karbohidrat miktarlarında artışa neden olmuştur.

Sucul makrofitlerden *Ruppia maritima* L.'de yüksek tuzlu ortamlarda toplam karbohidrat miktarı kontrole göre % 65 oranında azalmış, çözülebilir karbohidrat miktarı ise % 34 oranında artmıştır (Murphy ve ark., 2003).

Mavi-yeşil alglerden *Anabaena* sp.'de sukroz ve fruktoz içeren oligosakkarit miktarlarının da artan tuzlukla birlikte arttığı rapor edilmiştir (Salerno ve ark., 2004).

Parida ve ark. (2004) farklı NaCl derişimlerinin (0, 100, 200 ve 400 mM) *Bruguiera parviflora*'da büyümeye, iyon akümülyasyonuna, fotosenteze ve yaprakların morfolojik yapılarına etkilerini araştırmışlardır. Bitkinin yaş ağırlığı, kuru ağırlığı ve yaprakların yüzey alanlarındaki genişleme 100 mM NaCl etkisinde maksimum olmuş, daha yüksek tuzlukta ise bu parametrelerde azalmalar bulunmuştur. Yaprakların Fe ve K içeriğinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Toplam klorofil miktarlarındaki maksimum azalış yaklaşık % 50 oranında 400 mM NaCl etkisinde bulunmuştur. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak yüksek derişimlerdeki tuzluluğun fotosentezi sınırlandırdığını belirtmişlerdir.

2.8.3. Ağır Metal - Tuz Etkileşimiyle İlgili Çalışmalar

Literatür araştırmaları sonucunda bitkilerde tuzlulukla ilişkili olarak ağır metal alınımı ve bunların kombine etkileriyle ilgili sınırlı sayıda araştırma yapıldığı anlaşılmıştır. Bu araştırmaların esas amaçları ise genelde tuzluluğun ağır metal alınımına etkileriyle ilgilidir.

Greger ve ark. (1995) bir sucul makrofit olan *Potamogeton pectinatus*'ta NaCl tuzluluğunun Cd alınımına etkilerini araştırmışlardır. Cd alınımının artan tuzlulukla birlikte azaldığı bulunmuştur. Sürgünlerdeki Na derişimi uygulanan Cd konsantrasyonlarıyla birlikte artarken, köklerde ise herhangi bir değişim olmamıştır. Cd ve Na ayrı ayrı ve kombine olarak denenmiş ve sonuçta bu stres etmenlerinden dolayı bitki büyümesinin baskılandığı bulunmuştur. Yüksek tuz ve/veya yüksek Cd konsantrasyonlarında kontrole göre daha kısa internot oluşmuştur. Ayrıca sürgünlerin taze ağırlıkları da azalmıştır. Kuru ağırlık/yaş ağırlık oranı ve kök ağırlığı/toplam bitki ağırlığı oranı tatlı suda ve düşük NaCl konsantrasyonlarında artarken, yüksek tuz konsantrasyonlarında ise azalmıştır.

Helal ve ark (1999) *Leucaena leucocephala*'da NaCl'nin Cd ve Zn alınımı ile büyümeye etkilerini araştırmışlardır. Bitkinin organlarında her iki metalin de akümülyasyonlarında farklıklar bulunmuştur. Kök ve yapraklarda Cd akümülyasyonu NaCl tarafından artırılmışken, gövdede azaltılmıştır. Benzer olarak Zn akümülyasyonu da kök ve yapraklarda artmış, fakat gövdede Zn NaCl tarafından azaltılmıştır.

Smykalova ve Zamecnikova (2003) arpa bitkisinde Cd ve NaCl stresi arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Cd-NaCl kombine stresindeki bitkilerin büyümesi şiddetli bir biçimde azalmıştır. Bu ikili stres koşullarında net fotosentez ve traspirasyonda azalmalar olmuştur. Ayrıca bitki kökleri tarafından Ca, Cd, Cu, K, Mg, Na ve Zn'nin alınımı da Cd-NaCl'li koşullarda etkilenmiştir.

Zea mays (mısır) ile yapılan bir araştırmada 0, 2.5, 5 ve 10 µM Cd ve 0, 10, 25, 50 ve 100 mM NaCl'nin fotosentez, büyüme ve element miktarlarına etkileri araştırılmıştır. Analiz sonuçlarına göre Cd ve NaCl uygulamaları büyümeyi olumsuz yönde etkilemiştir. Toplam çözülebilir karbohidrat ve nişasta miktarları Cd ve NaCl etkisinde azalmıştır. Benzer şekilde Ca, Mg ve K miktarlarının da Cd ve NaCl uygulamalarında azaldığı bulunmuştur. Klorofil miktarları Cd ve NaCl'nin farklı uygulamalarında azalmış iken Cd-NaCl etkileşiminde ise klorofil miktarlarında artışlar bulunmuştur. Genel olarak incelendiğinde, Cd-NaCl kombine uygulaması Cd ve NaCl'nin ayrı ayrı uygulamalarına göre daha az toksik etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Sepehr ve ark. 2003).

Mühling ve Lauchli (2003) tuza tolerant ve tuza hassas buğday çeşitlerinde NaCl-Cd etkileşiminin hücre içi ve hücreler arası alanlardaki fizyolojik etkilerini araştırmışlardır. Hücreler arası sıvı ile kıyaslandığında 75 mM NaCl etkisinde bırakılan buğday yapraklarının hücre içinde düşük Na miktarı ölçülmüştür. NaCl, tuza hassas çeşidin yapraklarında yüksek Cd alınımına neden olmuştur. Askorbat peroksidaz aktivitesi tuza hassas çeşitte Cd-NaCl kombine stresinde artmıştır. Araştırmacılar Cd ve NaCl etkileşiminin hassas türde yüksek oranlarda reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olduğu sonucunu çıkarmışlardır.

Fritioff ve ark. (2004) *Elodea canadensis* ve *Potamogeton natans*'da 1.5 μ M Cu, 1 μ M Cd, 20 μ M Zn ve 4 μ M Pb'nin akümülayonu üzerine farklı tuzluluk derişimleri (% 0.0, % 0.05 ve % 0.5) ve farklı sıcaklık dereceleri (5, 11 ve 20 °C)'nin etkilerini araştırılmışlardır. Test edilen makrofitlerde metallerin akümülayonları türe, sıcaklığa ve tuzluluğa göre farklılıklar göstermiştir. *E. canadensis*'de 1.5 μ M Cu, 1 μ M Cd, 20 μ M Zn ve 4 μ M Pb etkisinde kuru ağırlık, yaş ağırlık ve kuru ağırlık/yaş ağırlık oranı artan sıcaklıkla artarken artan tuzlulukla azalmıştır. *P. natans*'ta ise bu parametreler genelde artan sıcaklıkla azalırken artan tuzlulukla genelde artmıştır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Ceratophyllum demersum L. (tilki kuyruğu) submers (su altı) çok yıllık bitkidir (Şekil 3.1.). Çatallı koyu yeşil yapraklar ile kaplı sert sarmal dallı bir gövdeye sahiptir. Yapraklar bazen kireç ile kaplı olup bu da onlara kırılğan bir yapı kazandırır. Gövde uçlarında kalın ve çalı tarzı yaprak gelişimi görülür. Besin açısından zengin sularda, bu makrofit çamura sıkıca tutunmuş ya da yüzeye yakın serbestçe yüzen yoğun koloniler oluşturma eğilimindedir. Makrofitin sistematigi Çizelge 3.1.'te verilmiştir.

Köksüzdür. Yüzey altında serbestçe yüzer ya da bazen özellikle akarsuda modifiye yapraklar yoluyla tabana tutunur.

Kolayca kırılan ve serbest dallanan gövde 3-4 m uzunluğa ulaşabilir.

Yaprakları 1.5-4 cm uzunluğunda, tek kenarlı küçük dişlere sahip yassı ya da lineer 2 (bazen 4) çatala ayrılırlar. Yapraklar genelde sert ya da kırılğandır. Gövde ucunda yoğunlaşan 5-12 yapraklı sarmallar halinde düzenlenirler.

Küçük, su altı çiçekleri yaprak tabanında lokalize olurlar. Petaller küçük yeşil yapılardır. Erkek ve dişi çiçekler aynı bitkide ayrı ayrı meydana gelirler. Erkek çiçekler gövdenin karşılıklı bölümlerinde çiftler halinde oluşurken, dişi çiçekler yalnızdır. Haziran-Eylül'de çiçeklenme olur.

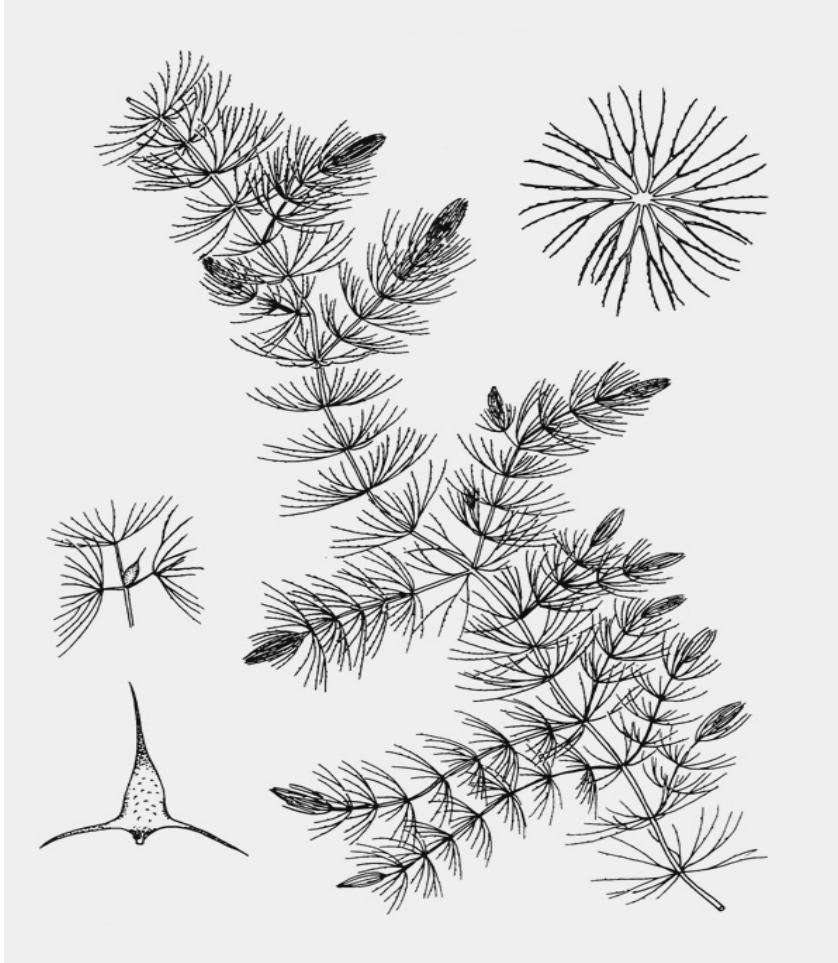
Küçük (4-7 mm), sert, tek tohumlu, yumurta şekilli meyve 3 uzun dikene (spine) sahiptir (12 mm; meyve ucunda 1 ve tabanda 2).

Tohum ve bitki parçalarıyla çoğalırlar.

Göllerde ve yavaş akan dere ve ırmaklarda yaşarlar. Sert suya (yüksek kalsiyum miktarı) ve düşük ışık düzeyine toleranslıdırlar.

Bitki genç balıklar, küçük su hayvanları ve su böcekleri için önemli bir yaşam ortamı sağlar. Bazı su kuşları tohumları ya da yaprakları yer, ancak tilki kuyruğu önemli bir besin kaynağı olarak düşünülmez.

(www.ecy.wa.gov/programs/wq/plants/plantid2/descriptions/cerdem.html).



Şekil 3.1. *C. demersum*'un morfolojik kısımları.
(<http://aquat1.ifas.ufl.edu/cerdem2.jpg>).

Çizelge 3.1. *C. demersum*'un sistematığı.

Alem	: Plantae
Bölüm	: Magnoliophyta (Angiospermiler; Çiçekli bitkiler)
Sınıf	: Magnoliopsida (Dikotiledonlar)
Altsınıf	: Magnoliidae
Takım	: Nymphaeales
Familya	: Ceratophyllaceae
Cins	: <i>Ceratophyllum</i>
Tür	: <i>C. demersum</i> L. (Tilki kuyruğu)

Çalışmada kullanılan *C. demersum* çevremizdeki sulak alanlarda geniş yayılım göstermektedir. Araştırma materyalleri Adana ili Seyhan Baraj Gölü çıkışında (Dilberler Sekisi civarı) belirlenen istasyonlardan toplanmıştır.

3.1.2. Stres Uygulanma Çözeltileri

Araştırmada kullanılan Cd ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; Merck), NaCl NaCl (Merck) ve bunların kombinasyonları Çizelge 3.2'deki derişimlerde hazırlanmıştır.

Çizelge 3.2. *C. demersum*'a uygulanan Cd, NaCl ve bunların kombinasyonları.

Uygulama		
Cd ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	NaCl (mM)	Cd ($\mu\text{g mL}^{-1}$)+ NaCl (mM)
Kontrol	Kontrol	Kontrol
0.01	20	0.01+20
0.1	40	0.1+40
1.0	80	1.0+80

3.1.3. Besin Çözeltisi

Araştırmada kullanılan besin çözeltisi Arnon ve Hoagland (1940)'a göre hazırlanmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Deney Ortamı ve Düzenegi

Araştırmaya başlamadan önce makrofitler iki hafta boyunca araştırma ortamında adaptasyona bırakılmıştır. Makrofitlerin yerleştirilmesi için 1 litrelik plastik pet şişeler kullanılmıştır. Bunlar dikkatli bir şekilde seyreltik HCl ile yıkanmış ve saf sudan geçirilmiştir.

Kadmiyum, NaCl ve bunların kombinasyonları Çizelge 3.2.'deki derişimlerde hazırlanmış ve besin çözeltisi her şişeye %10'luk olacak şekilde ilave edilmiştir. Bitkiler her şişeye 14-16 gram sağlıklı bitki gelecek şekilde yerleştirilmiştir. *C. demersum* bitkileri 16 saat ışık (yaklaşık 6000 lux) periyodunda 25-27 °C'de yetiştirilmiştir. Makrofit nötre yakın pH'larda iyi geliştiği için (Saygıdeğer ve ark., 2004) test çözeltilerinin başlangıç pH'ları 6.5-6.7 düzeylerine ayarlanmıştır. Test

çözeltileri 48 saat sonunda değiştirilmiştir. Çalışmalar üç tekrarlı olarak çalışılmıştır. Deney süresince günlük morfolojik gözlemler kaydedilmiştir.

Makrofitler 96 saat sonunda hasat edilmiş ve dikkatli bir biçimde distile su ile yıkanmıştır. Uygulama periyodu sonunda makrofit dokularındaki Cd, N, Na, Zn, Cu, Fe, K ve P miktarını belirlemek için bitki organları 80 °C’de sabit ağırlığa ulaşana değin etüvde kurutulmuştur.

Deney periyodu bitiminde *C. demersum*’un fotosentetik pigment (klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid), askorbik asit (indirgenmiş ve toplam), serbest prolin, protein, malondialdehit, sistein, toplam karbohidrat, glukoz, toplam fenolik bileşikler ve –SH grup miktarları ise taze örneklerde belirlenmiştir.

3.2.2. Fotosentetik Pigment Analizi

Yıkanmış taze makrofit yapraklarından 100 mg alınmıştır. Örnekler porselen havanda 1-2 mL % 80’lik aseton ile yapraktan tüm klorofil alınincaya kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra ekstraktın son hacimi 10 ml olacak şekilde % 80’lik asetonla tamamlanmış ve 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Klorofil a için 662 nm, klorofil b için 645 nm ve karotenoid için 470 nm’de Shimatzu UV mini tip spektrofotometrede asetona karşı (tanık) okunmuştur. Klorofil a, klorofil b ve karotenoid hesaplamaları Lichtentaler ve Wellburn (1985)’e göre aşağıdaki formüller kullanılarak yapılmıştır.

$$\text{Klorofil}_a = 11.75A_{662} - 2.35A_{645}$$

$$\text{Klorofil}_b = 18.61A_{645} - 3.96A_{662}$$

$$\text{Karotenoid} = 1000A_{470} - 2.27 \text{ Klorofil}_a - 81.4 \text{ Klorofil}_b / 227$$

3.2.3. Serbest Prolin Tayini

Makrofitteki serbest prolin miktarları Bates ve ark. (1973)’lerinin saptadıkları yönteme göre belirlenmiştir.

Taze makrofit materyalinin 0.5 g’ı tartılmış ve % 3’lük 5 mL sülfosalisilik asit kullanılarak havanda homojenize edilmiştir. Homojenizat mavi bant filtre kağıdından süzölmüştür. Filtratın 2 ml’si 2 mL asit-ninhidrin ve 2 mL glasiyel asetik asitle test tüpünde karıştırılmıştır. Bu karışım 100 °C’de 1 saat su banyosunda

bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüpler alınarak buz içerisine sokulmuş ve reaksiyon sonlandırılmıştır. Reaksiyon karışımı 4 mL tolüen ile ekstrakte edilmiş ve 15-20 saniye tüp karıştırıcıda (vorteks) çalkalanmıştır. Tolüen içeren renkli sıvı oda sıcaklığında bekletilmiş ve 520 nm dalga boyunda Shimadzu UV mini tip spektrofotometrede tolüen bir tanık olarak kullanılarak okunmuştur. Bitki dokularındaki prolin miktarları ($\mu\text{mol/g}$ taze ağırlık) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Prolin} = [(\mu\text{g prolin/mL} \times \text{tolüen}) / 115.5 \mu\text{g} / \mu\text{mol}] / [(g \text{ örnek}) / 5]$$

3.2.4. Askorbik Asit Analizi

Askorbik asit tayini Cakmak ve Marschner (1992)'e göre yapılmıştır. 0.5 gram taze makrofit materyali 5 ml % 5'lik meta-fosforik içinde homojenize edilmiştir. Homojenizat 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan (üste kalan sıvı) 400 μl alınmış ve üzerine 1 ml fosfat tamponu (pH 7.4) eklenmiştir. Bundan sonraki işlemler 2 seri ve 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Toplam askorbat için işlemler aşağıdaki gibi yapılır:

- Hazırlanan örneğin üzerine 200 μl DTT eklenir ve karıştırılarak 15 dakika bekletilir.
- Bunun üstüne 200 μl NEM eklenir.
- 800 μl % 10'luk TCA eklenir.
- Üzerine 800 μl % 44'lük orto-fosforik asit eklenir.
- 800 μl % 4'lük 2,2 Bipiridin eklenir.
- Son olarak 400 μl % 3'lük $\text{FeCl}_6\text{H}_2\text{O}$ eklenerek 50 dakika 40 °C'de inkübasyona bırakılır.

Redükte askorbat için ise işlemler aşağıdaki gibi yapılmıştır:

- Hazırlanan örneğin üzerine 400 μl saf su eklenir.
- Üzerine 800 μl % 10'luk TCA eklenir.
- Üzerine 800 μl % 44'lük orto-fosforik asit eklenir.
- 800 μl % 4'lük 2,2 Bipiridin eklenir.
- Son olarak 400 μl % 3'lük $\text{FeCl}_6\text{H}_2\text{O}$ eklenerek su banyosunda 50 dakika 40 °C'de inkübasyona bırakılır.

Sıcak su banyosundan çıkarılan örnekler karıştırılarak 525 nm de okunmuştur. Standartlar L-askorbik asitle hazırlanmıştır.

3.2.5. Protein Olmayan –SH Grupların Belirlenmesi

Protein olmayan –SH grupların belirlenmesi Cakmak ve Marschner (1992)’e göre belirlenmiştir. 0.5 gram taze makrofit materyali 5 ml % 5’lik meta-fosforik içinde homojenize edilmiştir. Homojenizat 15.000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Üste kalan çözeltiden (süpernatant) 500 µl alınmış ve üzerine 2.5 ml fosfat tamponu (pH 7.4) eklenmiştir. Son olarak 0.5 ml DTNB eklenmiş ve karıştırılmıştır. 20 dakika inkübasyondan sonra hazırlanan örnekler standartlara karşı 412 nm de okunmuştur.

3.2.6. Lipid Peroksidasyonu Belirlenmesi

C. demersum dokularındaki lipid peroksidasyonun belirlenmesi Hodges ve ark. (1999)’na göre yapılmıştır.

0.5 gram taze makrofit dokusu % 80’lik etil alkolde homojenize edilmiş ve 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Analiz iki aşamada yapılmıştır. Birinci aşamada santrifügattan alınan 1 hacim ekstrakt üzerine 1 hacim % 20’lik TCA ve 1 hacim % 0.01’lik BHT eklenmiştir. İkinci aşamada ise santrifügattan alınan 1 hacim ekstrakt üzerine 1 hacim % 0.65’lik TBA içeren % 20’lik TCA ve bunun üzerine 1 hacim % 0.01’lik BHT eklenmiş ve örnekler karıştırılmıştır. Daha sonra sıcak su banyosunda (95 °C) 25 dakika inkübe edilmiş ve ardından şok soğutma yapılmıştır. Bu örnekler tekrar santrifüj edilmiş ve birinci aşama örnekleri 532 ve 600 nm’de, ikinci aşama örnekleri ise 532, 600 ve 440 nm’de absorbans okumaları yapılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır:

$$A = [(ABS_{532+TBA}) - (ABS_{600+TBA}) - (ABS_{532-TBA}) - (ABA_{600-TBA})]$$

$$B = [(ABS_{440+TBA} - ABS_{600+TBA}) \times 0.0571]$$

$$\text{mmol MDA ml}^{-1} = (A - B / 157\,000) \times 10^6$$

3.2.7. Protein Analizi

Protein analizi Lowry ve ark. (1951)'nin saptadıkları yönteme göre yapılmıştır.

0.5 gram taze makrofit materyali 5 mL 0.1 M fosfor tamponunda (pH 7.0) homojenize edildikten sonra 12.800 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 0.3 mL alınmış, üzerine 3 mL alkali çözelti ilave edilip 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonra 0.3 mL Folin-Ciocalteu ayırıcı eklenerek 30 dk. oda sıcaklığında bekletilmiş ve absorbans 750 nm dalga boyunda okunmuştur. Aynı işlem 0.3 mL saf su kullanılarak tanık için de uygulanmıştır. Standart eğri çizimi için de aynı yöntem farklı derişimlerde hazırlanan yumurta albumini çözeltileri kullanılarak yapılmıştır.

3.2.8. Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi

C. demersum dokularındaki fenolik bileşiklerin belirlenmesi Ratkevicius ve ark. (2003)'na göre belirlenmiştir. 0.5 gram taze makrofit materyali tartılmış ve 5 ml 0.1 M fosfor tamponunda (pH 7.0) homojenize edilmiştir. Homojenizat 12.800 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Sonra süpernatanttan 50 µL alınarak son hacim 1 mL olacak şekilde % 3'lük sodyum karbonat ve 0.3 N Folin-Ciocalteu eklenerek oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra bu örnekler 765 nm'de okunmuştur. Sonuçlar gallik asit standart derişimleri ile absorbansları arasındaki doğrusal ilişki kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.9. Toplam Karbohidrat Analizi

C. demersum dokularındaki toplam karbohidrat analizleri Dubois ve ark. (1956)'na göre belirlenmiştir.

Örneklerin homojenizasyonu ve analize hazırlanması Prado ve ark. (2000)'na göre yapılmıştır. Hazırlanan örneklerden 0.4 ml alınmış ve üzerine 2 ml konsantre sülfürik asit ile 0.4 ml % 5'lik fenol koyulmuştur. Örnekler 10 dakika oda sıcaklığında, daha sonra 20 dakika 30 °C'de bekletilmiş ve 490 nm'de okunmuştur.

Sonuçlar glukoz standart derişimleri ile absorbansları arasındaki doğrusal ilişki kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.10. Glukoz Analizi

C. demersum dokularındaki glukoz miktarları Miller (1956) tarafından saptanan yöntemle göre belirlenmiştir.

Örneklerin homojenizasyonu ve analize hazırlanması Prado ve ark. (2000)'na göre yapılmıştır. Hazırlanan örnekten 3 mL alınmış ve üzerine 3 mL dinitro salisilik asit belirteci konmuş ve karıştırılmıştır. Sıcak su banyosunda 90 °C'de 5-15 dakika arasında bekletilen örneklere 1 mL % 40'lık sodyum potasyum tartarat eklenmiş, örnekler buzlu suda şok soğutulmuş ve spektrofotometrede 575 nm'de okunmuştur. Sonuçlar glukoz standart derişimleri ile absorbansları arasındaki doğrusal ilişki kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.11. Sistein Analizi

Makrofit dokularının sistein miktarları Gaitonde (1967)'ye göre saptanmıştır.

Taze makrofit materyalinin 0.5 g'ı tartılmış ve 5 mL 0.1 M fosfor tamponunda (pH 8.0) homojenize edilmiştir. Homojenizat 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 120 µL alınarak üzerine 120 µL DTT eklenmiştir. 240 µL asetik asit ve 240 µL asit-ninhidrin eklendikten sonra örnekler 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. 1680 µL soğuk etanol eklendikten sonra örnekler 95 °C'de 10 dakika bekletilmiştir. İnkübasyon süresi bitiminde şok soğutma yapılmış ve örnekler 560 nm'de spektrofotometrede okunmuştur. Dokuların sistein miktarları sistein standartları ile absorbansları arasındaki doğrusal ilişkiden hesaplanmıştır.

3.2.12. Makrofit Dokularının Element Miktarlarının Belirlenmesi

3.2.12.1. Toplam Azot Tayini

Toplam azot tayini Mikro-Kjeldahl metoduna göre yapılmıştır (Kaçar, 1972).

- 0.1-0.5 g arasında kuru bitki tartılarak iyice öğütülür.

- 250 ml'lik Kjeldahl balonuna konulup üzerine 25 mL salisilik asit içeren sülfürik asit eklenmiştir. Çalkalanarak bitkinin tamamen asitle ısıtılarak sağlanır. En az 1 gün ağzı sıkıca kapatılarak bekletilmiştir. Sülfürik asit ile bitki numunelerinin yakılmaları anında nitrik asit halinde buharlaşmak suretiyle nitrat kaybı kendini gösterir. Bunu önlemek için konsantre H_2SO_4 içine bir miktar salisilik asit ilave edilmiştir. Salisilik asit indirgeyici bir madde görevini görür. Şöyle ki; asit ortamda içinde, salisilik asit nitratlarla reaksiyona girerek nitro-salisilik bileşiklerini meydana getirir. Daha sonra bu nitro bileşikleri sodyum tiyosülfat veya çinko tozu kullanılarak yakmaya başlamadan önce bir süre ısıtmak suretiyle redüksiyona uğratarak amino bileşikleri haline dönerler.

- Bunun üzerine 4-5 g Sodyum tiyosülfat ilave edilmiş ve düşük alevde aşağı yukarı 5 dakika ısıtılmıştır. Zaman zaman balon çevrilerek beyaz dumanların uzaklaşması sağlanmış ve soğumaya bırakılmıştır.

- Çözelti soğuduktan sonra spatülle bir miktar tuz karışımı (0.5 g $CuSO_4$ + 9.5 g K_2SO_4) ilave edilmiştir.

- Bitki örneği dikkatlice yavaş yavaş ısıtılmış, köpürme bitene kadar ısıtmaya kısık ateşte devam edilmiştir. Daha sonra ısı yavaş yavaş arttırılmıştır.

- Çözelti rengi sarı ya da açık gri renk aldıktan sonra en az 0.5-1 saat daha aynı şekilde yakmaya devam edilmiştir.

- Çözelti soğutulmuş, 100 mL'lik balon jojeye aktarılmıştır. Kjeldahl balonu birkaç defa saf su ile yıkanarak, süzük balon jojeye aktarılmış ve son hacim hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

- 150 ml'lik behere 25 mL standart % 2'lik Borik asit çözeltisi konmuş ve içine birkaç damla indikatör damlatılmıştır. Bu çözeltiye Mikro-Kjeldahl düzeneğinin soğutucu ucu batacak şekilde yerleştirilmiştir.

- 100 ml olarak hazırlanmış çözeltilerden 20 mL alınıp Mikro-Kjeldahl düzeneğinin balonuna aktarılmıştır.

- 10 N derişik NaOH'ten 30 mL alınarak sistemin açık vanasından yavaş yavaş balona aktarılmıştır.

- Balon yavaş yavaş ısıtılarak 100 mL'ye kadar destilatın toplanması sağlanmıştır.

- Reaksiyona girmemiş asidin fazlası standart H_2SO_4 ile çözelti rengi sarı olana kadar titre edilmiştir.

- Geri titrasyon miktarına göre yapılan hesaplamayla bitkideki toplam azot miktarı hesaplanmıştır.

- Makrofit dokularını toplam azot miktarları aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$(T - B) \times n \times 1.4 / S = \% \text{ Toplam N örnekte}$$

Burada:

T = Örnekte, borik asidin geri titrasyonunda kullanılan H_2SO_4 miktarı (mL).

B = Tanıkta, borik asitin geri titrasyonunda kullanılan H_2SO_4 miktarı (mL).

n = H_2SO_4 normalitesi

S = Analiz edilen örnek miktarı.

3.2.12.2. Cd, Cu, Mn, Zn, Fe, Na ve K Miktarlarının Belirlenmesi

Makrofit dokularının Cd, Fe, Zn, Mn, Cu, K ve Na miktarlarını belirlemek için yaş yakma metodu kullanılmıştır.

- Kurutulmuş öğütülmüş örnekler tartılıp 50 mL'lik erlene konmuştur.

- Üzerine 10 ml konsantre HNO_3 ilave edilmiştir.

- Erlenlerin ağzı balonla kapatılıp oda sıcaklığında birkaç gün bekletilmiştir.

- Erlenler daha sonra ısı ayarlanabilen hot plate üzerinde düşük ısıda renkli buharlar kayboluncaya kadar yavaş yavaş ısıtılmıştır. Daha sonra ısı biraz yükseltilmiştir.

- Erlenlerin üzerindeki balonlar alınmıştır.

- Tortu kalıncaya kadar yavaş yavaş buharlaştırılmıştır.

- Erlenlere 10 ml HCl ilave edilerek aynı işlem yenilenmiştir.

- Örneklerin tümü buharlaştıktan ve dipteki tortu kuruduktan sonra erlene konan 0.5-1 gr örnek için 1 N'lik HCl ile sulandırılmıştır.

- Sulandırılan örneklerden Cd, Fe, Zn, Mn, Cu atomik absorpsiyon spektrofotometresinde K ve Na ise alev fotometrede okutulmuştur.

Dokulardaki element derişimlerini saptamak için elementlerin standartları ile absorbanları arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren regresyon eğrisi kullanılmıştır.

3.2.12.3. Fosfor Tayini

Makrofit dokularının P miktarlarının belirlenmesi Olsen ve Watanabe (1957)'ye belirlenmiştir.

- Kurutularak öğütülmüş örnekler tartılıp 50 mL'lik erlene konmuştur.
- Üzerine 10 ml konsantre HNO₃ ilave edilmiştir.
- Erlenlerin ağzı balonla kapatılıp oda sıcaklığında birkaç gün bekletilmiştir.
- Erlenler daha sonra ısısı ayarlanabilen hot plate üzerinde düşük ısıda renkli buharlar kayboluncaya kadar yavaş yavaş ısıtılmıştır. Daha sonra ısı biraz yükseltilmiştir.
- Erlenlerin üzerindeki balonlar alınmıştır.
- Tortu kalıncaya kadar yavaş yavaş buharlaştırılmıştır.
- Erlenlere 10 ml HCl ilave edilerek aynı işlem yenilenmiştir.
- Örneklerin tümü buharlaştıktan ve dipteki tortu kuruduktan sonra erlene konan 1 gr örnek için 1 N'lik 10 ml HCl ile sulandırılmıştır.
- Bu çözeltiden 5 mL alınarak 2 mL molibdofosforik asit eklenmiş ve mavi renk oluşumu için 15 dakika bekletilmiştir.
- Mavi renkli çözeltiler UV spektrofotometrede 882 nm'de okunmuştur.
- Sonuçlar alet okumasının sulandırma faktörüyle çarpımı yoluyla hesaplanmıştır.

3.2.13. İstatistiksel Analizler

Bu araştırmada tanımlanmış gruplar arasında fark var mıdır hipotezi test edilmiştir. Bu amaçla $\alpha = 0.05$ alınmıştır.

Kurulan hipotezde:

H₀: Gruplar arasında fark yoktur.

H₁: En az bir grup diğerlerinden farklıdır.

Bu hipotezler SPSS (SPSS 11.0 for Windows) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Analizler sonucunda H₀ hipotezi reddedilmiştir. Çünkü gruplardan en az biri farklı bulunmuştur. Hangi grubun ya da grupların farklı olduğunu belirlemek amacıyla One-Way ANOVA LSD testi uygulanmıştır.

Korelasyon Analizinde, bir ana kütleden seçilmiş en az iki veya daha fazla örnek grup alınarak, bu gruplar arasındaki etkileşmeye bir katsayı yardımıyla bakılır.

Korelasyon katsayısı, değişkenlerin yönü, etkileşimlerin nasıl olduğu hakkında bilgi verir. Değişkenlerin birbiri arasındaki etkileşim var mı, varsa etkileşimin çok fazla mı yani kuvvetli mi olduğu ve gözlem gruplarından birinin gözlem değerleri artarken diğerinin azalıyor mu yoksa aynı yönde mi değerleri değiştiği gözlemlenebilir.

Korelasyon katsayısı (r) basit olarak -1 ile 1 değerleri arasında değişen ve bağımsız değişkenler hakkında kısaca bilgi veren bir değerden oluşmaktadır. Korelasyon katsayısı 0-0.49 arasında ise korelasyon zayıf, 0.5-0.74 arasında ise orta derecede, 0.75-1 arasında ise kuvvetli ilişki vardır denilmektedir. Katsayı, etkileşimin olmadığı durumda 0, tam ve kuvvetli bir etkileşim varsa 1, ters yönlü ve tam bir etkileşim varsa -1 değerini alır.

Korelasyon analizleri (Pearson; two tailed) *C. demersum*'un akümüle ettiği Cd ve/veya Na ile makrofitte analiz edilen diğer parametreler arasında SPSS (SPSS 11.0 for Windows) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

Stres faktörlerinin doz belirleme çalışmaları sonucunda Cd için 0, 0.01, 0.1 ve 1.0 mg L⁻¹'lik ve NaCl için 0, 20, 40 ve 80 mM dozların kısa süreli çalışmamız için uygun olduğu belirlenmiştir. Bu faktörlerin ayrı ayrı uygulanmaları sonucunda her iki etmenin de etkilerinin gözlenmesinden dolayı makrofitin 96 saat sonu itibariyle hasat edilebileceği yapılan ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Benzer şekilde Cd+NaCl kombinasyonları için de ön denemeler yapılmıştır. Ancak 1 mg L⁻¹ Cd + 80 mM NaCl kombinasyonundaki makrofitler 24 ile 36. saatler arasında öldüğünden dolayı herhangi bir analiz yapılmamıştır. Araştırmada denenen ayrı ayrı Cd ve NaCl derişimleri uygun dozlar olarak belirlendiği için bu kombinasyona alternatif bir konsantrasyon denemesi yapılmamıştır.

4.1. Morfolojik Gözlemler

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkisinde bırakılan *C. demersum*'a ait morfolojik gözlemler Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelgede 1 mg Cd L⁻¹ + 80 mM NaCl'ye ait gözlemler 24 ile 36. saatler arasında, diğer derişimler ve kombinasyonlara ait gözlemler ise 96 saat boyunca yapılan gözlemlerdir.

C. demersum parçalı yapraklı olup kontaminatlarla bütün yüzeyi ile doğrudan etkileşir. Bu türde stres veya streslerin etkilerinin gözlenebilecek en önemli parametreleri doku yumuşaması, yaprak dökümü ve renk değişimidir.

Kontroldeki bitkiler deney koşullarında çok sağlıklı gelişmişlerdir. Bu makrofitlerde doku yumuşaması, renk değişimleri ve yaprak dökümü (normal yaprak dökümü hariç) gözlenmemiştir. Salt Cd uygulamalarında renk değişimleri incelendiğinde yalnız 1 mg L⁻¹'lik derişimdeki bitkilerin dokularındaki canlı yeşil görünümünde kısmi matlaşmalar olduğu belirlenmiştir. Bu gözlemlere 80 mM NaCl uygulamalarında da rastlanmıştır. Cd+NaCl kombine etkisindeki makrofitlerde ise özellikle 1 mg Cd L⁻¹ + 80 mM NaCl'lik derişimlerde bu soluk yeşilimsi renk 24 saat sonunda gözlenmiştir.

Çizelgede görüldüğü gibi yaprak dökümü Cd ve Cd+NaCl uygulamalarında artan derişimle birlikte artış göstermiştir. NaCl uygulamalarında ise 20 mM'lık

derişimlerde tuz stresinden kaynaklanan herhangi bir yaprak dökümünün olmadığı gözlenmiştir.

Yapılan ön denemeler sonucu ve gözlemlerimize dayanarak bu makrofittte stresin en son göstergesinin dokularda yumuşama olduğunu söyleyebiliriz. Kırılgan bir yapıya sahip olan *C. demersum*'un özellikle 1 mg L⁻¹ Cd, 80 mM NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonunun 1 mg Cd L⁻¹ + 40 mM NaCl'li derişimlerinde stres koşullarının tam anlamıyla oluştuğu gözlemler sonucunda kaydedilmiştir.

Çizelge 4.1. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'a ait morfolojik gözlemler.

Uygulama	Derişim	Doku yumuşaması	Yaprak dökümü	Renk değişimi
Cd (µg ml ⁻¹)	Kontrol	-	-	-
	0.01	-	+	-
	0.1	-	++	+
	1.0	+	+++	++
NaCl (mM)	Kontrol	-	-	-
	20	-	-	-
	40	-	+	-
	80	+	++	+
Cd+NaCl (µg ml ⁻¹)+(mM)	Kontrol	-	-	-
	0.01+20	-	+	-
	0.1+40	+	++	+
	1.0+80	+++	+++	+++

(+++ : Fazla, ++ : Orta, + : Az, - : Yok).

4.2. *C. demersum* Dokularındaki Element Derişimleri

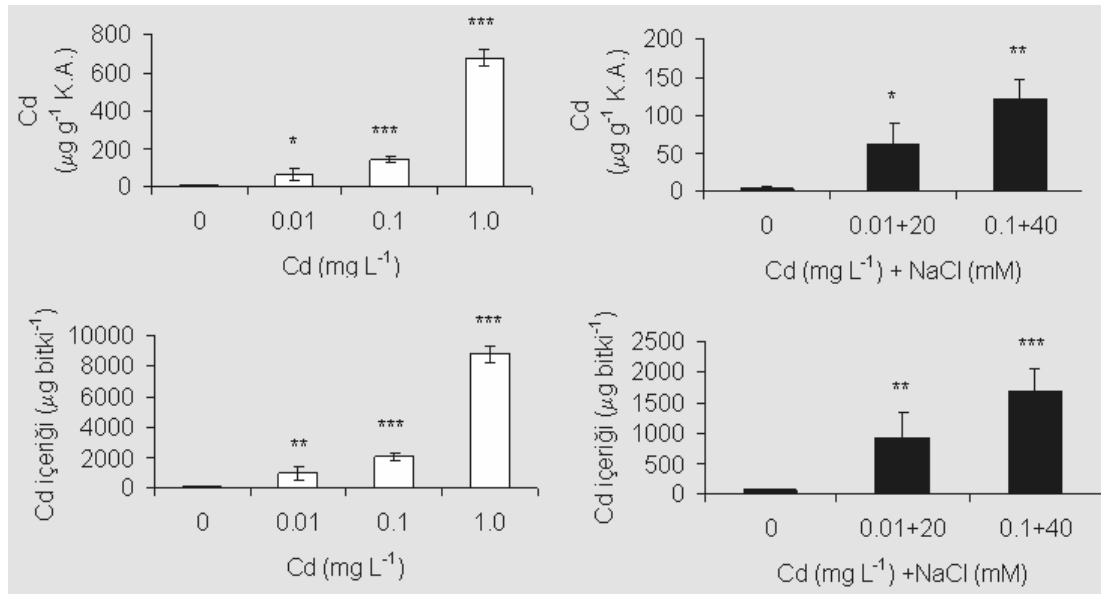
4.2.1. Kadmiyum Derişimi

Kadmiyum ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde 96 saat boyunca bırakılan *C. demersum* dokularındaki kadmiyum derişimleri, Cd standartlarıyla absorbanslarına ait regresyon denkleminde ($y=0.1084x+0.004$) hesaplanmış ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

Makrofit dokularındaki Cd derişimlerinde kontrole göre önemli artışlar bulunmuştur. *C. demersum*'un 0.01, 0.1 ve 1.0 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerde makrofit dokularındaki Cd derişimleri kontrole göre sırasıyla 15.4 (P<0.05), 33.5 ve 160.0 (P<0.001) kat arttığı hesaplanmıştır.

Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofit dokularında da artan Cd derişimiyle birlikte önemli miktarlarda artışlar bulunmuştur. Bu artışlar 0.01+20 ve 0.1 mg Cd L⁻¹ +40 mM NaCl etkisinde kontrole göre sırasıyla 14.4 (P<0.05) ve 28.1 (P<0.01) kat olmuştur.

Cd ve Cd+NaCl uygulamalarında makrofitin Cd içeriklerinde önemli artışların olduğu bulunmuştur. En yüksek kadmiyum içeriklerinin yalnız Cd uygulaması için 1 mg L⁻¹'de, etkileşimli derişimler için 1 mg Cd L⁻¹+40 mM NaCl'de hesaplanmıştır.



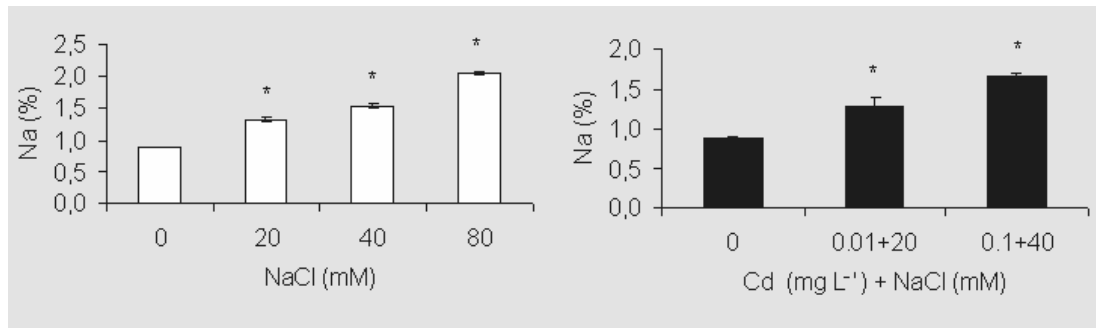
Şekil 4.1. Cd ve Cd+NaCl etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki Cd derişimleri ve içerikleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001).

4.2.2. Sodyum Derişimi

NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde 96 saat boyunca bırakılan *C. demersum* dokularındaki Na derişimleri Şekil 4.2'de verilmiştir.

Test edilen salt NaCl ve Cd+NaCl’li derişimdeki makrofit dokularında artan tuz derişimi ile birlikte önemli artışlar olduğu bulunmuştur. 20, 40 ve 80 mM NaCl’li derişimlerinde dokulardaki Na derişimi kontrole göre sırasıyla 1.49, 1.73 ve 2.31 ($P<0.001$) kat artmıştır.

Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofit dokularında da artan NaCl derişimiyle birlikte Na derişiminde önemli miktarlarda artışlar bulunmuştur. Bu artışlar 0.01+20 ve 0.1 mg Cd L⁻¹ + 40 mM NaCl etkisinde kontrole göre sırasıyla 1.45 ve 1.92 kat olmuştur.



Şekil 4.2. NaCl ve Cd+NaCl etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki Na derişimleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.001$).

4.2.3. Potasyum Derişimi

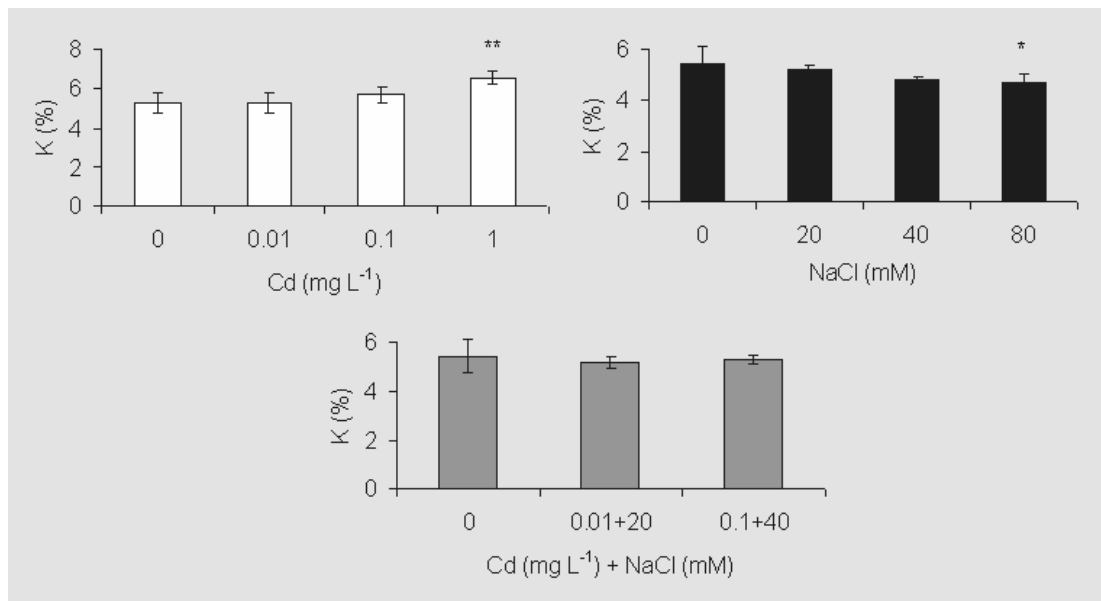
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularındaki K derişimleri Şekil 4.3'te verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin dokularındaki K artan Cd derişimiyle birlikte artmıştır. Bu artışların 0.01 ve 0.1 mg L⁻¹'lik Cd derişimlerde kontrole göre önemsiz olduğu ($P>0.05$), 1 mg L⁻¹'lik derişimde ise önemli olduğu hesaplanmıştır ($P<0.01$).

Kadmiyum stresinin aksine tuz stresli koşullarda denenen makrofitin K derişimi artan NaCl derişimi ile birlikte azalmıştır. Potasyum derişimindeki bu azalmalar 20 ve 40 mM'lık derişimde önemsiz bulunmuşken ($P>0.05$), 80 mM NaCl'li derişimde ise kontrole göre önemli olmuştur ($P<0.05$).

Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofit dokularında artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte istatistiksel olarak önemsiz azalmalar olmuştur.

Kadmiyum uygulamalarındaki bulgular ile yapılan korelasyon analizlerine göre dokuların Cd derişimleri ile K derişimleri arasındaki ilişkinin kuvvetli olduğu bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl'li şartlarda test edilen *C. demersum*'un Na derişimi ile K derişimi arasında orta düzeyli negatif bir ilişkinin olduğu hesaplanmıştır. Kadmiyum ve NaCl kombinasyonlu derişimlerde ise dokuların Cd ve/veya Na derişimleri ile K derişimleri arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulunamamıştır.



Şekil 4.3. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki K derişimleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

4.2.4. Fosfor Derişimi

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularındaki fosfor derişimleri, P standartları ile absorbanları arasındaki regresyon denkleminde ($y=0.6238x-0.0051$) hesaplanmış ve Şekil 4.4'de verilmiştir.

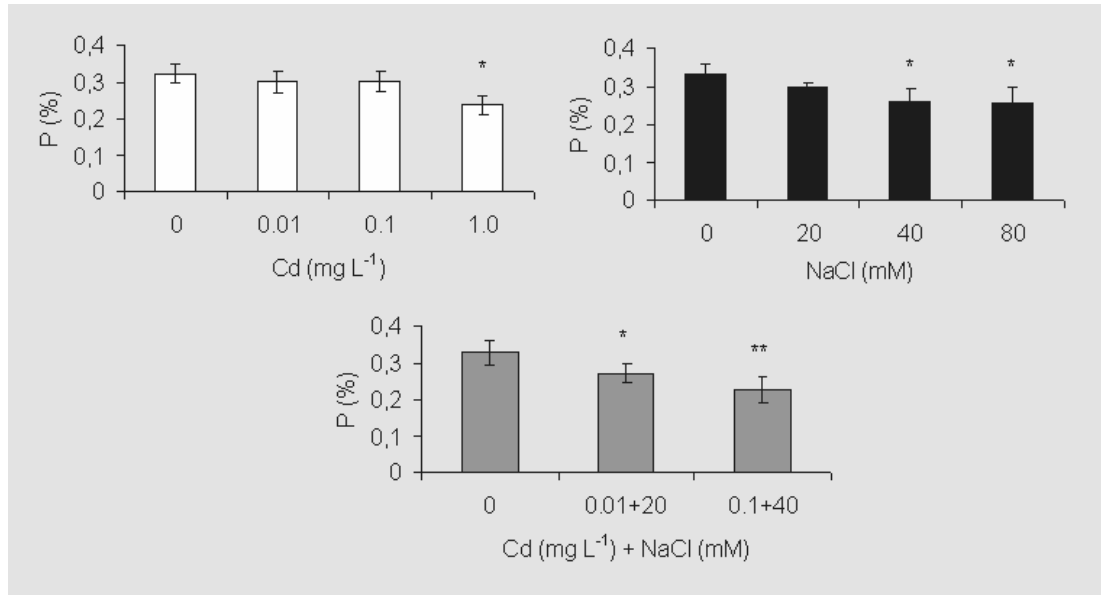
Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitin dokularındaki P miktarlarının artan Cd derişimiyle birlikte azalmıştır. Bu azalmaların 0.01 ve 0.1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerinde kontrole göre önemsiz olduğu ($P>0.05$), 1 mg L⁻¹'lik derişimde ise önemli olduğu hesaplanmıştır ($P<0.05$).

Tuz stresli koşullarda denenen makrofitin de P içeriğinin artan NaCl derişimi ile azaldığı bulunmuştur. Fosfor derişimindeki bu azalma 20 mM NaCl’de önemsiz bulunmuşken ($P>0.05$), 40 ve 80 mM NaCl’li derişimlerde ise kontrole göre önemli olmuştur ($P<0.05$).

Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofit dokularında artan Cd ve NaCl derişimleriyle P derişiminde azalmalar 0.01+20 ve 0.1+40 ($\text{mg Cd L}^{-1} + \text{NaCl mM}$)’lık etkileşimlerde önemli bulunmuştur.

Bulgular dikkate alındığında en yüksek P kontrol makrofitte, en düşük P içeriği ise ve 0.1 $\text{mg Cd L}^{-1} + 40 \text{ mM NaCl}$ ’li derişimde bulunmuştur.

Kadmiyum uygulamalarındaki bulgular ile yapılan korelasyon analizlerine göre dokuların Cd derişimi ile P derişimi arasındaki ilişkinin negatif ve kuvvetli olduğu bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl’li koşullarda test edilen *C. demersum*’un Na derişimleri ile P derişimleri arasındaki ilişkinin de negatif ve önemli olduğu hesaplanmıştır. Benzer şekilde Cd+NaCl kombinasyonlu derişimlerde dokularının Cd ve Na derişimleri ile P arasında negatif kuvvetli ilişki bulunmuştur.



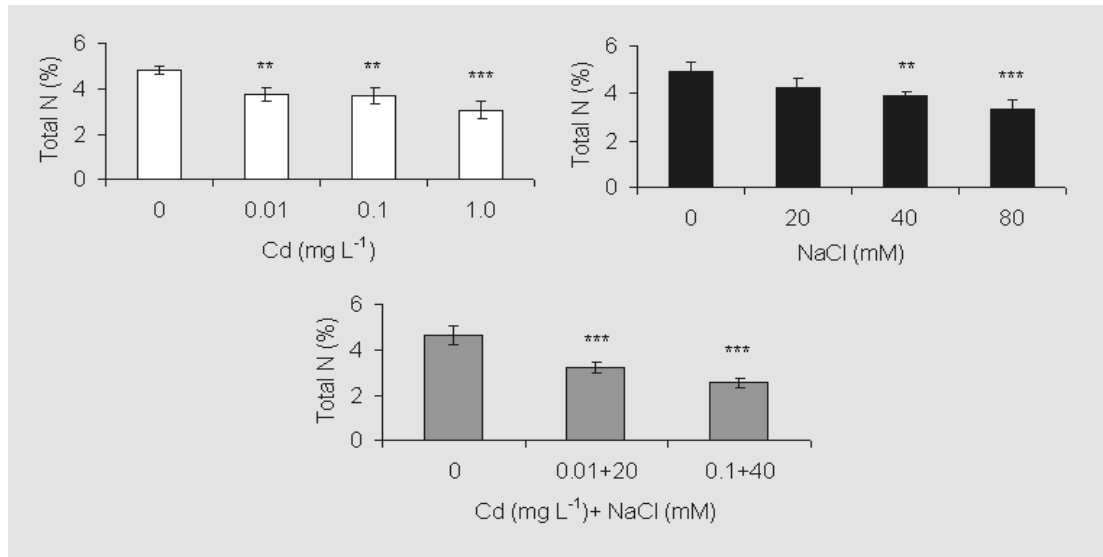
Şekil 4.4. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*’un dokularındaki P derişimleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

4.2.5. Toplam Azot Derişimi

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularındaki toplam N derişimleri Şekil 4.5'te verilmiştir.

Kontrol makrofitteki toplam N derişimlerinin % 4.6 ile % 4.9 arasında değişmiştir. Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitin toplam N derişimi artan Cd derişimiyle birlikte önemli düzeylerde azalmıştır. *C. demersum*'un 0.01, 0.1 ve 1.0 mg Cd L⁻¹'lik derişiminde dokuların toplam azotu kontrole göre sırasıyla % 20.8 (P<0.01), % 22.9 (P<0.01) ve % 35.4 (P<0.001) azalmıştır. NaCl'li koşullarda denenen makrofitin N derişimi artan tuz derişimi ile birlikte azalmıştır. Toplam N'deki bu azalmalar 20, 40 ve 80 mM NaCl'li derişimde kontrole göre sırasıyla % 12.2 (P>0.05), 20.4 (P<0.01) ve % 32.7 (P<0.001) olmuştur. Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofitin de artan Cd ve NaCl derişimiyle toplam N'ninde da azalmalar olmuştur. Bu azalmalar 0.01+20 ve 0.1+40 (mg Cd L⁻¹ +NaCl mM)'lık derişimde kontrole göre % 30.4 ve % 43.5 (P<0.001) olmuştur. Sonuçta en yüksek N derişimi kontrol makrofitte, en düşük N derişiminin ise 0.1 mg Cd L⁻¹ + 40 mM NaCl'li derişimde bulunmuştur.

Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd derişimleri ile toplam N derişimleri arasındaki ilişkinin orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl'li koşullarda test edilen makrofitin Na derişimleri ile N derişimi arasındaki ilişkinin oldukça önemli olduğu hesaplanmıştır. Kadmiyum ve NaCl kombinasyonlu derişimlerde makrofit dokularının Cd ve/veya Na derişimleri ile N derişimi arasında da kuvvetli negatif ilişkilerin olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 4.5. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularının total N derişimleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$).

4.2.6. Mangan Derişimi

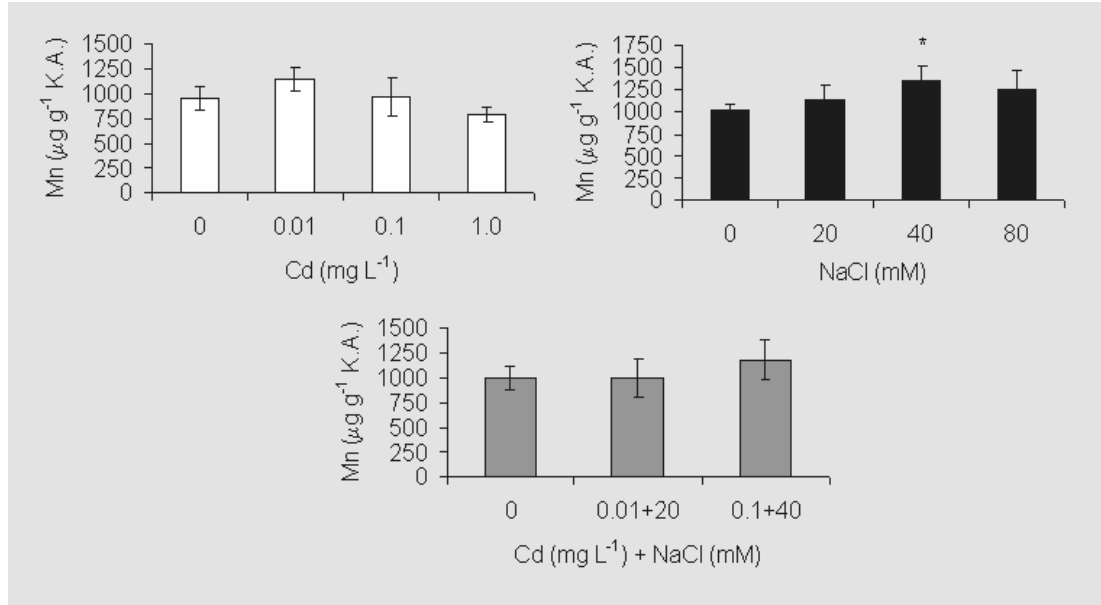
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un Mn derişimleri, Mn standartları ile absorbanslarına ait regresyon denkleminde ($y=0.232x-0.175$) hesaplanmış ve Şekil 4.6'da verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitin Mn derişimi ile test edilen Cd derişimleri arasında farklılıklar olmuştur. *C. demersum*'un 0.01 ve 0.1 mg Cd L⁻¹'lik derişiminde dokularının Mn derişimi kontrole göre artışlar olmuşken ($P>0.05$), 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimde ise azalma olmuştur ($P>0.05$).

NaCl'li koşullarda denenen makrofitin Mn derişimi artan tuz derişimi ile birlikte artmıştır. Bu artışlardan sadece 40 mM NaCl'lik derişimdeki değerin kontrolüne göre 1.33 katla önemli olduğu hesaplanmıştır ($P<0.05$). Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofit dokularında artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte Mn derişimi de değişmiştir. Kombinasyonun 0.1 mg Cd L⁻¹ + 40 mM NaCl'lik derişimindeki artış kontrole göre 1.18 önemsiz olmuştur ($P>0.05$).

Yapılan korelasyon analizlerine göre makrofitin Cd derişimleri ile Mn derişimleri arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. (Çizelge 4.2) Tuz stresli koşullarda test edilen makrofit dokularındaki Na derişimleri ile Mn derişimleri arasındaki ilişkinin önemsiz olduğu hesaplanmıştır. Kadmiyum ve

NaCl kombinasyonlu derişimlerde dokularının Cd ve/veya Na derişimleri ile Mn derişimleri arasında ise herhangi bir ilişki oluşmamıştır.



Şekil 4.6. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki Mn derişimleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P < 0.05$).

4.2.7. Çinko Derişimi

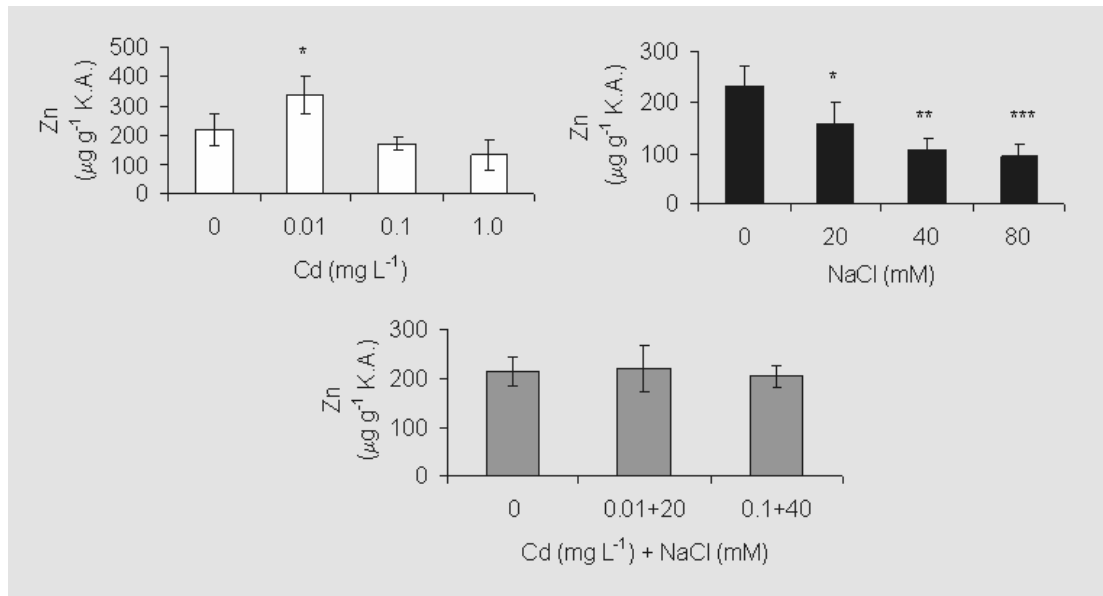
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularındaki çinko derişimleri, Zn standartları ile absorbanlarına ait regresyon denkleminde ($y = 0.052x - 0.0305$) hesaplanmış ve Şekil 4.7'de verilmiştir.

Kontrol makrofitlerdeki Zn derişimi 215 ile 232 $\mu\text{g g}^{-1}$ k.a. arasında değiştiği bulunmuştur. Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin Zn miktarları ile test edilen Cd derişimleri arasında farklılıklar olduğu bulunmuştur. *C. demersum*'un 0.01 mg Cd L⁻¹'lik derişiminde dokularının Zn derişimi kontrole göre % 54.8'lik bir artış göstermiştir ($P < 0.05$). 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerdeki makrofitlerin Zn içeriklerinin ise kontrole göre sırasıyla % 21 ve % 38.8 azalmıştır ($P > 0.05$).

NaCl'li koşullarda denenen makrofitlerin Zn derişimi artan tuz derişimi ile birlikte önemli miktarlarda azaldığı bulunmuştur. Bu azalmalar 20, 40 ve 80 mM NaCl'li derişimlerde kontrole göre sırasıyla % 31.9 ($P < 0.05$), % 53.9 ($P < 0.01$) ve % 59.9 ($P < 0.001$) olmuştur.

Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofit dokularında artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte Zn derişimlerinde istatistiksel olarak bir değişim olmamıştır ($P>0.05$).

Korelasyon analizlerine göre dokularının Cd derişimleri ile Zn miktarları arasındaki ilişki orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl etkisinde bırakılan makrofitlerin Na derişimleri ile Zn miktarları arasındaki ilişkinin oldukça önemli olduğu hesaplanmıştır. Cd+NaCl etkileşimli derişimlerde ise dokularının Cd ve/veya Na derişimleri ile Mn derişimleri arasında ise herhangi bir ilişki belirlenmemiştir.



Şekil 4.7. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki Zn derişimleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$).

4.2.8. Demir Derişimi

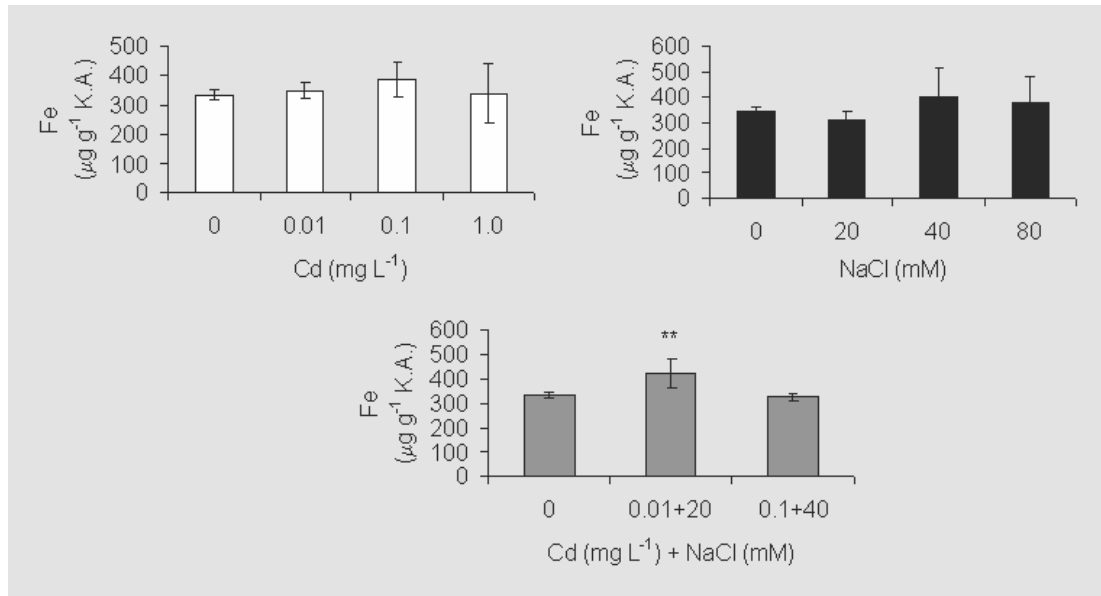
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularındaki demir derişimleri, Fe standartları ile absorbanlarına ait regresyon denkleminde ($y=0.229x-0.155$) hesaplanmış ve Şekil 4.8'de verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin dokularının Fe derişimi tüm konsantrasyonlarda kontrole göre önemsiz düzeylerde artmıştır ($P>0.05$).

NaCl'li koşullarda denenen makrofitlerin Fe derişiminde tuz derişimine bağı değışmeler olmuştur. 20 mM NaCl etkisinde bırakılan makrofitlerin Fe derişimindeki azalmalar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuşken ($P>0.05$), 40 ve 80 mM'lık tuz derişimindeki Fe derişiminde ise önemsiz artmalar olmuştur ($P>0.05$).

Cd+NaCl etkileşiminin 0.01 mg L⁻¹ +20 mM'lık etkisinde bırakılan makrofitin Fe derişimi kontrolüne göre % 30 artmışken ($P<0.01$), 0.1+40'lık derişimde dikkate değı bir değışim göstermediğı bulunmuştur ($P>0.05$).

Korelasyon analizlerine göre Cd, NaCl ve Cd+NaCl'li derişimlerdeki makrofit dokularındaki Cd ve/veya Na derişimleri ile Fe derişimleri arasında önemli ilişkiler bulunmamıştır (Çizelge 4.2).



Şekil 4.8. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki Fe derişimleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (** $P<0.01$).

4.2.9. Bakır Derişimi

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularındaki bakır derişimleri, Cu standartları ile absorbanlarına ait regresyon denkleminde ($y=0.232x-0.175$) hesaplanmış ve Şekil 4.9'da verilmiştir.

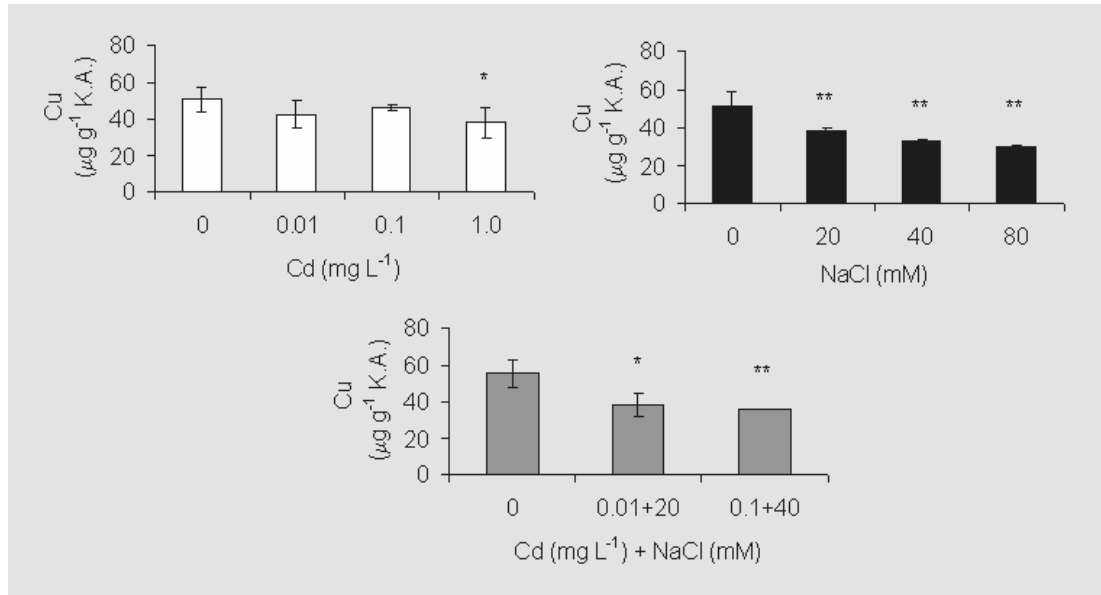
Kadmiyum stresli koşullarda bırakılan makrofitlerin Cu derişiminde azalmalar olmuştur. *C. demersum*'un 0.01 ve 0.1 derişimlerde dokularının Cu miktarları

kontrole göre sırasıyla % 15.6 ve % 8.5'lik azalma göstermiştir ($P>0.05$). 1 mg Cd L^{-1} 'lik derişimdeki makrofitin Cu derişiminin ise kontrole göre % 24.7 azaldığı bulunmuştur ($P>0.05$).

NaCl'li şartlarda denenen *C. demersum*'un Cu derişimi artan tuz derişimi ile birlikte önemli miktarlarda azalmıştır. Bu azalmalar 20, 40 ve 80 mM NaCl'li derişimlerde kontrole göre sırasıyla % 25.2, % 35.8 ve % 41.8 olmuştur ($P<0.01$).

Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofit dokularında artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte Cu miktarlarında önemli azalmalar bulunmuştur. Bu azalmaların 0.01+20 ve 0.1+40'lık derişimler için kontrole göre sırasıyla % 30.9 ($P<0.05$) ve % 34.9 ($P<0.01$) olduğu hesaplanmıştır.

Yapılan korelasyon analizlerine göre dokuların Cd derişimleri ile Cu derişimleri arasındaki ilişkinin orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl etkisinde bırakılan makrofitlerin Na derişimleri ile Cu derişimleri arasındaki kuvvetli ilişkinin oldukça önemli olduğu bulunmuştur. Cd+NaCl etkileşimli derişimlerde makrofit dokularının Cd ve/veya Na derişimleri ile Cu derişimleri arasında da ilişkinin kuvvetli ve istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.9. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un Cu derişimleri. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

4.3. *C. demersum* Dokularının Fotosentetik Pigment Miktarları

4.3.1. Klorofil-a Miktarları

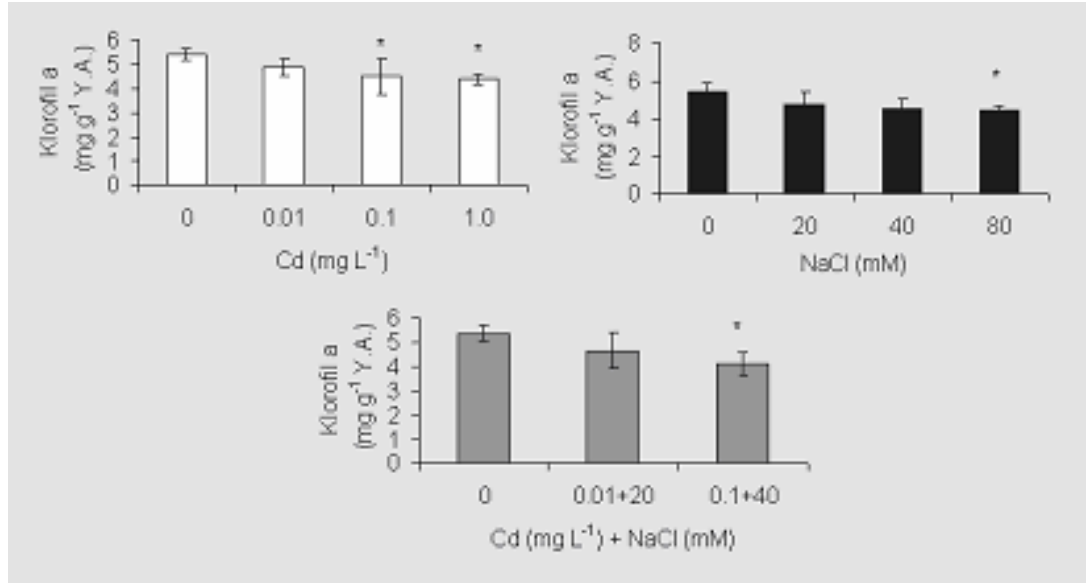
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum* dokularındaki klorofil-a miktarları Şekil 4.10'da verilmiştir.

Kontrol makrofitlerdeki klorofil-a miktarları 5.37 ile 5.44 (mg g⁻¹ y.a.) arasında değiştiği bulunmuştur. Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin klorofil-a miktarlarında azalmalar olduğu bulunmuştur. Makrofitin 0.01 mg Cd L⁻¹'lik derişimindeki klorofil-a miktarı kontrole göre % 9.3 düzeyinde önemsiz olarak azalmışken (P>0.05), 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerdeki azalmalar sırasıyla % 16.5 ve % 18.7 ile önemli bulunmuştur (P<0.05).

NaCl'li koşullarda denenen *C. demersum*'un klorofil-a miktarları artan tuz derişimi ile birlikte azaldığı bulunmuştur. Bu azalmalardan sadece 80 mM NaCl'li derişimdeki makrofitin klorofil-a miktarı kontrole göre % 17.7 oranında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitin klorofil-a miktarlarının da artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte azaldığı bulunmuştur. Bu azalmaların 0.01+20 ve 0.1+40'lık derişimler için kontrole göre sırasıyla % 13.0 (P>0.05) ve % 23.1 (P<0.05) olduğu hesaplanmıştır.

Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd derişimleri ile klorofil-a miktarları arasındaki ilişkinin orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl stresi altında bırakılan makrofitlerin dokularındaki Na derişimleri ile klorofil-a miktarları arasındaki ilişkinin orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemli olduğu hesaplanmıştır. Cd+NaCl etkileşimli derişimlerde makrofit dokularının Cd ve/veya Na derişimleri ile klorofil-a miktarları arasında önemli ilişkilerin olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.10. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularının klorofil-a miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$).

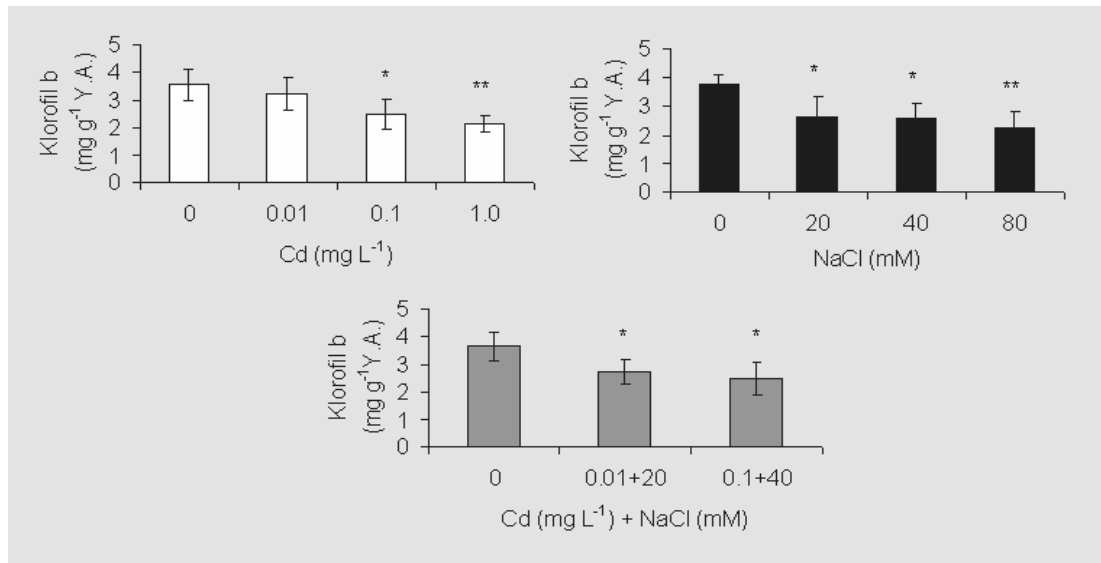
4.3.2. Klorofil-b Miktarları

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum* dokularının klorofil-b miktarları Şekil 4.11’de verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin klorofil-b miktarlarında azalmalar olduğu bulunmuştur. Makrofitin 0.01 mg Cd L⁻¹’lik derişimindeki klorofil-b miktarı kontrole göre % 9.2 düzeyinde önemsiz olarak azalmışken ($P>0.05$), 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹’lik derişimlerdeki azalmalar kontrole göre sırasıyla % 30.1 ($P<0.05$) ve % 39.3 ($P<0.01$) ile önemli bulunmuştur. NaCl stresli koşullarda denenen *C. demersum*’un klorofil-b miktarlarının artan tuz derişimi ile birlikte önemli düzeylerde azaldığı bulunmuştur. Bu azalmaların 20, 40 ve 80 mM NaCl’li derişimler için kontrolüne göre sırasıyla % 30.6 ($P<0.05$), % 31.2 ($P<0.05$) ve % 39.8 ($P<0.01$) düzeyinde olduğu hesaplanmıştır. Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan makrofitin klorofil-b miktarlarının da artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte önemli düzeylerde azaldığı bulunmuştur. Bu azalmaların 0.01+20 ve 0.1+40’lık derişimler için kontrolüne göre sırasıyla % 24.6 ve % 31.4 olduğu hesaplanmıştır ($P<0.05$).

Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd derişimleri ile klorofil-b miktarları arasındaki ilişkinin orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemli olduğu

bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl etkisinde bırakılan makrofitlerin dokularındaki Na derişimleri ile klorofil-b miktarları arasındaki ilişkinin de orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. Cd+NaCl etkileşimli derişimlerde ise makrofit dokularının Cd ve/veya Na derişimleri ile klorofil-b miktarları arasında korelasyon analizine göre ilişkilerin orta düzeyde olduğu bulunmuştur. Fakat sadece Cd+NaCl kombinasyonundaki makrofit dokularının Na derişimleri ile klorofil-b miktarları arasındaki ilişki önemli bulunmuştur.



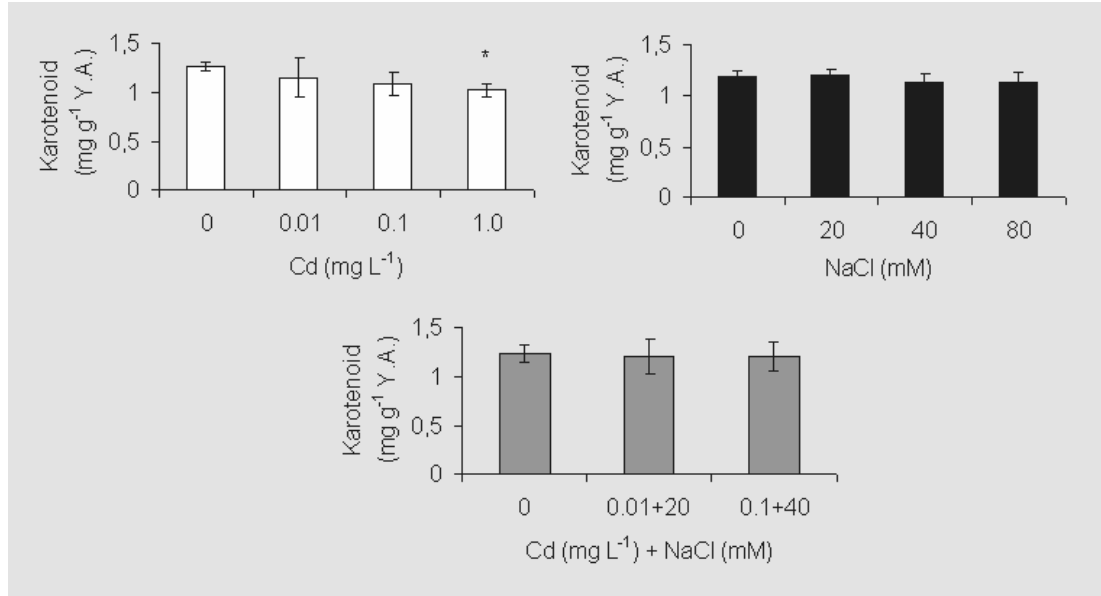
Şekil 4.11. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un klorofil-b miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

4.3.3. Karotenoid Miktarları

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum* dokularının karotenoid miktarları Şekil 4.12'de verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin karotenoid miktarlarında azalmalar olduğu bulunmuştur. Ancak bu azalmaların sadece 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimdeki makrofit için kontrolüne göre % 19.1 ile önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). NaCl koşullarında denenen makrofitin karotenoid miktarlarında dikkate değer değışmelerin olmadığı bulunmuştur ($P>0.05$). Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan makrofitlerin karotenoid miktarlarının önemsiz olarak artış gösterdiği bulunmuştur ($P>0.05$).

Korelasyon analizlerine göre Cd, NaCl ve Cd+NaCl uygulamalarındaki makrofitlerin Cd ve/veya Na derişimleri ile bu uygulamalardaki karotenoid miktarları arasındaki ilişkinin önemsiz olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2).



Şekil 4.12. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki karotenoid miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$).

4.4. *C. demersum* Dokularının Karbohidrat Miktarları

4.4.1. Toplam Karbohidrat Miktarları

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum* dokularının toplam karbohidrat miktarları, glukoz standartları ile absorbanlarına ait regresyon denkleminde ($y=0.0148x-0.097$) hesaplanmış ve Şekil 4.13'de verilmiştir.

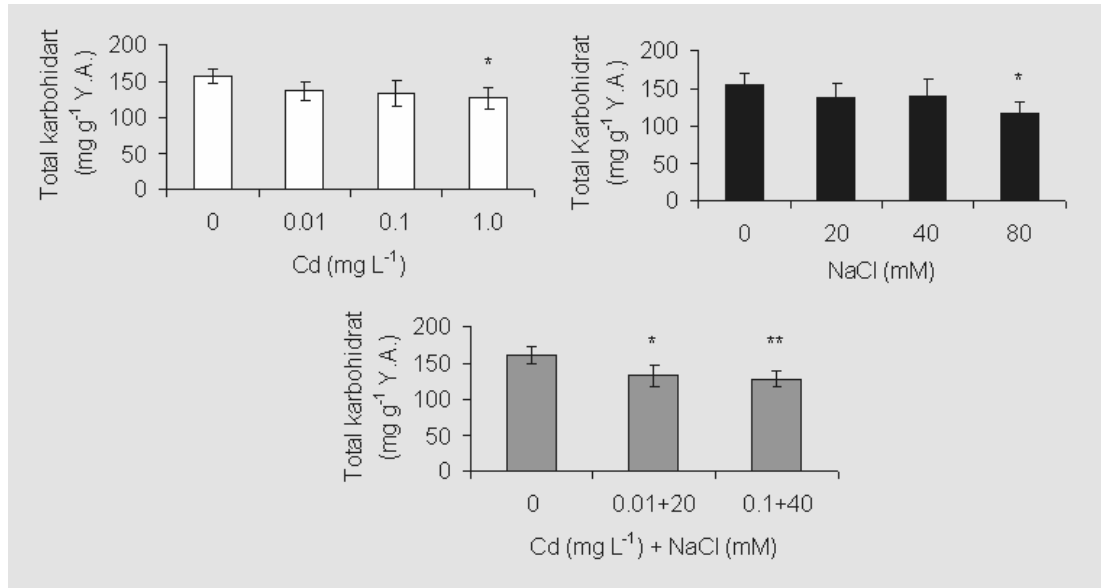
Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin toplam karbohidrat miktarlarında azalmalar olduğu bulunmuştur. Makrofitlerin 0.01 ve 0.1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerinde belirlenen toplam karbohidrat miktarları kontrole göre sırasıyla % 13.0 ve % 15.5 düzeylerinde önemsiz olarak azalmışken ($P>0.05$), 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerdeki azalma % 19.5 ile önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Tuz stresli koşullarda denenen makrofitlerin toplam karbohidrat miktarlarının artan tuz derişimi ile birlikte azaldığı bulunmuştur. 20 ve 40 mM'lık NaCl etkisinde

sırasıyla % 10.5 ve % 9.9 değerlerde kontrole göre önemsiz olmuştur ($P>0.05$). 80 mM NaCl'li derişimdeki makrofitin toplam karbohidrat miktarı ise kontrole göre % 23.8 azalması istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitin total karbohidrat miktarlarının da artan Cd ve NaCl derişimleri ile birlikte azaldığı bulunmuştur. Bu azalmaların 0.01+20 ve 0.1+40'lık derişimler için kontrole göre sırasıyla % 13.0 ($P>0.05$) ve % 23.1 ($P<0.05$) olduğu hesaplanmıştır.

Kadmiyum uygulamaları ile yapılan korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının toplam karbohidrat miktarları ile Cd derişimleri arasındaki ilişkinin zayıf ve önemsiz olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). NaCl stresindeki makrofit dokularının karbohidrat miktarları ile Na miktarları arasında orta düzeyde önemli bir ilişki bulunmuştur. Cd+NaCl kombinasyonunda makrofit dokularının Cd miktarları ile toplam karbohidrat miktarları arasındaki ilişkinin zayıf olduğu bulunmuşken, Na derişimleri ile kuvvetli ilişkinin bulunduğu görülmüştür.



Şekil 4.13. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki total karbohidrat miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

4.4.2. Glukoz Miktarları

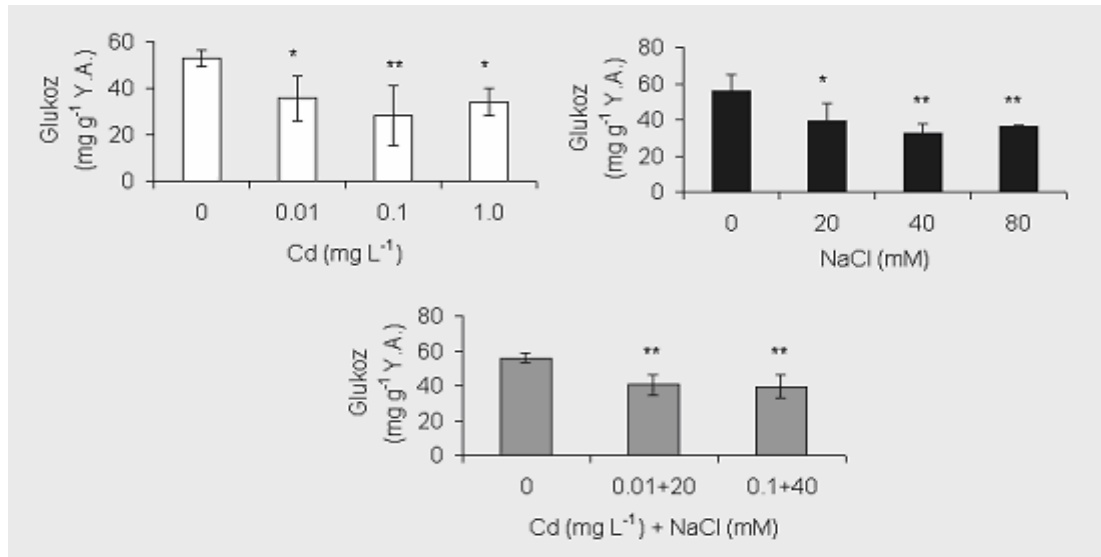
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum* dokularının glukoz miktarları, glukoz standartları ile absorbanslarına ait regresyon denkleminde ($y=0.012x-0.0359$) hesaplanmış Şekil 4.14’de verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin glukoz miktarlarında artan Cd derişimi ile birlikte önemli miktarlarda azalmalar olduğu bulunmuştur. Makrofitlerin 0.01, 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹’lik derişimlerdeki glukoz miktarları kontrole göre sırasıyla % 32.3 (P<0.05), % 46.3 (P<0.01) ve % 35.3 (P<0.05) azalmıştır.

NaCl stresli koşullarda denenen makrofitlerin glukoz miktarlarında da artan tuz derişimi ile birlikte azalmalar bulunmuştur. Bu azalmalar 20 ve 40 ve 80 mM’lık NaCl etkisinde kontrolüne göre sırasıyla % 31.8 (P<0.05), %36.5 ve % 43.3 (P<0.01) olmuştur.

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitlerin glukoz miktarları artan Cd ve NaCl derişimlerinden olumsuz yönde etkilenmiştir. Cd+NaCl kombinasyonun 0.01+20 ve 0.1+40 (mg Cd L⁻¹ + NaCl mM)’lık derişimlerdeki makrofitlerin glukoz miktarlarında kontrolüne göre azalmalar sırasıyla % 28.0 ve % 29.8 olmuştur (P<0.01).

Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının glukoz miktarları ile Cd derişimleri arasındaki ilişkinin zayıf ve önemsiz olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). NaCl stresindeki makrofit dokularının glukoz miktarları ile Na miktarları arasında orta düzeyde önemli bir ilişki bulunmuştur. Cd+NaCl kombinasyonunda makrofit dokularının Cd ve/veya Na miktarları ile glukoz miktarları arasındaki ilişkinin önemli olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.14. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki glukoz miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

4.5. *C. demersum* Dokularının Prolin ve Sistein Miktarları

4.5.1. Prolin Miktarları

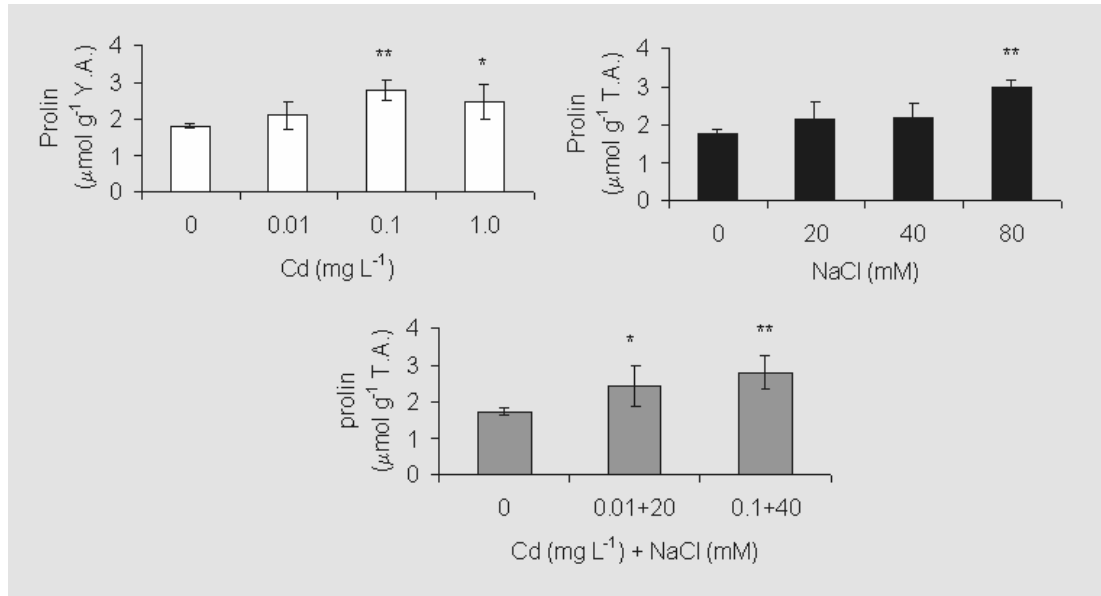
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularının serbest prolin miktarları Şekil 4.15'da verilmiştir.

Kadmiyum stresli koşullarda denenen makrofitlerin serbest prolin miktarlarında Cd derişimi ile birlikte artışlar olduğu bulunmuştur. Makrofitlerin 0.01, 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerindeki prolin akümülyasyonlarındaki artışların kontrole göre sırasıyla % 15.9 ($P>0.05$), % 53.3 ($P<0.01$) ve % 35.7 ($P<0.05$) olduğu bulunmuştur.

NaCl etkisindeki makrofitlerin serbest prolin akümülyasyonlarında artan tuz derişimi ile birlikte artışlar olmuştur. Bu artışların 20 ve 40 ve 80 mM'lık NaCl etkisinde kontrolüne göre sırasıyla % 20.7 ($P>0.05$), % 23.6 ($P>0.05$) ve % 68.5 ($P<0.01$) olduğu hesaplanmıştır.

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitler de metal-tuz kombine stresinden dolayı önemli miktarlarda prolini akümüle etmişlerdir. Cd+NaCl kombinasyonun 0.01+20 ve 0.1+40 (mg Cd L⁻¹ + NaCl mM)'lık derişimlerindeki makrofitlerin prolin akümülyasyonlarında kontrolüne göre sırasıyla % 39.7 ($P<0.05$) ve % 60.3 ($P<0.01$) oranında artışlar olmuştur.

Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd derişimleri ile serbest prolin akümülyasyonları arasındaki ilişkinin zayıf ve önemsiz olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). NaCl stresindeki makrofit dokularının prolin akümülyasyonları ile Na miktarları arasında kuvvetli ilişki bulunmuştur. Cd+NaCl kombinasyonunda makrofit dokularının Cd ve/veya Na miktarları ile prolin miktarları arasındaki ilişkinin kuvvetli ve önemli bulunmuştur.



Şekil 4.15. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un prolin miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

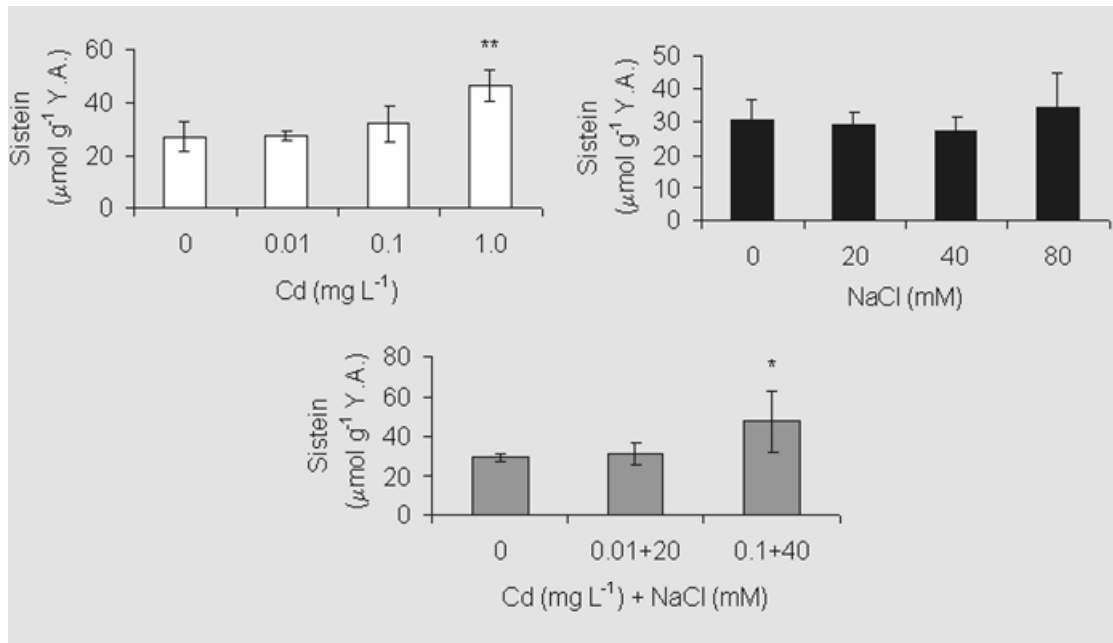
4.5.2. Sistein Miktarları

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum* dokularının sistein miktarları, sistein standartları ile absorbanlarına ait regresyon denkleminde hesaplanmış ve Şekil 4.16'da verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin sistein miktarlarında Cd derişimi ile birlikte artışlar olduğu bulunmuştur. Sistein miktarındaki bu artışların istatistiksel olarak önemli olanı % 70.1'lik düzeyde 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimde bulunmuştur ($P<0.01$). Yapılan değerlendirmeler sonucunda NaCl etkisinde bırakılan makrofitlerin sistein miktarlarında dikkate değer bir değişimin olmadığı bulunmuştur ($P>0.05$). Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitlerin 0.01+20 (mg

Cd L⁻¹ + NaCl mM)'lik derişiminde sistein miktarındaki artış önemsiz iken, 0.1+40 (mg Cd L⁻¹ + NaCl mM)'lık konsantrasyonda ise % 60.6 ile önemli olmuştur (P<0.05).

Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd derişimleri ile sistein miktarları arasındaki ilişkinin oldukça önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarında ise makrofitlerin Cd ve/veya Na miktarları ile sistein miktarları arasında önemli ilişkiler oluşmamıştır.



Şekil 4.16. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un sistein miktarları. Barlar ortalama ± standart sapmasını gösterir. (* P<0.05; ** P<0.01).

4.6. *C. demersum* Dokularının Askorbik Asit Miktarları

4.6.1. Toplam Askorbik Asit Miktarları

Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum*'un toplam askorbat miktarları, askorbik asit standartları ile absorbanlarına ait regresyon denkleminde ($y=0.045x+0.0129$) hesaplanmış ve Şekil 4.17'de verilmiştir.

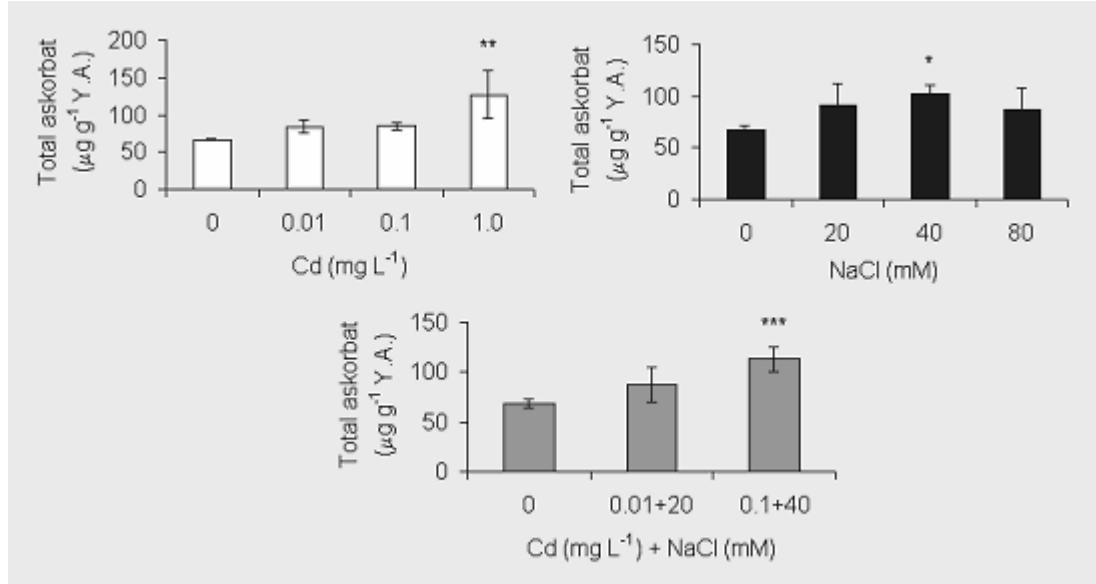
Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin toplam askorbat içeriklerinde artışlar olmuştur. Makrofitlerin 0.01, 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerinde belirlenen

toplam askorbat miktarlarının kontrole göre sırasıyla % 26.2 ($P>0.05$), % 28.0 ($P>0.05$) ve % 91.5 ($P<0.01$) düzeylerinde arttığı bulunmuştur.

NaCl'li koşullardaki makrofitlerin toplam askorbat miktarlarının artan tuz derişimi ile birlikte arttığı bulunmuştur. 20, 40 ve 80 mM'lık NaCl stresli koşullarda belirlenen toplam askorbik asit miktarları kontrolüne göre sırasıyla % 35.8 ($P>0.05$), % 52.8 ($P<0.05$) ve % 31.0 ($P>0.05$) oranlarında hesaplanmıştır.

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitin toplam askorbat miktarlarının da artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte arttığı bulunmuştur. Bu artışların 0.01+20 ve 0.1+40 ($\text{mg L}^{-1} + \text{mM}$)'lık derişimler için kontrole göre sırasıyla % 29.1 ($P>0.05$) ve % 66.0 ($P<0.001$) olduğu hesaplanmıştır.

Kadmiyum uygulamaları ile yapılan korelasyon analizlerine göre dokuların toplam askorbat miktarları ile Cd derişimleri arasındaki ilişkinin oldukça kuvvetli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). NaCl stresindeki makrofitin askorbik asit miktarları ile Na miktarları arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır. Cd+NaCl kombinasyonunda dokularının Cd ve/veya Na miktarları ile total askorbat miktarları arasındaki önemli ilişkilerin olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.17. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un toplam askorbat miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$).

4.6.2. İndirgenmiş Askorbik Asit Miktarları

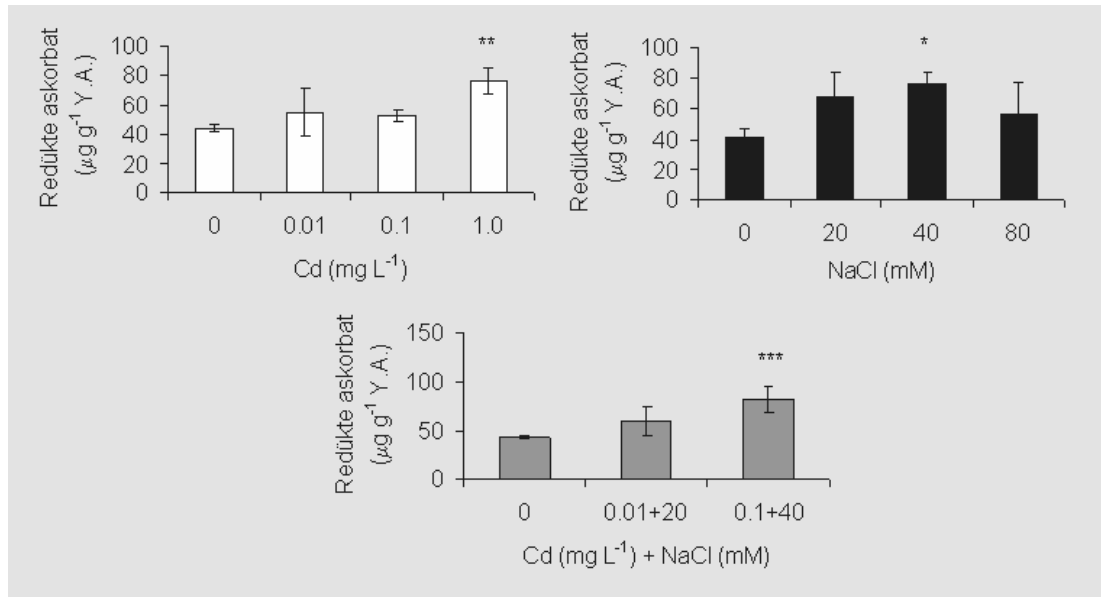
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum*'un indirgenmiş askorbat miktarları, askorbik asit standartları ile absorbanlarına ait regresyon denkleminde ($y=0.043x+0.0221$) hesaplanmış ve Şekil 4.18'da verilmiştir.

Kadmiyum stresli koşullarda denenen makrofitlerin indirgenmiş askorbat miktarlarında artışlar olduğu bulunmuştur. Makrofitlerin 0.01 ve 0.1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerinde belirlenen indirgenmiş askorbat miktarları kontrole göre önemsiz miktarlarda artmışken ($P>0.05$), 1 mg Cd L⁻¹'lik konsantrasyonlardaki artış % 72.2 ile önemli bulunmuştur ($P<0.01$).

NaCl'li koşullardaki makrofitlerin indirgenmiş askorbat miktarlarının artan tuz derişimi ile birlikte arttığı bulunmuştur. 20, 40 ve 80 mM'lık NaCl stresli şartlarda belirlenen indirgenmiş askorbik asit miktarlarının kontrolüne göre sırasıyla % 62.4 ($P>0.05$), % 82.4 ($P<0.05$) ve % 27.1 ($P>0.05$) olduğu bulunmuştur.

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitin indirgenmiş askorbat miktarlarının da artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte arttığı bulunmuştur. Bu artışların 0.01+20 ve 0.1+40 (mg L⁻¹ + mM)'lık derişimler için kontrole göre sırasıyla % 42.7 ($P>0.05$) ve % 92.2 ($P<0.001$) olduğu hesaplanmıştır.

Kadmiyum uygulamaları ile yapılan korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının indirgenmiş askorbat miktarları ile Cd derişimleri arasındaki ilişkinin oldukça önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). NaCl stresindeki *C. demersum*'un indirgenmiş askorbik asit miktarları ile Na miktarları arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır. Cd+NaCl kombinasyonunda makrofitin Cd ve/veya Na miktarları ile indirgenmiş askorbat miktarları arasında ise önemli ilişkilerin olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.18. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un indirgenmiş askorbat miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$).

4.7. *C. demersum* Dokularının –SH Grup Miktarları

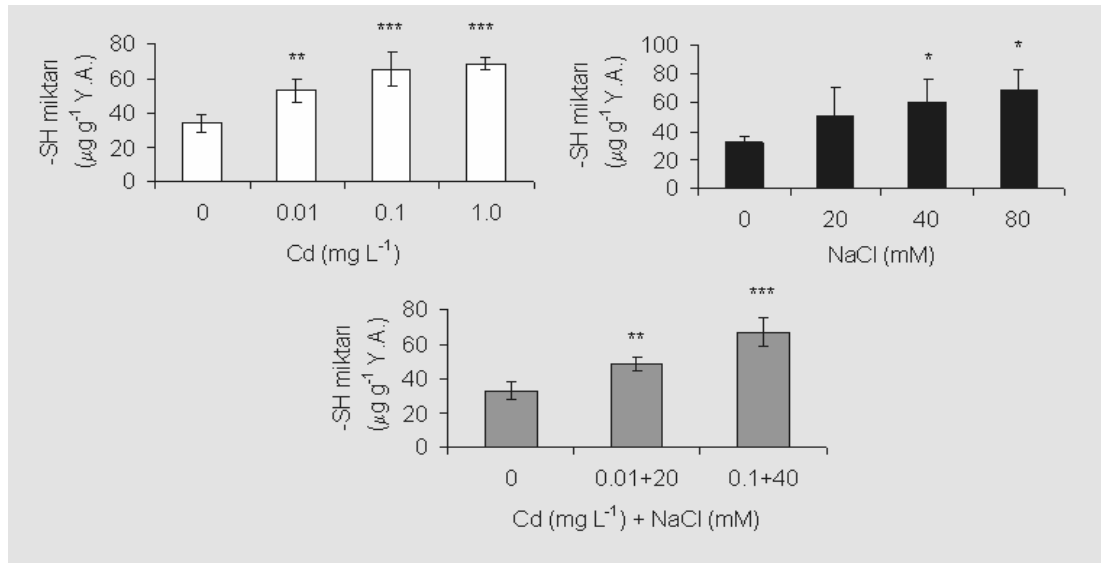
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum* dokularındaki –SH grup miktarları, GSH standartları ile absorbanslarına ait regresyon denkleminde ($y=0.0281x+0.066$) hesaplanmış ve Şekil 4.19'da verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitlerin –SH grup miktarlarında artan Cd derişimi ile birlikte artışların olduğu bulunmuştur. Makrofitin 0.01, 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerdeki –SH grup miktarları kontrole göre % 55.7 ($P<0.01$), % 91.8 ve % 100.6 ($P<0.001$) düzeyinde arttığı hesaplanmıştır.

Tuz stresli koşullarda test edilen *C. demersum*'un –SH grup miktarları artan NaCl derişimi ile birlikte artmıştır. Bu artışların 20, 40 ve 80 mM'lık derişimlerde kontrolüne göre % 59.8 ($P>0.05$), % 91.2 ve % 115.4 ($P<0.05$) olduğu bulunmuştur.

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitin –SH grup miktraları da artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte arttığı bulunmuştur. Bu artışların da 0.01+20 ve 0.1+40 (mg L⁻¹ + mM)'lık derişimler için kontrole göre sırasıyla % 46.1 ($P<0.01$) ve % 101.5 ($P<0.05$) olduğu hesaplanmıştır.

Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd derişimleri ile –SH grup miktarları arasındaki ilişkinin orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl stresi altındaki makrofitlerin dokularındaki Na derişimleri ile –SH grup miktarları arasındaki ilişkinin de orta düzeyde ve istatistiksel olarak önemli olduğu hesaplanmıştır. Cd+NaCl etkileşimli derişimlerde makrofit dokularının Cd ve/veya Na derişimleri ile –SH grup miktarları arasında oldukça önemli ilişki bulunmuştur.



Şekil 4.19. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un SH grup miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$).

4.8. *C. demersum* Dokularının Fenolik Bileşik Miktarları

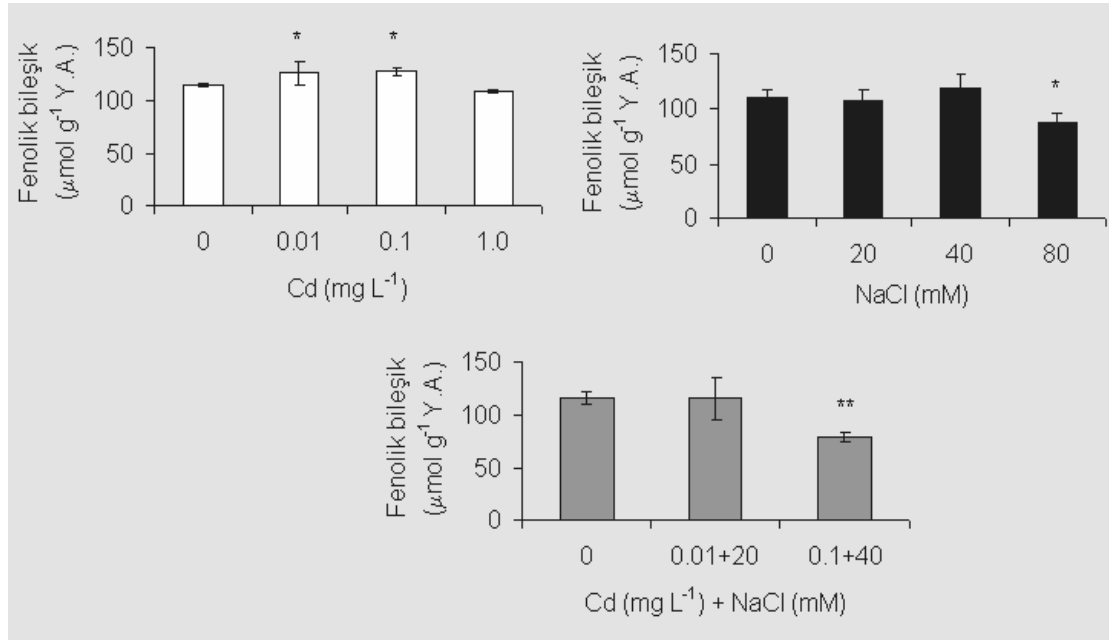
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum*'un toplam fenolik bileşik miktarları, gallik asit standartları ile absorbanslarına ait regresyon denkleminde hesaplanmış ve Şekil 4.20'de verilmiştir.

Kadmiyum etkisindeki makrofitlerin total fenolik bileşik miktarlarında değişimler olduğu bulunmuştur. Makrofitlerin 0.01 ve 0.1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerinde belirlenen fenolik bileşik miktarları kontrole göre önemli miktarlarda artmışken ($P<0.05$), 1 mg Cd L⁻¹'lik konsantrasyonlarda ise önemsiz azalmaların olduğu bulunmuştur ($P>0.05$).

NaCl'li koşullardaki makrofitlerin fenolik bileşik miktarları 20 ve 40 mM'lık derişimde artan tuz derişimi ile birlikte istatistiksel olarak önemli herhangi bir derişim göstermemiş ($P>0.05$), 80 mM'lık derişimde ise önemli düzeyde azalmıştır ($P<0.05$).

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitin fenolik bileşik miktarları ile yapılan istatistiksel değerlendirmelere göre 0.01+20 (mg Cd L⁻¹+ NaCl mM)'lik derişimde dikkate değer bir derişimin olmadığı bulunmuştur ($P>0.05$). kombinasyonun 0.1 mg Cd L⁻¹ + 40 + mM NaCl'li derişimindeki makrofitlerin fenolik bileşik miktarlarında ise % 31.9 azalmanın olduğu bulunmuştur ($P<0.01$).

Yapılan korelasyon analizlerine göre dokuların Cd derişimleri ile toplam fenolik bileşik miktarları arasındaki ilişkinin zayıf ve önemsiz olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). Benzer bir ilişkinin NaCl stresindeki *C. demersum*'un fenolik bileşik miktarları ile Na miktarları arasında da olduğu görülmüştür. Cd+NaCl kombinasyonunda makrofitin Cd miktarları ile fenolik bileşik miktarları arasında önemsiz ilişki bulunmuşken, Na miktarları arasındaki ilişkinin ise önemli olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 4.20. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un fenolik bileşik miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$).

4.9. Malondialdehit Miktarları

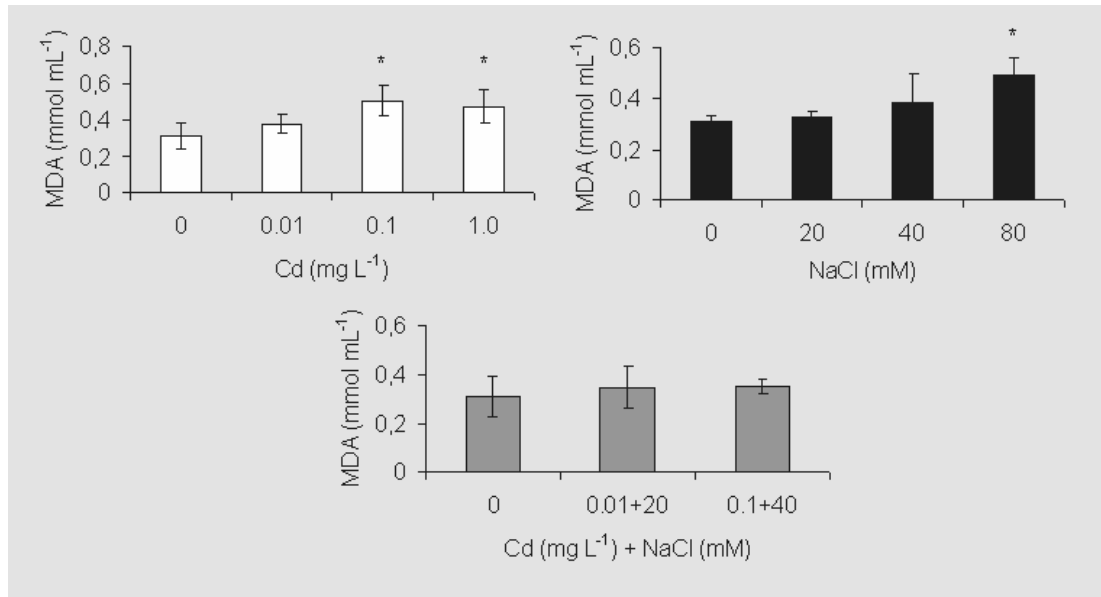
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum*'un membranlarında meydana gelen lipid peroksidasyonu belirlemek için peroksidasyon sonucu oluşan ürünlerden malondialdehit (MDA) miktarları ölçülmüştür (Şekil 4.21).

Kadmiyum stresinde denenen makrofitlerin MDA miktarlarının artan Cd derişimiyle birlikte arttığı bulunmuştur. Bu artışların 0.01 mg Cd L⁻¹'lik derişimde kontrole göre önemsiz olduğu bulunmuştur (P>0.05). 0.1 ve 1 mg L⁻¹'lik derişimlerde kontrole göre sırasıyla % 62.3 ve % 51.6'lık artışların ise istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur (P<0.05).

Tuz stresli koşullarda denenen makrofitlerin MDA miktarlarının da artan NaCl derişimi ile birlikte arttığı bulunmuştur. MDA miktarındaki bu artışlar 20 ve 40 mM NaCl'de derişimlerinde önemsiz bulunmuşken (P>0.05), 80 mM NaCl'li derişimde ise kontrole göre % 58.1 oranındaki artışın önemli olduğu bulunmuştur (P<0.05).

Cd+NaCl kombine etkisinde bırakılan makrofitlerde MDA miktarlarında artan Cd ve NaCl konsantrasyonlarıyla birlikte istatistiksel olarak önemli olan herhangi bir değişimin olmadığı bulunmuştur (P>0.05).

Kadmiyum uygulamalarındaki bulgular ile yapılan korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd derişimleri ile MDA miktarları arasındaki ilişkinin zayıf olduğu bulunmuştur. (Çizelge 4.2) NaCl'li koşullarda test edilen *C. demersum*'ların dokularındaki Na derişimleri ile MDA miktarları arasındaki ilişkinin ise önemli olduğu hesaplanmıştır. Kadmiyum ve NaCl kombinasyonlu derişimlerde makrofit dokularının Cd ve/veya Na derişimleri ile MDA miktarları arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.



Şekil 4.21. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un malondialdehit (MDA) miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmasını gösterir. (* $P < 0.05$).

4.10. *C. demersum* Dokularının Protein Miktarları

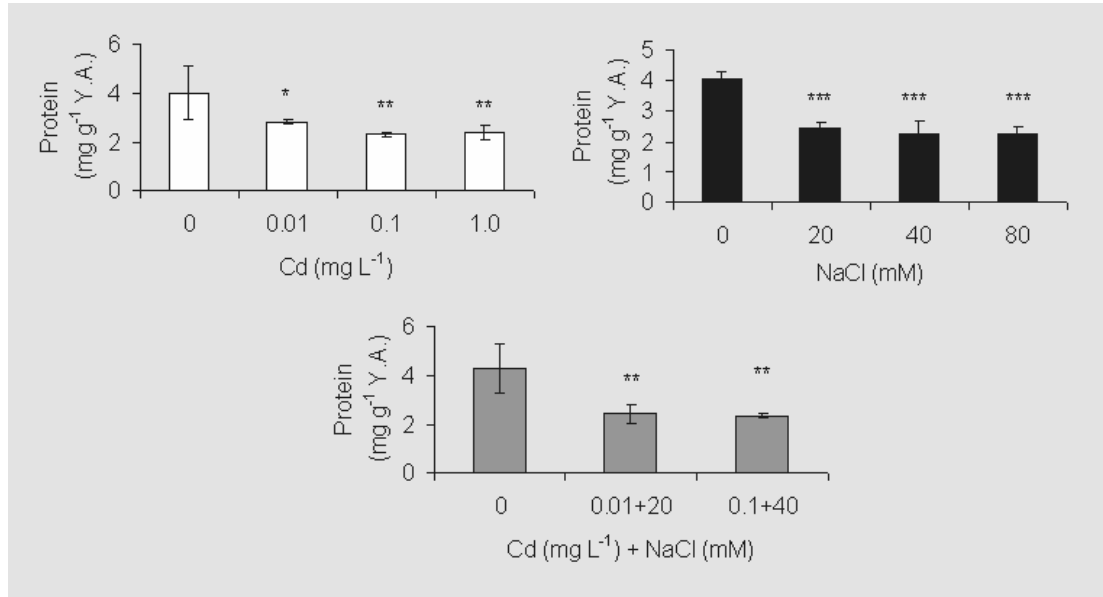
Kadmiyum, NaCl ve Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan *C. demersum* dokularının protein miktarları, albumin standartları ile absorbanslarına ait regresyon denkleminde ($y=0.0011x+0.003$) hesaplanmış ve Şekil 4.22'de verilmiştir.

Kadmiyum etkisinde bırakılan makrofitleerin protein miktarlarında artan Cd derişimi ile birlikte azalmaların olduğu bulunmuştur. Makrofite 0.01, 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimindeki protein miktarlarının kontrole göre % 28.8 ($P < 0.05$), % 41.8 ve % 39.8 ($P < 0.001$) düzeyinde azaldığı hesaplanmıştır.

Tuz stresli koşullarda test edilen *C. demersum*'un protein miktarlarında artan NaCl derişimi ile birlikte azalmaların olduğu bulunmuştur. Bu azalmaların 20, 40 ve 80 mM'lık derişimlerde kontrolüne göre sırasıyla % 39.3, % 44.0 ve % 44.5 olduğu bulunmuştur ($P < 0.001$).

Cd+NaCl etkileşiminde bırakılan makrofitleerin protein miktarları da artan Cd ve NaCl derişimleriyle birlikte azalmıştır. Bu azalmaların da 0.01+20 ve 0.1+40 (mg L⁻¹ + mM)'lık derişimler için kontrole göre sırasıyla % 42.6 ve % 44.7 olduğu hesaplanmıştır ($P < 0.01$).

Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd derişimleri ile protein miktarları arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2). NaCl stresi altındaki makrofitlerin Na derişimleri ile protein miktarları arasındaki ilişkinin kuvvetli ve istatistiksel olarak önemli olduğu hesaplanmıştır. Cd+NaCl etkileşimli derişimlerde dokuların Cd ve/veya Na derişimleri ile protein miktarları arasında önemli ilişkilerin olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.22. Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde bırakılan *C. demersum*'un protein miktarları. Barlar ortalama $\pm$ standart sapmayı gösterir. (* $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$).

Çizelge 4.2. *C. demersum*'un analiz edilen parametreleri ile dokularının Cd ve Na derişimleri arasındaki ilişki.

İlişki	Uygulama	P		r	
K derişimleri ile	Cd	0.002		0.800	
	NaCl	0.022		-0.649	
	Cd+NaCl	0.829 (Cd)	0.627 (Na)	-0.084 (Cd)	-0.189 (Na)
P derişimleri ile	Cd	0.001		-0.803	
	NaCl	0.007		-0.728	
	Cd+NaCl	0.013 (Cd)	0.007 (Na)	-0.781 (Cd)	-0.819 (Na)
Toplam N derişimleri ile	Cd	0.006		-0.742	
	NaCl	<0.001		-0.877	
	Cd+NaCl	0.002 (Cd)	<0.001 (Na)	-0.885 (Cd)	-0.938 (Na)
Mn derişimleri ile	Cd	0.033		-0.617	
	NaCl	0.082		0.522	
	Cd+NaCl	0.280 (Cd)	0.207 (Na)	0.404 (Cd)	0.465 (Na)
Zn derişimleri ile	Cd	0.058		-0.561	
	NaCl	0.001		-0.829	
	Cd+NaCl	0.498 (Cd)	0.980 (Na)	-0.261 (Cd)	-0.010 (Na)
Fe derişimleri ile	Cd	0.881		-0.049	
	NaCl	0.345		0.299	
	Cd+NaCl	0.874 (Cd)	0.825 (Na)	0.062 (Cd)	-0.087 (Na)
Cu derişimleri ile	Cd	0.076		-0.530	
	NaCl	<0.001		-0.870	
	Cd+NaCl	0.016 (Cd)	0.014 (Na)	-0.766 (Cd)	-0.777 (Na)
Klorofil-a miktarları ile	Cd	0.060		-0.556	
	NaCl	0.024		-0.642	
	Cd+NaCl	0.009 (Cd)	0.025 (Na)	-0.806 (Cd)	-0.733 (Na)
Klorofil-b miktarları ile	Cd	0.018		-0.664	
	NaCl	0.011		-0.701	
	Cd+NaCl	0.053 (Cd)	0.042 (Na)	-0.660 (Cd)	-0.683 (Na)
Karotenoid miktarları ile	Cd	0.095		-0.504	
	NaCl	0.231		-0.374	
	Cd+NaCl	0.900 (Cd)	0.642 (Na)	0.049 (Cd)	-0.181 (Na)

Çizelge 4.2'nin devamı.

Toplam karbohidrat miktarları ile	Cd	0.103		-0.493	
	NaCl	0.029		-0.628	
	Cd+NaCl	0.082	0.010	-0.608	-0.800
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
Glukoz miktarları ile	Cd	0.323		-0.312	
	NaCl	0.018		-0.668	
	Cd+NaCl	0.047	0.017	-0.674	-0.764
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
Prolin miktarları ile	Cd	0.259		0.359	
	NaCl	0.001		0.847	
	Cd+NaCl	0.019	0.018	0.752	0.756
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
Sistein miktarları ile	Cd	<0.001		0.868	
	NaCl	0.447		0.227	
	Cd+NaCl	0.109	0.052	0.570	0.662
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
Toplam askorbat miktarları ile	Cd	<0.001		0.862	
	NaCl	0.158		0.434	
	Cd+NaCl	0.013	<0.001	0.773	0.922
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
İndirgenmiş askorbat miktarları ile	Cd	0.001		0.845	
	NaCl	0.343		0.301	
	Cd+NaCl	0.009	0.001	0.807	0.899
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
-SH grup miktarları ile	Cd	0.019		0.662	
	NaCl	0.009		0.718	
	Cd+NaCl	0.001	<0.001	0.913	0.934
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
Toplam fenolik bileşik miktarları ile	Cd	0.070		-0.530	
	NaCl	0.056		-0.565	
	Cd+NaCl	0.052	0.011	-0.663	-0.792
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
MDA miktarları ile	Cd	0.157		0.436	
	NaCl	0.004		0.760	
	Cd+NaCl	0.392	0.558	0.326	0.226
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)
Protein miktarları ile	Cd	0.123		-0.470	
	NaCl	0.002		-0.793	
	Cd+NaCl	0.042	0.012	-0.685	-0.785
		(Cd)	(Na)	(Cd)	(Na)

Korelasyon analizleri makrofit dokularında analiz edilen parametrelerin miktarları ile aynı uygulamadaki Cd ve/veya Na miktarları arasındaki ilişkiyi belirtir. Çizelgede P önemi r ise korelasyon katsayısıdır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyolojik olarak gerekli olmayan metallerlerden olan Cd, tarımsal ve endüstriyel etmenlerden dolayı çevredeki konsantrasyonları artmaktadır (Foy ve ark., 1978). Kadmiyum yüksek çözünbilme kapasitesinden dolayı sucul ekosistemler için oldukça önemli bir kirletici olarak değerlendirilir (Lockwood, 1976). Akuatik organizmalar Cd'yi doğrudan sudan alıp biriktirebilirler (Hart ve Scaife, 1977). Toprak ve suların ağır metallerle kirlenmesinin organizmalara olumsuz etkilerinin yanı sıra tuzluluk da bu alanlarda yaşayan bitkiler için en önemli streslerden biri olarak tanımlanmıştır (Shannon ve Grieve, 1998).

Aşırı Cd birikimi bitkilerde büyüme, transpirasyon, fotosentez, metabolizma ile ilişkili enzimler, klorofil biyosentezi ve nükleik asitler gibi yaşamsal olaylarda değişmelere neden olduğu belirtilmiştir (Ouariti ve ark., 1997). Benzer şekilde tuz stresinin de bitkilerde fizyolojik ve morfolojik değişikliklere neden olduğu rapor edilmiştir (Parida ve Das, 2005).

Kadmiyum toksisitesinin semptomları kolaylıkla tanımlanabilir. En genel semptomların ise cüce büyüme ve klorozis olduğu belirtilmiştir. Kadmiyum etkisinde yetiştirilen *Sesivum* ve *Mesembryanthemum*'un genç yapraklarında klorozisin olduğu görülmüştür. 200 ve 300 μM Cd etkisinde bırakılan *Sesivum* petiollerinde nekrozlar oluşmuş ve yaprakların döküldüğü gözlenmiştir. Düşük (50 μM) Cd etkisinde denenen *Mesembryanthemum*'un genç yapraklarında da nekrozların olduğu gözlemlenmiştir (Ghnaya ve ark., 2005). Das ve ark. (1997)'na göre klorozisin nedeni Fe eksikliğinden dolayı olabilir. Tuz stresinin *Z. mays*'daki etkilerini belirlemek için yapılan bir araştırmada 100 mM NaCl etkisinde denenen mısır bitkilerinin köklerinde sararmalar olmuş, yaprakların ise koyu yeşil görümlü olduğu gözlenmiştir. 25 mM NaCl etkisinde bırakılan bitkilerde ise herhangi bir toksisite semptomuna rastlanmamıştır (Zörb ve ark., 2004). *C. demersum* ile yapılan bu araştırmada Cd, NaCl ve bunların kombine etkilerinden dolayı oluşan toksisite semptomları gözlemlenmiştir. 1+ 80 mg L⁻¹+mM (Cd+NaCl) etkisinde bırakılan makrofitlerde stres etmenlerinin yüksek derişimlerinden dolayı araştırmanın ilk yaprakların çoğu dökülmüş ve dokularında yumuşamalar oluşmuştur (Çizelge 4.1).

C. demersum'un düşük Cd ve NaCl derişimlerinde dikkate değer toksisite semptomları (yaprak dökümü, renk değişimi ve doku yumuşaması) oluşmamışken, yüksek derişimlerde ise bu semptomların oluştuğu gözlenmiştir. Test edilen Cd ve NaCl derişimlerinin morfolojik etkileri kıyaslandığında makrofitin artan Cd derişimlerinden daha fazla etkilendiği ortaya çıkmıştır. Gözlemlerimizin aksine, Smykalova ve Zamecnikova (2003) 100 mM NaCl toksisitesi dikkate alındığında 0.001 ve 0.005 mM Cd'ye kıyasla daha fazla stres semptomları oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Kinraide (1999) bu durumu besin elementlerinin alınımının bozulmasına bağlamıştır. Cd+NaCl kombine etkilerinde stres etmenlerinin etkileşiminden makrofitin olumsuz etkilendiği gözlenmiştir. Submers makrofitlerde özellikle az sayıda araştırmanın yapılmış olması toksisite semptomları hakkında yorum yapmamızı sınırlamaktadır. Daha detaylı yapılacak çalışmalarla sucul makrofitlerde özellikle NaCl'nin toksisite semptomlarının nedenleri ortaya çıkarılabilir. Test edilen stres faktörlerinden kaynaklanan bu semptonların (1) makrofit için gerekli olan elementlerin alınımı ve/veya kullanımını sınırlamasından, (2) makrofitin yaşamsal fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda meydana gelen değişiklikler nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

Su bitkilerinin metalleri sudan alarak yapılarında biriktirdiği bilinmektedir. *C. demersum*'un iyi bir Cd akümülatörü olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Bunluesin ve ark. (2004) on üç farklı makrofit ile yaptıkları araştırmada *H. verticillata*'yı takiben en yüksek Cd akümülyasyonun 10 mg L⁻¹'lik derişimde 7381 mg kg⁻¹ (kuru ağırlık) olduğunu bulmuşlardır. 48, 72 ve 168 saat Cd etkisinde bırakılan *C. demersum*'un dokularındaki Cd derişiminde önemli düzeylerde artışların olduğu kaydedilmiştir (Gupta ve Chandra, 1996). *C. dermersum*'un Cd akümülyasyonu için benzer bulgular başka araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Ornes ve Sajwan, 1993; Dhir ve ark., 2004). Araştırma bulgularımıza göre makrofitteki Cd derişimi artan Cd derişimi ile birlikte artmıştır (Şekil 4.1). En yüksek artışın ise 160 kat ile 1 mg L⁻¹'lik derişimde olduğu bulunmuştur. Mevcut bulgular ile literatürlerdeki bulguların paralellik gösterdiği değerlendirmeler sonucunda ortaya çıkmıştır.

Bitkiler tarafından Cd alınımı pH, redoks potansiyeli ve fiziko-kimyasal faktörlerden etkilenir. Fazla araştırılmış olmamasına rağmen tuzluluk da bu faktörler arasındadır. Sucul makrofitlerden *Potamogeton pectinatus*'ta yüksek tuz derişimlerinde yetiştirildiğinde Cd akümüasyonlarında azalmalar bulunmuştur (Greger ve ark., 1995). *Lemna polyrhiza*'da yüksek tuzlulukta artan Na derişimlerinden dolayı Cd alınımında azalmaların olduğu kaydedilmiştir (Noraho ve Gaur, 1995). Submers ve yüzücü yapraklı makrofitlerle yapılan bu iki araştırmanın dışında makro alglerden *Fucus vesiculosus* ile yapılan bir araştırmada da Zn akümüasyonu artan tuzlulukla azaldığı bulunmuştur (Munda ve Hudnik, 1988). Bulgulara göre Cd akümüatörü olan *C. demersum*'da da NaCl tuzluluğu kadmiyum alınımını etkilemiştir. Cd+NaCl kombinasyonun 0.01+20 ve 0.1+40 mg L⁻¹+mM'lık uygulamalarında artan Cd derişimleriyle birlikte makrofit dokularının metal derişiminde de artışlar olmuştur (Şekil 4.1). Yalnız Cd uygulamaları dikkate alındığında bu artışlar daha az olduğu bulunmuştur. Prasad ve Hagemeyer (1999) NaCl'li koşullarda bu azalmanın nedeninin sulu ortamda oluşan ve bitkiler tarafından alınımı zor olan CdCl_x komplekslerinden dolayı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bulgulara göre *C. demersum*'un iyi bir Cd akümüatörü olduğunu söyleyebiliriz. Ornes ve Sajwan (1993), Gupta ve Chandra (1996) ve Bunluesin ve ark. (2004)'nın *C. demersum*'un Cd akümüasyon kapasitesini belirlemek için yaptıkları araştırmalarda da benzer bulgular elde etmişlerdir. Submers hidrofitler metalleri doğrudan sudan alarak dokularında biriktirebilirler. Böylece onların sulardaki ağır metal konsantrasyonlarını azaltmada kullanılabilecekleri belirtilmiştir. Mevcut veriler ve literatür bulguları dikkate alındığında bu makrofitin iyi bir Cd akümüatörü olduğu ve ağır metal kontaminasyonu olan (özellikle Cd) suların ıslahında (fitoremediasyon) kullanılabileceği sonucunu çıkartabiliriz.

NaCl tuzluluğunda yetiştirilen bitkilerin dokularındaki Na derişimlerinin bitki türü, dış ortamın tuz konsantrasyonu ve organlarına göre farklılar gösterdiği bilinmektedir. 100, 200 ve 400 mM NaCl etkisinde test edilen *Bruguiera barviflora* yapraklarının Na derişimi kontrolüne göre sırasıyla 2.38, 2.93 ve 3.05 kat artış gösterdiği bulunmuştur (Parida ve ark., 2004). NaCl etkisinde (30 ve 60 mM) yetiştirilmiş farklı domates varyetelerinin yapraklarındaki Na derişimlerinde tür içi

akümülayon farklılıklarının olduğu bulunmuştur (Garcia ve ark., 2004). Sucul makrofitlerden *H. verticillata*, *N. minor* ve *N. gramenia*'da NaCl tuzluluğunun etkileri ile yapılan bir araştırmada artan NaCl derişimiyle birlikte üç makrofitin de Na derişimlerinde artışların olduğu belirtilmiştir (Rout ve Shaw, 2001). NaCl etkisinde bırakılan *C. demersum*'un da Na derişimlerinde artan Na derişimi ile birlikte artışların olduğu bulunmuştur (Şekil 4.2). Makrofitin 20, 40 ve 80 mM NaCl'li derişimlerinde dokulardaki Na derişimi kontrole göre sırasıyla 1.49, 1.73 ve 2.31 katlık artışların olması makrofitin kayda değer miktarlarda bu elementi biriktirdiğini gösterir.

Cd+NaCl kombinasyonunda test edilen makrofitlerin Na derişimi de artan Cd ve NaCl derişimiyle birlikte artmıştır (Şekil 4.2). Bu artışların 0.01+20 ve 0.1+40 Cd+NaCl (mg L⁻¹ + mM) etkisinde kontrole göre sırasıyla 1.45 ve 1.92 kat olmuştur. Sadece NaCl uygulamaları dikkate alındığında 20 mM NaCl etkisindeki makrofitin Na derişiminde azalma olmuşken, 40 mM'lık derişimde artışın olduğu bulunmuştur. 100 mM NaCl etkisinde denenen arpa bitkilerinin Na derişimi % 3.02 olarak ölçülmüşken, 0.01 mM Cd+100 mM NaCl kombine etkisinde ise Na derişiminin % 2.76 olduğu bulunmuştur (Smykalova ve Zamecnikova, 2003). Sonuçlarımıza göre *C. demersum*'da Na derişimi Cd tarafından derişime bağımlı olarak etkilendiği bulunmuştur.

Bitkilerin normal metabolik olaylarını sürdürebilmesi için mineral nutrientlere ihtiyaçları vardır. Birçok stres faktörünün bitkiler tarafından bu elementlerin alınımını ve/veya kullanımını sınırlandırdığı yapılan çalışmalarla ortaya çıkartılmıştır. Makrofitin makro-nutrientlerden K, P ve N alınımları Cd stresinden etkilenmiştir. Cd derişimlerinin etkisi altında test edilen *C. demersum*'un K derişimleri artan kadmiyum derişimi ile birlikte artmıştır (Şekil 4.3). Kadmiyum stresi altında bitkilerin K derişiminde azalmaların olduğu yapılan araştırmalarla bulunmuştur (Ouzounidou ve ark, 1997). Benzer şekilde kum kültüründe 1 ppm Cd etkisinde yetiştirilen *Fagus sylvatica*'nın kök ve yapraklarının K derişiminde azalmaların olduğu bulunmuştur (Breckle ve Kahle, 1992). Bu bulguların aksine Cd stresi arpa bitkilerinde K akümülayonunda artışlara neden olmuştur (Smykalova ve Zamecnikova, 2003). Bu da bizim sonuçlarımızla paralellik taşımaktadır. Makrofitin

Cd ve K derişimleri arasında önemli pozitif ilişkinin bulunması da artan Cd derişimlerinin K alınımını artırdığını gösterir ($P=0.002$; $r=0.800$) (Çizelge 4.2). Makrofitin P (Şekil 4.4) ve toplam N (Şekil 4.5) derişimi ise artan Cd derişimi ile azalmıştır. *C. demersum*'un Cd derişimi ile P ($P=0.001$; $r=-0.803$) ve toplam N ($P=0.006$; $r=-0.742$) derişimleri arasında önemli negatif ilişkinin bulunması artan Cd derişimlerinden makrofitin bu elementlerin alımlarının olumsuz yönde etkilendiğini göstermiştir (Çizelge 4.2).

C. demersum'un mikro-element alınımları da Cd stresinden etkilemiştir. Mn derişimleri düşük Cd etkisinde (0.01 ve 0.1 mg L^{-1}) artmışken yüksek Cd derişimde ise önemli düzeylerde azalmıştır (Şekil 4.6). Makrofitin Mn derişimleriyle Cd derişimi arasında negatif önemli korelasyonun oluşması bu metalin Mn alınımını sınırlayan bir faktör olduğunu göstermiştir ($P=0.033$; $r=-0.617$) (Çizelge 4.2). Ayrıca makrofit dokularının Zn (Şekil 4.7), Fe (Şekil 4.8) ve Cu (Şekil 4.9) konsantrasyonlarında da artan Cd derişimi ile birlikte azalmaların olduğu bulunmuştur. Fakat Cd derişimleri ile bu elementlerin arasındaki ilişkilerin negatif önemsiz bulunması Cd'nin etkilerinin doz bağımlı olmadığını göstermiştir. Kadmiyum etkisinde yetiştirilen *F. sylvatica*'nın kök ve yapraklarının Mg, Fe, Mn, ve Zn miktarlarında azalmaların olduğu bulunmuştur (Breckle ve Kahle, 1992). Liu ve ark. (2003) farklı pirinç genotiplerinin kök ve yapraklarının Cd, Fe, Zn, Mn, Cu ve Mg miktarları arasında önemli ilişkilerin olduğunu bulmuşlardır. Köklerin Cd akümülyasyonları ile Fe, Zn, Mn ve Cu miktarları arasında istatistiksel olarak önemli pozitif ilişkilerin olduğu bulunmuştur. Yaprakların Cd akümülyasyonu ile Fe, Zn ve Cu derişimleri ile önemli pozitif ilişki bulunmuşken, Mn ile önemli negatif ilişkinin olduğu belirlenmiştir. *C. demersum* dokularındaki Zn derişimlerinin düşük bulunması muhtemelen Cd ile kimyasal olarak benzer özellikler gösterdiğinden dolaydır (Muhling ve Lauchli, 2003). Bu sonuçlara göre Cd bitki için gerekli olan bazı makro- ve mikro- elementlerin alınımını etkileyen faktörlerden biri olduğu sonucu çıkartılabilir.

Tuz stresi bitkiler için gerekli olan elementlerin alınımlarını genelde azaltmıştır. NaCl stresi altında yetiştirilen bitkilerin K derişlerinde azalmaların olduğu bulunmuştur (Lynch ve Lauchli, 1985). Tuzlu koşullarda test edilen

makrofitlerde Na derişimlerinde kontrole göre önemli artışların olduğu bulunmuşken K derişiminde önemli düzeylerde azalmaların olduğu bulunmuştur (Rout ve Shaw, 2001). Yine farklı NaCl'li derişimlerde yetiştirilen kavun fidelerinin Na derişimlerinde önemli artışlar olmuşken K derişimlerinde ise azalmaların olduğu bulunmuştur (Sivritepe ve ark., 2003). Yapılan bu önceki çalışmalara benzer şekilde 20, 40 ve 80 mM NaCl etkisinde test edilen *C. demersum*'un K derişimi artan tuz derişimi ile birlikte azalmıştır (Şekil 4.3). Ayrıca dokuların Na ve K derişimleri arasında negatif ve önemli korelasyonun bulunmuş olması ($P=0.022$; $r=-0.649$), bu azalmanın nedeninin Na derişiminden kaynaklandığını gösterebilir. Sivritepe ve ark. (2003)'e göre tuz stresinde K derişimindeki artışların olması tuza toleransın göstergelerinden biri olduğu belirtilmiştir. Sonuçlarımıza göre artan Na derişimi ile birlikte azalan K derişimleri bu makrofitin tuz toleransının düşük olduğunu açıklayabilir. Makro besin elementlerinden P (Şekil 4.4) ve N (Şekil 4.5) derişimi de artan NaCl derişimi ile birlikte azalmıştır. Her iki elementin derişimleriyle ile makrofitin Na derişimleri arasında negatif korelasyonların bulunması Na'nın bu elementlerin alınımını olumsuz yönde etkilediğini göstermiştir (fosfor için $P=0.007$; $r=-0.728$, N için $P<0.001$; $r=-0.877$) (Çizelge 4.2).

Tuz stresinde bitkilerin Mn, Zn, Fe ve Cu gibi mikro-nutrientlerin alınımı ve taşınımı hakkında çok az bilgi mevcuttur (Muhling ve Lauchli, 2003). Bulgulara göre *C. demersum*'un Mn derişimlerinin NaCl stresinde artış gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.6). Fakat makrofitin Mn derişimi ile Na derişimleri arasında önemli korelasyon oluşmamıştır ($P=0.082$; $r=0.522$). Makrofitin Fe (Şekil 4.8) derişimleri de NaCl etkisinde önemsiz artışlar göstermişken, Zn (Şekil 4.7) ve Cu (Şekil 4.9) derişimlerinde önemli azalmaların olduğu bulunmuştur. Bu metallerin derişimdeki azalmalar ortamdaki aşırı Na ve Cl iyonlarıyla olan etkileşimden kaynaklanabilir. Tuzlu koşullarda mikro-nutrientlerin çözünürlüğünün düşük olduğu bilinmektedir. Ancak Grattan ve Grieve (1999)'ye göre mikro-elementlerin derişimleri bitkinin türüne, dokusuna, tuz derişimine, mikro-element derişimine ve çevresel şartlara bağlı olarak artabilir, azalabilir veya değişmeyebilir. Cramer ve ark. (1985)'na göre de tuz stresli koşullarda mikro-element akümüülasyonunun artışının nedeni özellikle artan plazma membran permabilitesinden kaynaklanmaktadır.

C. demersum'un K derişiminde yüksek Cd etkisinde önemli artış, NaCl uygulamasında ise önemli azalmalar göstermesine rağmen Cd+NaCl etkisinde ise önemli değişim göstermemiştir (Şekil 4.3). Cd+NaCl uygulamasında Cd ile Na derişimleriyle K derişimleri arasında negatif önemsiz korelasyonlar oluşmuştur (Cd için $P=0.829$; $r=-0.084$, Na için $P=0.627$; $r=-0.189$). Kadmiyum ve NaCl ile karşılaştırıldığında Cd+NaCl kombinasyonunda meydana gelen bu durumun benzer bulguları Smykalova ve Zamecnikova (2003) ve Muhling ve Lauchli (2003) tarafından da rapor edilmiştir.

C. demersum'un P derişimleri ayrı ayrı Cd ve NaCl uygulamalarında olduğu gibi Cd+NaCl etkileşimlerinden de olumsuz yönde etkilendiği bulunmuştur (Şekil 4.4). Literatürde ağır metal-tuz etkileşiminin P alımını üzerine etkileriyle ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Korelasyon analizlerinde hem Cd hem de Na ile P arasında negatif önemli ilişkilerin bulunmuş olması her iki stres etmeninin P alımını sınırlayan bir faktör olduğu sonucunu çıkartabiliriz (Cd için $P=0.013$; $r=-0.781$, Na için $P=0.007$; $r=-0.819$).

Bitkilerde N düşük derişimlerde inorganik formlarda olmasına karşın, genelde organik formlarda bulunur. Bitkilerdeki N derişimleri bitkinin yaşına, türüne ve organına göre farklılıklar gösterir. Genelde bitkilerin toplam N derişimlerinin % 0.2 ile % 6.0 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Millar, 1959). Kadmiyum ve NaCl uygulamasında toplam N derişimleri önemli düzeyde azalmış olmasına karşın düşük N derişimleri Cd+NaCl derişimlerinde ölçülmüştür (Şekil 4.5). Korelasyon katsayıları ve önem dereceleri de bu bulguları desteklemektedir (Cd için $P=0.002$; $r=-0.885$, Na için $P<0.001$; $r=-0.938$) (Çizelge 4.2). Bu sonuçlara göre makrofitin N alımının ağır metal ve tuz etkileşimlerinde şiddetli bir biçimde azaltıldığı ortaya çıkartılmıştır. Ağır metallerin ve tuz stresinin bitkilerin N derişimlerinde azalmalara neden olduğu başka araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Cram, 1973; Saygideger ve ark., 2004).

Kadmiyumun düşük derişimlerinde ve NaCl uygulamalarında Mn derişiminde önemli artışların bulunduğu belirtilmişti. $0.01 \text{ mg Cd mL}^{-1}+20 \text{ mM NaCl}$ etkileşiminde Mn derişiminde önemli değişim olmamışken, $0.1 \text{ mg Cd mL}^{-1}+40 \text{ mM NaCl}$ derişiminde ise önemli artışlar olmuştur (Şekil 4.6). Mn derişimi için benzer

sonuçlar Muhling ve Lauchli (2003) tarafından da bulunmuştur. Makrofit dokularında Mn derişiminde değişmeler olmasına rağmen Cd ve Na ile Mn derişimleri arasındaki pozitif ilişkiler ise önemsiz bulunmuştur (Cd için $P=0.280$; $r=0.404$, Na için $P=0.207$; $r=0.465$). Ayrıca makrofitin Zn (Şekil 4.7) ve Fe (Şekil 4.8) derişimleri de $0.01+20$ (mg Cd mL⁻¹+ mM NaCl) etkisinde artış göstermiş, $0.1+40$ (mg Cd mL⁻¹+ mM NaCl)'lık etkileşimde ise azalmıştır. Her iki metal ile Cd ve Na derişimleri arasında önemli korelasyon oluşmamıştır. *C. demersum*'un Cu derişimleri ile Cd ve NaCl'nin ayrı ayrı uygulamalarında olduğu gibi Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde de azalmıştır (Şekil 4.9). Ayrıca makrofitin Cu derişimi ile Cd ve Na akümülayonları arasında negatif kuvvetli korelasyonların oluşmuş olması (Cd için $P=0.016$; $r=-0.766$, Na için $P=0.014$; $r=-0.777$), bu etmenlerin karşılıklı etkili bir biçimde Cu alınımını engellediğini göstermektedir. Cd+NaCl etkinde test edilen bitkilerde Cu ve Zn için Smykalova ve Zamecnikova (2003)'nın ve Cu, Zn, Mn ve Fe için Muhling ve Lauchli (2003)'nin benzer bulgular elde etmiş olması sonuçlarımızı desteklemektedir.

Literatür çalışmaları sonucunda bitkilerin mineral element akümülayonları bitki türüne, organına ve test edilen metalin derişimi ve özelliğine göre farklılıklar gösterdiği görülmüştür. Özellikle ağır metal+tuz etkileşiminin makro ve mikro element alımları üzerine etkileriyle ilgili sınırlı sayıda araştırmanın yapılmış olması sonuçlarımızı değerlendirmemizi zorlaştırmaktadır. Fakat genel olarak bilindiği gibi Cd ve NaCl'nin membranlara zarar vermesi, test edilen kimyasalların (Cd ve NaCl) ortamdaki anyon ve katyonlarla antagonistik ve/veya sinerjistik olarak etkileşmesi ya da makrofit membranlarının element taşıyıcıları ile rekabet etmesinden dolayı bu sonuçların oluştuğu düşünülmektedir.

Klorofil miktarı ağır metal toksisitesine hassas olan parametrelerden biridir. Ağır metelelerin klorofil sentezini inhibe ettiği ve sonuç olarak klorofil miktarlarında azalmalara neden olduğu birçok araştırıcı tarafından rapor edilmiştir (Miranda ve Ilangovan, 1996; Mohan ve Hosetti, 1997). Akuatik makrofitlerden *Ceratophyllum*, *Hydrilla* ve *Wolffia*'da klorofil-a ve klorofil-b miktarlarının artan Cd derişimleriyle birlikte azaldığı bulunmuştur. *Ceratophyllum* ile yapılan başka bir araştırmada 0.5 ve 1 mM Cd etkisinde klorofil-a miktarlarındaki azalmalar kontrole göre sırasıyla % 2.7

ve % 5.3 olmuşken, klorofil-b miktarlarında ise sırasıyla % 6.7 ve % 30.0 olduğu bulunmuştur (Dhir ve ark., 2004). Kadmiyum etkisinde yetiştirilen *C. demersum*'un toplam klorofil miktarlarında da artan Cd derişimi ile birlikte azalmaların olduğu bulunmuştur. 0.05, 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹ derişimlerinin etkisinde bırakılan makrofitin karotenoid miktarları ise kontrole göre sırasıyla % 12.5, % 18.8 ve % 62.5 oranında azalmıştır (Gupta ve Chandra, 1996). Bulgularımıza göre Cd derişimli koşullarda yetiştirilen makrofitlerin klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid miktarları artan metal derişimi ile birlikte azalmıştır. Klorofil-a miktarları özellikle 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹ lik derişimlerde önemli düzeylerde azalmıştır (Şekil 4.10). Ancak makrofitin Cd derişimleri ile klorofil-a miktarları arasındaki ilişkinin önemli bulunmaması (P=0.06; r= -0.556) etkinin doz bağımlı olmadığını gösterebilir (Çizelge 4.2). Benzer şekilde makrofitin klorofil-b miktarları da artan Cd derişimi ile azalmıştır (Şekil 4.11). Klorofil-b miktarları 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹ lik derişimlerde sırasıyla % 30.1 (P<0.05) ve % 39.3 (P<0.01) düzeyinde azalmıştır. Klorofil-a miktarlarının aksine klorofil-b miktarları ile dokulardaki Cd miktarları arasında önemli ilişkinin bulunması (P=0.018; r=-664) azalmaların doz bağımlı olduğunu gösterebilir (Çizelge 4.2).

Bulgularımıza göre karotenoid miktarlarındaki azalmalar klorofil miktarlarına göre daha az olmuştur (Şekil 4.12). Karotenoid miktarında azalma sadece 1 mg Cd L⁻¹ lik derişimde önemli bulunmuştur. Genelde karotenoidler ağır metal stresinden daha az etkilendikleri rapor edilmiştir (Krupa, 1988). Makrofitin Cd derişimi ile karotenoid miktarları arasında ilişkinin bulunmaması bu raporu desteklemektedir (P=0.095; r= -0.504) (Çizelge 4.2).

Kadmiyum stresi (1) δ -aminolevulinik asit dehidrataz (ALA-dehidrataz) (Padmaja ve ark., 1990) ve klorofil biyosentezi ile ilişkili olan protoklorofillid redüktaz gibi enzimlerin inhibisyonu (Van Assche ve Clijsters, 1990), (2) klorofil biyosentezi için gerekli olan Mg ve Fe elementlerinin alınımı ve kullanımının zayıflaması, (3) Zn yetersizliği sonucunda karbonik anhidraz enziminin inhibisyonu (Van Assche ve Clijsters, 1990) ve (4) klorofil molekülünün tetrapirel halkasındaki Mg'nin yerine bağlanması (Küpper ve ark., 1996) yollarıyla klorofil biyosentezini inhibe etmiş ve dolayısıyla da klorofil miktarlarında azalmaya neden olmuş olabilir.

Tuz stresli koşullarda yetişen bitkilerin fotosentetik pigment miktarlarında azalmaların olduğu yapılan araştırmalar sonucunda bulunmuştur. Rout ve ark. (1998) sucul makrofitlerden *H. verticillata*, *N. indica* ve *N. gramenia*'da tuz stresi (NaCl ve deniz suyu olarak makrofitlerin klorofil-a/klorofil-b miktarlarında önemli miktarlarda azalmalara neden olduğunu bulmuşlardır. Farklı dut genotiplerinin klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid miktarları tuz etkisinde azalmıştır (Agastian ve ark., 2000). NaCl stresi yonca bitkilerinin klorofil miktarlarını azaltmışken, karotenoid miktarlarında önemli bir değişime neden olmadığı bulunmuştur (Khavari-Nejad ve Chaparzadeh, 1998). Bu araştırmada NaCl'li koşullarda test yetiştirdiğimiz *C. demersum*'un klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid miktarlarında azalmaların olduğu bulunmuştur. Klorofil-a miktarları tuz stresinde azalmıştır (Şekil 4.10). Fakat bu azalmalardan sadece 80 mM'lık derişimdeki azalmanın % 17.7 ile önemli olduğu bulunmuştur. Makrofitin Na miktarı ile klorofil-a miktarları arasında negatif önemli ilişkinin bulunması ters yönlü bir ilişkinin olduğunu gösterir ($P=0.024$; $r=-0.642$). Makrofitin klorofil-b miktarları da artan NaCl derişimlerden olumsuz yönde etkilenmiştir (Şekil 4.11). 20, 40 ve 80 mM'lık derişimlerinde klorofil-b miktarları kontrole göre % 30.6, % 31.2 ve % 39.8 düzeyinde azalmıştır. Makrofitin Na miktarı ile klorofil-b miktarları arasında da önemli negatif ilişkinin bulunması doz bağımlı azalmanın olduğunu gösterir ($P=0.01$; $r=-0.701$). *C. demersum*'un karotenoid miktarları NaCl stresinden etkilenmemiştir (Şekil 4.12). Karotenoid miktarları ile Na miktarları arasında da önemli bir korelasyon bulunmaması ($P=0.231$; $r=-0.374$) makrofitin bu derişimlerde NaCl'den etkilenmediğini desteklemektedir (Çizelge 4.2).

Tuz stresinin bitkilerin kloroplast yapılarında değişmelere neden olduğu bulunmuştur (Keiper ve ark., 1998). Tuz stresi altında bitkilerin karbon asimilasyonlarında azalmalar olmuş (Munns ve Termatt, 1986), fotosentetik elektron transportu ve Kelvin döngüsünün enzimlerini de inhibe etmiştir (Reddy ve ark., 1992). Bu çalışmalar açıkça tuzluluğun fotosentezi etkilediğini göstermektedir. Bulgularımıza göre NaCl etkisinde makrofitin klorofil miktarlarında azalmaların olduğu bulunmuştur. Santos (2004) tuz stresinde klorofil miktarlarındaki azalmaları ALA dehidrataz inhibisyonuna ve dolayısıyla da klorofil biyosentezinin sınırlandırılmasına bağlamıştır. Reddy ve Vora (1986) ise tuz stresinden kaynaklanan

bu azalmaların klorofil parçalanmasında rol oynayan klorofilaz enziminden dolayı olabileceğini belirtmiştir. Makrofit dokularının iyon miktarlarındaki (Na iyonu) artışların da klorofil miktarlarında azalmalara neden olabileceği rapor edilmiştir (Yeo ve Flowers, 1983).

Cd+NaCl etkindeki makrofitlerin klorofil-a miktarlarında azalmalar olmuştur (Şekil 4.10). Korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd ve Na miktarları ile klorofil-a miktarları arasında ters yönlü önemli ilişkinin bulunması her iki metalin de azalmaya neden olduğunu göstermektedir (Cd için $P=0.009$; $r=-0.806$, Na için $P=0.025$; $r=-0.733$). Cd ve NaCl kombinasyonlarında test edilen *C. demersum*'un klorofil-b miktarlarında da artan Cd ve NaCl derişiminden olumsuz yönde etkilendiği bulunmuştur (Şekil 4.11). Makrofitin Cd miktarıyla klorofil-b miktarları arasında önemli ilişkinin olmaması ($P=0.052$; $r=-0.660$), Na derişimiyle önemli ilişkinin bulunması ($P=0.042$; $r=-0.683$) makrofitin bu parametre için NaCl'den daha fazla etkilendiğini açıklayabilir. Yalnız NaCl uygulamalarında bulunduğu gibi Cd+NaCl etkileşiminde de makrofitin karotenoid miktarlarında önemli değişimler olmamıştır (Şekil 4.12). Yapılan korelasyon analizlerine göre de Na ve/veya Cd ile karotenoid miktarları arasında önemli ilişkilerin olmadığı görülmüştür (Cd için $P=0.900$; $r=0.049$, Na için $P=0.642$; $r=-0.181$). Cd+NaCl kombinasyonlarında fotosentetik pigment miktarlarındaki bu azalmaların nedenleri de Cd ve NaCl streslerinin karşılıklı etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Hangi stres faktörünün nasıl etki yaptığının belirlenmesi için daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Bitkilerdeki metabolik olaylar doğrudan ya da dolaylı olarak birbirleriyle ilişkilidir. Fotosentezde meydana gelen değişimler doğrudan ya da dolaylı olarak bitkilerde birçok metabolik olayları da etkiler. Karbohidrat metabolizması da bu proseslerden biridir. Çeşitli stres koşullarında bitkilerin karbohidrat miktarlarında genelde azalmalar bulunmuştur. Kadmiyum stresinde *Arachis hypogaeae*'nın toplam çözülebilir karbohidrat miktarlarında genelde azalmaların olduğu bulunmuştur (Beltagi ve ark., 2002). Bir su bitkisi olan *L. minor*'ler 0.5, 1, 5 ve 10 μM Cd etkisinde 96 saat yetiştirildiklerinde karbohidrat miktarları sırasıyla % 31.2, % 37.1, % 41.9 ve % 45.4 oranında azalmıştır (Mohan ve Hosetti, 1997). Yaptığımız araştırma bulgularına göre de Cd etkisinde toplam çözülebilir karbohidrat

miktarlarında da azalmaların olduğu bulunmuştur (Şekil 4.13). Fakat bu azalmalar sadece 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimdeki makrofitte önemli olmuştur. *C. demersum* dokularının Cd derişimleri ile toplam karbohidrat miktarları arasındaki ilişki ters yönlü ve zayıf oluşmuştur (P=0.103; r= -0.493) (Çizelge 4.2).

Tuz stresli koşullarda bitkilerin karbohidrat miktarlarında değişmelerin olduğunu destekleyen birçok araştırma mevcuttur. Silva ve ark. (2003) *Vigna unguiculata*'da farklı NaCl'nin çözünebilir karbohidrat miktarlarında artan NaCl derişimi ile birlikte artışların olduğunu bulmuşlardır. *Sorgum bicolor*'un tuza tolerant ve tuza hassas varyetelerinde çözünebilir karbohidrat miktarları 100 mM NaCl etkisinde önemli miktarlarda arttığı bulunmuştur. Araştırmacılar bu artışların ozmotik ayarlamadan dolayı olduğunu ileri sürmüşlerdir (de Lacerda ve ark., 2003). NaCl etkisinde yetiştirilen üç farklı buğday kültürlerinin kök ve yapraklarında da toplam karbohidrat miktarlarında artışların olduğu bulunmuştur (Kafi ve ark., 2003). Yapılan bu araştırma bulgularının aksine *Aegiceras corniculatum* ile yapılan bir çalışmada NaCl stresi bitkinin toplam karbohidrat miktarlarında azalmalara neden olduğu bulunmuştur (Parida ve ark., 2004). Araştırma bulgularına göre NaCl stresli koşullarda test edilen *C. demersum*'un da toplam karbohidrat miktarlarında azalmaların olduğu bulunmuştur (Şekil 4.13). Bu azalmalardan sadece 80 mM'lık derişimdeki azalma % 23.8 ile önemli bulunmuştur. NaCl'li derişimlerindeki *C. demersum*'un Na miktarları ile karbohidrat miktarları arasında orta düzeyli negatif ilişkinin önemli bulunması bu azalmaların doz bağımlı olduğunu gösterebilir (P= 0.029; r=- 0.628).

Cd+NaCl'li derişimlerde de *C. demersum*'un toplam karbohidrat miktarlarında artan Cd ve NaCl miktarlarıyla birlikte azalmaların olduğu bulunmuştur (Şekil 4.13). Bu azalmalardan sadece 0.1 mg Cd L⁻¹ + 40 mM NaCl'li derişimdeki azalma önemli bulunmuştur. Yapılan korelasyon analizlerine göre makrofit dokularının Cd miktarları ile toplam karbohidrat miktarları arasında ters yönlü ve önemsiz ilişki oluşmuşken (P= 0.082; r= -0.608), Na miktarları arasında ters yönlü ve önemli ilişkinin bulunması (P=0.010; r= -0.800) makrofitin Cd+NaCl kombine stresinde NaCl'den daha fazla etkilendiğini gösterebilir (Çizelge 4.2).

Karbohidratların tuz stresli koşullarda yetiştirilen bitkilerde ozmotik ayarlama için akümüle edildiği bilinmektedir. Araştırma materyalimizin yaşamı su altında geçmektedir. Bu bakımdan su eksikliğinden kaynaklanan bir değişimden bahsetmek mümkün değildir. Benzer şekilde Cd ve Cd+NaCl'li derişimlerde de karbohidrat miktarlarında azalmalar bulunmuştur. Toplam çözülebilir karbohidrat miktarlarındaki bu azalmaları stres koşullarında klorofil miktarlarında meydana gelen azalmalara -dolayısıyla fotosentezi etkiler- ve/veya Munns (1988)'un da rapor ettiği gibi stresli koşullardaki makrofitin enerji kaynağı olarak bu karbohidratları kullanmış olabileceğine bağlamaktayız.

Çeşitli çevresel stresler altında bitkilerin glukoz miktarlarında değişimler oluşmaktadır. Biber bitkileri KCl ve NaCl stresli koşullarda yetiştirilmiş; glukoz miktarları NaCl'li koşullarda dikkate değer değişim göstermemişken, KCl'li derişimde ise azaldığı bulunmuştur (Martinez-Ballesta ve ark., 2004). NaCl'li koşullarda yetiştirilen *L. albus*'un glukoz miktarının azaldığı bulunmuştur (Fernandes ve ark., 2004). Emers tipi makrofitlerden *Phragmites australis*'un glukoz miktarları % 0.15'lik NaCl'li koşullarda artmışken, % 1'lik NaCl derişiminde önemli miktarlarda azalmıştır (Hartzendorf ve Rolletschek, 2001). Cd, NaCl ve Cd+NaCl etkileşimlerinde *C. demersum*'un glukoz miktarlarında da değişimler olmuştur (Şekil 4.14). 0.01, 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹'lik etkisinde test edilen makrofitin glukoz miktarlarında önemli miktarlarda azalmalar olmuştur. Ancak makrofit dokularının Cd derişimleri ile glukoz miktarları arasında kayda değer bir korelasyon bulunmamıştır (P=0.323; r=- 0.312). NaCl stresi makrofitin glukoz miktarlarında da dikkate değer azalmalara neden olmuştur. En düşük glukoz miktarı 80 mM'lık derişimde ölçülmüştür. Yapılan korelasyon analizine göre makrofitin Na miktarı ile glukoz miktarları arasındaki ilişkinin negatif ve önemli olması Na akümülyasyonuna bağımlı bir azalma olabileceğini gösterebilir (P=0.018; r=-0.668). Cd+NaCl kombinasyonunda da makrofitin glukoz miktarları Cd ve NaCl etkileşiminden olumsuz yönde etkilenmiştir. Korelasyon analizleri incelendiğinde hem Cd akümülyasyonu (P=0.047; r=-0.674) hem de Na akümülyasyonu (P=0.017; r=-0.764) ile glukoz miktarları arasında ters yönlü önemli ilişkilerin oluştuğu görülebilir

(Çizelge 4.2). Bu sonuçlar her iki stres etmeninin de glukoz miktarındaki azalmalarda etkili olduğunu göstermektedir.

Bir monosakkarit olan glukoz ($C_6H_{12}O_6$), bitkilerde fotosentez sonucu oluşan ve enerji kaynağı olarak kullanılan bir karbohidrattır. Bitkilerde en önemli biyolojik proseslerden olan fotosentezi birçok stres etkilemektedir. Araştırmada test ettiğimiz Cd ve NaCl streslerinin de özellikle klorofil miktarlarında azalmalara neden olduğu belirtmişti. Bu azalmalar da özellikle fotosentezi doğrudan etkileyebilmektedir. Bu bilgiler ışığında glukoz miktarlarındaki azalmaların fotosentezde meydana gelen aksaklıklardan kaynaklanabileceği ihtimalini düşünmekteyiz.

Tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklık, ağır metal toksisitesi, patojen enfeksiyonları, besin elementi eksiklikleri atmosferik kirlilik ve UV radyasyonları gibi stres koşullarında bitkilerde prolin akümülyasyonları stimüle edilebilir (Hare ve Cress, 1997). Bu stresler etkisinde bitkilerin büyük bir çoğunluğu prolin konsantrasyonlarını normal seviyeden 100 kat artırabilirler (Aziz ve ark., 1998). Ağır metal stresinde prolin miktarlarında artışların olduğunu gösteren birçok araştırma yapılmıştır. Schat ve ark (1997) *S. vulgaris*'in metal tolerant ve tolerant olmayan ekotiplerini Cd, Cu ve Zn etkisinde bırakmış ve en yüksek prolin akümülyasyonun Cd stresinde oluştuğunu bulmuşlardır. Cd etkisinde bırakılan iki farklı arpa genotipinde prolin miktarlarında artışlar bulunmuştur (Wu ve ark., 2004). Bu bulguların aksine sucul makrofitlerden *L. minor* 0.5, 1, 5 ve 10 μM Cd etkisinde 96 saat bırakılmış ve prolin miktarları kontrole göre sırasıyla % 0.7, % 1.3, % 2.0 ve % 3.9 oranında azalmalar olmuştur (Mohan ve Hosetti, 1997). Araştırma bulgularımıza göre Cd etkisinde *C. demersum*'un prolin miktarlarında artışların olduğu bulunmuştur (Şekil 4.15). 0.01 mg Cd L^{-1} 'lik derişimde prolin miktarı önemsiz artmışken, 0.1 ve 1 mg Cd L^{-1} 'lik derişimlerde ise kontrolüne göre önemli artışlar olmuştur. Ancak korelasyon analizlerine göre makrofitin Cd derişimi ile prolin miktarları arasında zayıf ve önemsiz bir ilişki bulunmuştur ($P=0.259$; $r=0.359$) (Çizelge 4.2).

Prolinin metal toksisitesindeki rolleri de birçok araştırmacı tarafından tartışılmıştır. Mehta ve Gaur (1999) prolinin bitkileri metal toksisitesinden korumayacağını belirtmişlerdir. Metal stresinde prolin proteinlerin denaturasyonunda, hücre içi pH ve $NAD(P)^+/NAD(P)H$ oranlarının regülyasyonunda,

karbon ve azot kaynağı olarak kullanımda ve toksik reaktif oksijen türlerinin temizlenmesinde görev yapabilir (Sharmila ve Pardha Saradhi, 2002). Bazı araştırmacılar metalin prolin tarafından şelatlanıp detoksifikasyonunda da görev yaptığı belirtilmiştir (Farago ve Mullen, 1979). *C. demersum* Cd ve Cd+NaCl uygulamalarında dikkate değer miktarlarda Cd'yi akümüle etmiştir. Biyolojik olarak gerekli olmayan bir metal olan Cd toksisitesine karşı bitkiler çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlardan birinin de serbest prolin olduğu yapılan bu araştırma ile ortaya çıkarılmıştır. Özellikle artan Cd derişimleri ile birlikte prolin miktarlarında artışların olması bu aminoasidin metal stresine cevapta biyosentezinin arttığını açıklayabilir.

Tuz stresli koşullarda yetiştirilen bitkilerin serbest prolin akümülyasyonlarında nasıl bir değişim olduğu yapılan çalışmalar ile bulunmuştur. Farklı buğday varyeteleri NaCl etkisinde bırakıldıklarında bitkilerin kök ve yapraklarının prolin miktarları önemli oranlarda artmıştır (Kafi ve ark., 2003). *Bacopa monniera* NaCl derişimlerinde yetiştirildiklerinde prolin miktarlarında artışların olduğu bulunmuştur (Ali ve ark., 1999). Bu bulguların aksine prolin miktarları sucul makrofitlerden *Hydrilla verticillata*'da NaCl etkisinde azalmıştır (Rout ve ark., 1998). Araştırmacılar bu bulgulara dayanarak prolinin bu tür ekolojik özelliğe sahip bitkiler için bir gösterge olamayacağı sonucuna varmışlardır. Araştırma bulgularımıza göre akuatik makrofitlerden *C. demersum*'da ise serbest prolin miktarlarının artan NaCl etkisinde önemli oranlarda arttığı bulunmuştur (Şekil 4.15). NaCl stresli koşullarda makrofitin Na miktarı ile prolin miktarları arasında oldukça önemli korelasyonun bulunması bu artışların tuz stresinden kaynaklandığını gösterebilir ($P=0.001$; $r=0.847$) Çizelge 4.2).

Kadmiyum ve NaCl kombine etkisinde toksik metalin ve tuzun etkileşiminden dolayı da prolin akümülyasyonlarında önemli artışlar bulunmuştur (Şekil 4.15). $0.01+20$ ve $0.1+40$ ($\text{mg Cd L}^{-1}+\text{mM NaCl}$)'lık derişimlerde sırasıyla % 39.7 ve % 60.3 olmuştur. Makrofit dokularının hem Cd ($P=0.019$; $r=-0.752$) hem de Na ($P=0.018$; $r=-0.756$) ile önemli ilişkilerinin olması etkişimin prolin akümülyasyonu üzerinde sinerjistik etkisinin olduğunu açıklayabilir.

Prolinin tuz stresindeki etki mekanizması tam olarak anlaşılamamasına karşın ozmotik stresi düzenlemede ve enzimlerin korunmasında (Basak ve ark., 2001),

biyolojik membranların ve poliribozomların korunmasında rol oynadığı ileri sürülmüştür. Ayrıca prolin serbest radikaller ile stabil kompleksler oluşturarak onları detoksifiye etme yeteneğindedir. Böylece prolinin $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$ oranlarını normal seviyede tutabileceği belirtilmiştir (Hare ve Cress, 1997). *C. demersum*, daha önce de belirtildiği gibi tamamıyla su altında yaşayan bir bitkidir. Bu bakımdan bu bitkide her ne kadar yüksek derişimlerde Na akümüle edilmiş olsa bile tuzluluktan kaynaklanan bir ozmotik streten bahsetmenin doğru olabileceğini sanmıyoruz. Ozmotik düzenleyici organik moleküllerden olan prolinin karasal bitkiler için bu işlevi yaptığını literatür bulgular ışığında kabul ediyoruz. Bu bakımdan makrofitin tuz stresli koşullarda (NaCl ve/veya Cd+NaCl) makrofit dokularında oluşan serbest radikallere karşı savunmada bu aminoasitin biyosentezinde artışların olabileceğini düşünmekteyiz.

Sistein, fitoşelatinler gibi proteinlerin ve GSH gibi protein olmayan peptitlerin yapısında yer alan bir aminoasittir. GSH (γ -Glu-Cys-Gly)'ın bitkilerde strese karşı koymada önemli rolleri vardır. Ayrıca Cd ve diğer ağır metal etkisindeki bitkilerde metal detoksifikasyonunda rol oynayan fitoşelatinlerin öncü molekülü de GSH'tır (Cobbett, 2000). Bitkilerin metal ve tuz stresi altında sistein miktarlarında değişimler olduğu yapılan araştırmalarla bulunmuştur. Oven ve ark. (2002) yaptıkları araştırmada *Crotalaria cobalticola*'yı 7 gün boyunca farklı kobalt derişimlerinin etkisinde bırakmış ve serbest sistein miktarlarının 10 mM Co derişiminde kontrole göre 31 kat arttığını bulmuşlardır. Yapılan kinetik çalışmalara göre ise en yüksek artışın 96 saat sonunda olduğunu hesaplamışlardır. Yeşil alglerden *Scenedesmus acutus*'un Cr tolerant ırkında Cd uygulaması sistein miktarlarında önemli artışlara neden olmuştur. *S. acutus*'un yabani ırkında da Cd uygulaması sistein miktarını artırmıştır. (Torricelli ve ark., 2004). Bazı araştırmacılar ise bitkilerin Cd etkisinde sistein ve GSH miktarlarında önemli miktarlarda azalmaların olduğunu rapor etmişlerdir (Grill ve ark., 1985). Kadmiyum etkisinde bırakılan *Pisum sativum*'un köklerinde ilk gün sistein miktarları kontrolden yüksek olmuşken, uygulamanın 3. gününde ise azalmıştır (Lima ve ark., 2004). Nocito ve ark. (2002) bu durumu hücrenin aşırı -SH ihtiyacına bağlamışlardır. Farklı Cd derişimlerinin etkisinde bırakılan *C. demersum*'un sistein mikarları artan Cd derişimi ile birlikte artmıştır

(Şekil 4.16). Özellikle bu artışların 0.1 ve 1 mg Cd L⁻¹'de önemli bulunması bu metalin stresinde sistein biyosentezinin indüklendiğini gösterir. Yapılan çalışmalarda sistein miktarının metal stresinin ilk birkaç gününde artış göstermiş olması bulgularımızı desteklemektedir. Sistein miktarlarında artışlar muhtemelen Cd stresine karşı koymada gerekli olan GSH ve diğer moleküllerin sentezi içindir. Ayrıca yapılan istatistiksel hesaplamalara göre sistein miktarları ile makrofitin Cd miktarları arasında oldukça önemli korelasyonun bulunması da Cd ile bu aminoasit arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu gösterir (P<0.001; r=0.868).

Tuz stresli koşullarda bitkilerin GSH miktarındaki değişmelerle ilgili yapılan çok çalışma vardır (Ruiz ve Blumwald, 2002; Chen ve ark., 2003; Upadhyay ve Panda, 2005). Fakat tuzluluğun sistein miktarlarında meydana getirdiği değişimleri inceleyen araştırma sayısı sınırlıdır. Ruiz ve Blumwald (2002) NaCl tuzluluğunun yabani tip *Brassica napus*'ta S asimilasyonu ve sistein biyosentezini artırdığını bulmuşlardır. Böylece artan GSH miktarlarının da tuzluluğun indüklediği oksidatif stresi hafiflettiği sonucunu çıkarmışlardır. NaCl uygulaması *C. dermersum*'un 80 mM'lık derişimde sistein miktarını artırmış olmasına rağmen genelde bu aminoasit miktarlarında önemli bir değişime neden olmamıştır (Şekil 4.16). Tuz stresli koşullarda ozmotik düzenleyici organik moleküllerin sentezlendiği bilinmektedir. Bunlardan biri olan prolin aminoasidinin tuz stresinde önemli düzeylerde arttığı bulunmuştur. NaCl stresinde sistein miktarında önemli bir değişimin olmamasını bu makrofitin aşırı S asimilasyonu ve dolayısıyla sistein biyosentezi yoluna gitmemesine bağlamaktayız. Bu makrofitte tuz stresinin sistein biyosentezini indüklememiş olması yapılan korelasyon analizleri tarafından da desteklenmiştir (P=0.447; r=0.227).

Cd+NaCl kombinasyonunda sistein miktarlarında değişimler olmuştur (Şekil 4.16). Her iki etmenin etkileşiminden dolayı dokuların Cd ve Na miktarları salt Cd ve NaCl uygulamasına göre genelde azalmalar bulunmuştur. Aynı ayrı 0.01 mg Cd L⁻¹ ve 20 mM NaCl uygulamalarında bulunduğu gibi 0.01+20 (mg L⁻¹ +20 mM)'lık derişimde de sistein miktarlarında dikkate değer değişmelerin olmaması bu derişimdeki stres faktörlerinin etkileşiminin sistein biyosentezini indüklemediğini gösterebilir. Fakat 0.1+40 (mg L⁻¹ +20 mM)'lık derişimde önemli artışın olması ise

Cd ve NaCl kombine stresine karşı koymada gerekli olan savunma mekanizmaları için (GSH ve fitoşelatinler gibi) S asimilasyonu ve dolayısıyla sistein aminoasitinin miktarının artırıldığı sonucunu çıkartabiliriz (Lima ve ark., 2004).

Oksijenli hücre metabolizmasının kaçınılmaz ürünlerinden biri de reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimidir. Ağır metal ve tuzluluk gibi abiyotik stres faktörlerinin bitkilerde süperoksit radikal, alkoksil radikal, hidrojen peroksit ve hidroksil radikaller gibi ROT'ları katalizledikleri bilinmektedir (Scandalios, 2002). Bitkiler ROT'lar tarafından başlatılmış hasarın tamiri ve hafifletilmesi için kompleks antioksidan sistemler geliştirmişlerdir. Bu sistemin esas bileşenlerini süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, peroksidazlar ve glutatyon-askorbat döngüsünün enzimleri olan askorbat peroksidaz, dehidroaskorbat redüktaz, monodehidroaskorbat redüktaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimatik antioksidanlar ile askorbat, glutatyon, α -tokoferol, fenolik bileşikler ve karotenoidler gibi enzimatik olmayan antioksidanları içerdiği bilinmektedir (Foyer ve ark., 1994; Noctor ve Foyer, 1998; Hodges ve Forney, 2000).

Major bir metabolit olan askorbat, antioksidandır ve diğer antioksidanlarla ilişki içerisinde. Çeşitli stres etmenlerine maruz bırakılmış bitkilerin askorbat biyosentezinde ve miktarlarında değişimler olduğunu açıklayan çalışmalar yapılmıştır. Iannelli ve ark (2002) emers tipi makrofit olan *P. australis* ile yaptıkları bir araştırmada 50 μ M Cd etkisinde yaprakların askorbat miktarlarının azaldığını, köklerde ise arttığını bulmuşlardır. 0.5 ve 5 μ M Cd uygulamasının arpa yapraklarının askorbat miktarlarını azalttığı bulunmuştur (Wu ve ark., 2004). Öztürk ve ark. (2003) 6, 30, 75 ve 150 μ M Cd etkisinde bıraktıkları buğday çeşitlerinin (Bacalı-85 ve Ç-1252) sürgünlerinde askorbat miktarlarında azalmaların olduğunu bulmuşlardır. Her iki çeşidin köklerinde ise 6 μ M Cd uygulaması askorbat miktarını 2 kata artırmış olmasına karşın, daha yüksek derişimlerde ise azalmaların olduğunu bulmuşlardır. Kadmiyum uygulaması *C. demersum*'un toplam askorbat miktarlarında artan Cd derişimi ile birlikte artışlara neden olmuştur (Şekil 4.17). Önemli bir metabolit olan bu antioksidanın miktarındaki artış özellikle 1 mg Cd L⁻¹'de % 91.5 olmuştur. Askorbik asit miktarlarında Cd stresine dayalı artışların olması makrofite metalin stresine cevapta bu antioksidanın önemli bir rolü olabileceğini gösterebilir. Ayrıca

makrofitin Cd miktarındaki artışlar ile askorbat miktarlarındaki artışların pozitif ve oldukça önemli korelasyon göstermesi bu artışların Cd stresinden kaynaklandığını desteklemektedir ($P<0.001$; $r=0.862$).

Tuz stresli koşullarda yetiştirilen sucul ve karasal bitkilerin de askorbat miktarlarında değişmelerin olduğunu belgeleyen çalışmalar vardır. *Pisum sativum* L.'nin tuza tolrenat ve tuza hassas kültürlerinin her ikisinde de askorbat miktarları 70 mM NaCl etkisinde azaldığı bulunmuştur (Hernandez ve ark., 2000). Bu bulguların aksine 50, 100 ve 200 mM NaCl etkisinde yetiştirilen sucul makrofitlerden *Pistia stratiotes* ve *Salvinia molesta*'da askorbat miktarlarının kök ve sürgünlerde artan NaCl derişimi ile birlikte arttığı bulunmuştur (Upadhyay ve Panda, 2005). 20, 40 ve 80 mM NaCl etkisinde yetiştirdiğimiz *C. demersum*'un toplam askorbat miktarlarında artışlar olmuştur (Şekil 4.17). 20 ve 40 mM'lık derişimlerde artan NaCl ile birlikte toplam askorbat miktarlarında da artmalar olmuşken, 80 mM'da ise kontrole göre artış olmuş fakat bu artış diğer NaCl derişimlerinden düşük bulunmuştur. Bu durumun aşırı NaCl etkisinde oluşan stresi başka antioksidan mekanizmaların ya da uyuşabilen solutların sentezlenmesi yoluyla giderilebilmiş olma ihtimali düşünülmektedir. Zaten prolin miktarlarındaki artışlar da bu düşüncayı destekleyebilir. Ayrıca makrofit dokularının Na miktarları ile toplam askorbat miktarları arasında önemli korelasyonun oluşmaması da bu durumu destekleyen ikinci bir sonuç olabilir ($P=0.158$; $r=0.434$).

Cd ve NaCl ikili etkileşiminin de *C. demersum*'da toplam askorbat miktarlarında artışa neden olduğu bulunmuştur (Şekil 4.17). Ayrı ayrı 0.01 mg Cd L⁻¹ ve 20 mM NaCl uygulamalarında olduğu gibi 0.01+20 (mg L⁻¹ + mM)'lik derişimde de artışlar önemsiz bulunmuştur. Ancak 0.1+40 (mg L⁻¹ + mM)'lık derişimde askorbat miktarlarının kontrole göre oldukça önemli miktarlarda artış göstermesi bu kombine etmenlere dayalı bir oksidatif stres yanıtının olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan korelasyon analizlerine göre de gerek Cd gerekse Na akümüasyonu ile toplam askorbat miktarları arasında önemli ilişkilerin bulunmuş olması bu düşüncemizi desteklemektedir (Cd için $P=0.013$; $r=0.773$, Na için $P<0.001$; $r=0.922$) (Çizelge 4.2).

Toplam askorbat miktarları okside ile indirgenmiş askorbatın toplamıdır. Bitkilerde aktif olarak antioksidan fonksiyonu olan indirgenmiş askorbattır. Literatürde metal ve tuz stresinde okside askorbat ve indirgenmiş askorbatı ayrı ayrı çalışan araştırmacıların sayısı sınırlıdır. Smeets ve ark. (2005) üç gün boyunca 2 µM Cd etkisinde bıraktıkları *Phaseolus vulgaris* bitkilerinin toplam, okside ve indirgenmiş askorbat miktarlarındaki değişimleri incelemişlerdir. 24 saat sonunda bitkinin genç yapraklarının toplam askorbat miktarlarının önemli miktarlarda arttığı bulunmuştur. Deney başlangıcından 48 saat sonuna kadar olan sürede dehidroaskorbat miktarlarında önemli artışlar olmuşken, 48. saat 72. saat arasında azalmaların olduğu bulunmuştur. Fakat bu azalışa rağmen okside askorbat miktarları kontrol bitkiye göre yüksek bulunmuştur. Daha önce bahsedildiği gibi tuz stresli koşullarda askorbat miktarlarında da değişimler bulunmuştur (Hernandez ve ark., 2000; Upadhyay ve Panda, 2005). Pamuk bitkilerinin NaCl tolerant hücrelerde indirgenmiş askorbat miktarlarının yüksek olduğu bulunmuştur (Gossett ve ark., 1994). Yine tuz tolerant hücrelerde 150 mM NaCl etkisinde kontrol hücrelere göre istatistiksel olarak yüksek miktarlarda indirgenmiş askorbat ölçülmüştür (Gossett ve ark., 1996). Kadmiyum etkisinde test ettiğimiz *C. demersum*'un indirgenmiş askorbat miktarlarında artan Cd derişimi ile birlikte artışlar olmuştur (Şekil 4.18). Toplam askorbat miktarlarındaki artışların indirgenmiş askorbat miktarlarındaki artışlara benzerlik gösterdiği bulunmuştur. İndirgenmiş askorbat ile Cd derişimi arasında oldukça önemli ilişkinin bulunması bu artışların Cd stresinden kaynaklandığını göstermiştir ($P=0.001$; $r=845$). Toplam askorbattan indirgenmiş askorbatın çıkartılmasıyla okside askorbat miktarları elde edilmiştir (Değerler verilmemiştir). Buna göre Cd etkisinde yetiştirilen makrofitin okside askorbat miktarlarının artan Cd derişimi ile birlikte arttığı bulunmuştur.

NaCl etkisinde yetiştirilen *C. demersum*'un indirgenmiş askorbat miktarlarında değişimler olmuştur (Şekil 4.18). Uygulanan NaCl derişimleri indirgenmiş askorbat miktarlarını kontrole göre artırmıştır. Ancak bu artışlardan yalnız 40 mM'lık derişimdeki miktar önemli bulunmuştur. Yüksek NaCl derişiminde (80 mM) en düşük indirgenmiş askorbat miktarının bulunmuş olması aşırı tuzlulukta başka tolerans mekanizmalarının indüklenmiş olduğunu belirtebilir. Yapılan

korelasyon analizlerinde makrofitin Na derişimi ile indirgenmiş askorbat miktarları arasında zayıf ve önemsiz ilişkinin bulunmuş olması da bu düşüncemizi destekleyebilir ($P=0.343$; $r=301$).

Test edilen derişimler incelendiğinde en yüksek indirgenmiş askorbat miktarlarının Cd+NaCl kombinasyonlarında bulunduğu görülebilir (Şekil 4.18). Her iki stres etmeninin de etkileşiminde indirgenmiş askorbat miktarlarında kayda değer artışlar olmuştur. Ayrıca artan Cd ve NaCl derişimi ile birlikte makrofitin okside askorbat miktarlarının da arttığı belirlenmiştir (değerler verilmemiştir). Her iki etmenin sinerjistik etkili olarak indirgenmiş askorbat miktarlarında artışlara neden olduğu yapılan korelasyon analizleri sonucunda ortaya çıkartılmıştır (Cd için $P=0.009$; $r=807$, Na için $P=0.001$; $r=899$).

Sonuçlarımıza göre makrofitin askorbat miktarlarında stres faktörlerinin etkisinde artışlar gösterdiği bulunmuştur. Askorbatın bitki hücrelerinde oluşan oksidatif streste doğrudan (H_2O_2 'yi askorat peroksidaz enzimi yardımıyla H_2O 'ya dönüştürmekte) ve dolaylı (membran bağımlı antioksidan olan α -tokoferolün yeniden oluşturulmasında, peroksil radikal ve singlet oksijenin temizlenmesinde) etkilerinin olduğu bilinmektedir (Asada, 1992; Smirnoff, 1996). Ancak bu biyolojik olayların işleyişinde birçok enzim (askorbat peroksidaz, monodehidroaskorbat redüktaz ve dehidroaskorbat redüktaz) ve enzim olmayan moleküller devreye girmektedir. Hangi neden ya da nedenlerden dolayı askorbat miktarlarında artışların olduğu konusunda kesin bilgi vermek mümkün değildir. Ancak makrofitte Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarında askorbat miktarlarında artışların olması, askorbik asidin bu makrofitin stres veya streslere cevapta önemli bir yerinin olduğunu gösterebilir.

Bitkilerde bulunan -SH (sülfidril) gruplarını başlıca monotiyoller (sistein ve glutatyon), fitoşelatinler ve metalotiyoneinler oluşturmaktadır. Yaptığımız araştırmada protein olmayan -SH grup miktarları belirlenmiştir. Bu amaçla makrofit dokularının metafosforik asitte homojenize edilmesi ve protein yapıdaki moleküllerin presipite olmasından dolayı protein olmayan -SH grupları belirlenmiştir. *C. demersum*'un protein olmayan -SH grup miktarları Cd, NaCl ve Cd+NaCl kombinasyonlarının etkisinde değişmiştir (Şekil 4.19). Sistein miktarlarındaki artışlarda olduğu gibi Cd etkisinde de makrofitin sülfidril miktarlarında metalin artan

derişimle birlikte önemli düzeylerde artışlar bulunmuştur. Ozturk ve ark., (2003) Cd-tolerant ve Cd'ye hassas buğday çeşitlerin köklerinde sülfidril miktarlarının sürgünlerden daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca Cd tolerant çeşidin köklerinde yüksek –SH miktarının bulunmasını oksidatif savunmaya veya Cd detoksifikasyonunda rol oynayan peptitlerin artışına bağlamışlardır. Bitkilerde ağır metaller (özellikle Cd) tarafından indüklenmiş –SH artışları başka araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (di Toppi ve ark., 1998; Torricelli ve ark., 2004). Bitkiler ağır metallerle kirletilmiş alanlarda canlılıklarını sürdürebilmek için çeşitli detoksifikasyon mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu mekanizmanın esas bileşenlerini metali şelatlama kapasitesine sahip ve aynı zamanda bir antioksidan olan GSH (Nagalakshmi ve Prasad, 2001) ve GSH'tan enzimatik olarak türetilen fitoşelatinler oluşturmaktadır (Gekeler ve ark., 1988). Yaptığımız araştırmanın sonuçlarına göre gerek sistein gerekse protein olmayan –SH grup miktarlarında Cd toksisitesine dayalı artışların bulunması makrofitte bu metalin detoksifikasyonunda yapısında sülfidril bulunan moleküllerin önemli rolleri olduğunu gösterebilir. Ayrıca *C. demersum*'un yapısındaki Cd miktarları ile –SH grup miktarları arasında önemli korelasyonun bulunması da bulguları desteklemektedir ($P=0.019$; $r=0.662$) (Çizelge 4.2).

NaCl stresi altında makrofitin –SH grup miktarlarında artan tuz derişimi ile birlikte artışlar olmuştur (Şekil 4.19). Bu artışlar özellikle 40 ve 80 mM'lık derişimlerde önemli olmuştur. Tuz stresli koşullarda yetiştirilen bitkilerde protein olmayan ve –SH içeren moleküllerin miktarlarında artışların olduğunu gösteren ve araştırma bulgularımızı destekleyen çalışmalar yapılmıştır. Juan ve ark. (2004) tuz tolerant domates çeşitlerinde sülfidril grup miktarlarının (bunların genelde GSH miktarındaki artış olduğunu rapor etmiştir) yüksek derişimlerde olduğunu bulmuştur. Upadhyay ve Panda (2005) su bitkilerinin kök ve sürgünlerinde tuz stresinde glutatyon miktarlarında artış olduğu bulunmuştur. Ruiz ve Blumwald (2002) ise GSH miktarlarındaki artışı tuz stresinden kaynaklanan ve bitkinin aşırı S asimilasyonundan dolayı olabileceğini belirtmiştir. Tuz stresi altında bitkilerde H_2O_2 ve diğer ROT'ları üretmektedir (Gueta-Dahan ve ark., 1997). Askorbat-glutatyon döngüsünde H_2O_2 'nin H_2O 'ya dönüştürüldüğü bilinmektedir. Sonuçlarımız dikkate alındığında –SH miktarlarındaki artışın dolayısıyla GSH ve diğer protein olmayan

sülfidrilli moleküllerin arttığını gösterebilir. Bu artışların da makrofitin tuz stresine cevapta bu tür moleküllerin önemli rollerinin olabileceğini belirtir. Yapılan istatistiksel hesaplamalara göre makrofitin Na miktarı ile -SH grup miktarları arasında oldukça önemli korelasyon oluşmuş olması, bu artışların tuz stresinden kaynaklandığını destekleyebilir.

Cd+NaCl etkileşiminde de -SH grup miktarlarında önemli artışlar olmuştur (Şekil 4.19). Aynı ayrı Cd ve NaCl etkisinde sülfidril grup miktarlarının önemli düzeylerde arttığı belirlenmiştir. Kadmiyum etkisindeki bu artışların oksidatif strese cevapta olabileceği gibi özellikle bu metalin detoksifikasyonunda rol oynayan moleküllerden kaynaklanabileceği vurgulanmıştır. Tuz stresinde ise bu artışların özellikle oksidatif strese yanıt olarak üretilen GSH'ın miktarlarındaki artıştan kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Her iki stres etmeninin kombine etkileşiminde ise -SH miktarlarındaki artışında Cd için stres ve detoksifikasyonla; NaCl için ise oksidatif strese cevapta artışa neden olabileceğini düşünmekteyiz. Yapılan korelasyon analizleri de her iki stres etmenin -SH miktarlarındaki artıştan sorumlu olduğunu göstermiştir (Cd için $P=0.001$; $r=913$, Na için $P<0.001$; $r=934$) (Çizelge 4.2).

Fenoller biyotik ve abiyotik stres faktörlerine cevapta rol oynayan bileşiklerdir (Ruiz ve Romero, 2001). Yaptığımız çalışmada Cd, NaCl ve bunların kombinasyonlarının etkisinde fenolik bileşiklerin miktarlarında değişimler olduğu bulunmuştur (Şekil 4.20). 0.01 ve 0.1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerde toplam fenolik bileşik miktarlarında önemli artışlar olmuşken, 1 mg Cd L⁻¹'lik derişimde önemsiz oranda azalmıştır. Yapılan korelasyon analizlerine göre ise Cd ile fenolik bileşik miktarları arasında önemli ilişki bulunmamıştır ($P=0.070$; $r=-530$). Ağır metal etkisinde yetiştirilen bitkilerden *Pinus nigra*'da (Giertych ve ark., 1999), tütünde (Edreva ve Apostolova, 1989), mısırdaki (Baccouch ve ark., 1998) ve *Acer saccharum*'da (Zobel ve Clarke, 1999) fenolik bileşiklerin miktarlarında artışlar olduğu rapor edilmiştir. Öncel ve ark. (2000) Cd etkisinde fenoliklerin akümülyasyonunu metalin toksisitesine bağlamıştır. Craft ve Audia (1962) ise Cd toksisitesinin dokularda meydana gelen hasarlanmadan dolayı olduğunu belirtmiştir. Bulgularımıza göre 0.01 ve 0.1 mg Cd L⁻¹'lik derişimlerde fenolik bileşiklerdeki

artışın metalin toksisitesinden olma ihtimali yüksektir. Ancak 1 mg Cd L⁻¹'lik derişiminde fenolik bileşik miktarlarında azalmalar olmuştur. Bunun nedeni de fenoliklerin sentezinin inhibisyonu veya ROT'ların indüklediği polimerizasyon olabilir (Lavid ve ark., 2001).

Tuz stresli koşullarda yetiştirilen *C. demersum*'un fenolik bileşik miktarlarında 40 mM'lık derişiminde önemsiz artış olmuşken, 80 mM'lık derişimde ise önemli azalma bulunmuştur (Şekil 4.20). Benzer şekilde Cd+NaCl kombinasyonunda da düşük kobinasyonda (0.01+20; mg L⁻¹+mM) fenolik bileşik miktarlarında değişmeler olmamıştır (Şekil 4.20). Fakat 0.1+40 (Cd+NaCl; mg L⁻¹ + mM)'lık derişimde ise önemli azalmalar bulunmuştur. Bu sonuçlara göre makrofit düşük Cd veya NaCl derişimlerinde fenolik bileşiklerin indüklenmediğini söyleyebiliriz. Test edilen stres etmenlerinin fenolik bileşik miktarlarında azalmalara neden olmasını metal stresindeki azalmanın nedenlere bağlayabiliriz (Lavid ve ark., 2001). Ayrıca fenolik bileşikler peroksidadlar ve fenol oksidadlar tarafından parçalandığı bulunmuştur (Thypyapong ve ark., 1995). Her iki enzim de biyotik ve abiyotik stres altında artışlar gösterdiği belirlenmiştir (Kwak ve ark., 1996; Ruiz ve ark., 1998). Bu enzimlerin aktivitelerindeki artış da aşırı stres altında fenolik bileşiklerin miktarlarındaki azalmanın bir nedeni olabilir.

Lipidler organik solventlerle çözünebilen karbon ve hidrojenle zengin yağlar ve yağ benzeri maddelerin bir grubudur. Membran yapılarının yaklaşık % 40'ını oluştururlar ve bütünlüğünü sağlarlar. Membranların lipid kompozisyonu organellerin yapısı ve fonksiyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir. (Harwood ve Russel, 1984). Membran lipidleri sık sık biyotik ve abiyotik stres koşulları altında kalitatif ve kantitatif olarak modifiye olurlar (Kuiper, 1985). Bunlar plazma membranları ve çeşitli hücre fosfolipidlerinin toplam ve oransal bolluğundaki değişimin yanı sıra yağ asitlerinin doymuşluk düzeyindeki değişimleri de içerir. Ayrıca biyotik ve abiyotik streslerin lipidlerde peroksidadasyona neden olduğu da bilinmektedir (Rama Devi ve Prasad, 2004). Test edilen Cd derişimlerinin *C. demersum* membranlarında hasarlanmaya neden olduğu analiz edilen malondialdehit (MDA) miktarlarındaki artıştan anlaşılmaktadır (Şekil 4.21). Kadmiyumun bitkilerin lipid miktarlarında ve yağ asidi kompozisyonunda

değişmelere neden olmuştur (Ouariti ve ark., 1997). Yapılan bir araştırmada Cd'nin peroksidaz ve askorbat peroksidaz aktivitelerini artırdığı ve lipid peroksidasyonunda atışa neden olduğu bulunmuştur (Shaw, 1995). Benzer şekilde Cd toksisitesi bezelyede (Lozano-Rodriguez ve ark., 1997), *Halianthus annuus*'da (Gallego ve ark., 1996), *Festuca rubra*'da (Wong ve ark., 1997) ve *C. demersum*'da (Aravind ve Prasad, 2003) lipid peroksidasyonunda artışlara neden olmuştur. Ağır metaller doymamış yağ asitlerinden ROT'lar yoluyla hidrojen çıkartarak şiddetli bir biçimde lipidlerde peroksidasyona neden olmaktadır. Bu durum lipid yapılarını bozan kısa zincirli alkanlar ve lipid asit aldehitler oluşumuna neden olur (Logani ve Davies, 1980). Smeets ve ark. (2005)'e bitki dokularında artan Cd derişimleri dolaylı olarak süperoksit radikalleri artırarak lipid peroksidasyonuna neden olduğunu belirtmiştir. Araştırma bulgularımıza göre 0.01 mg Cd L⁻¹'lik derişimde MDA miktarlarını önemsiz düzeyde artmış olması bu derişimde akümüle olan metalin detoksifiye edilebilecek miktarda olmasına ve aşırı bir oksidatif stres oluşturmamasına bağlamaktayız. Daha yüksek derişimlerde ise MDA miktarlarında önemli düzeylerde artışların olması Cd stresinden kaynaklanan ve oluşan serbest radikallerin membranlarda meydana getirdiği hasarın bir sonucu olabilir. Fakat MDA miktarları ile makrofit dokularındaki Cd miktarları arasında önemli korelasyonun oluşmadığı görülmüştür (P=0.157; r=0.436).

Ağır metal toksistesinde olduğu gibi tuz stresinde de bitkilerde süperosit radikal, hidrojen peroksit ve hidroksil radikal gibi reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Oksidatif strete oluşan bu ROT'lar da membranlar ve fotosentetik pigmentler, proteinler, DNA ve lipidler gibi makro-moleküllerde hasarlanmaya neden olurlar (Hernandez ve ark., 1993; Fadzilla ve ark., 1997; Gueta-Dahan ve ark, 1997). Lipid peroksidasyonu tuz stresi tarafından indüklenmiş oksidatif stresin bir göstergesi olduğu rapor edilmiştir (Hernandez ve Almansa, 2002; Gomez ve ark., 1999). Tuz stresli koşullarda yetiştirilen bitkilerde lipid peroksidasyonunda artışların olduğunu gösteren birçok araştırma vardır (Chien ve ark., 2001; El-baky ve ark., 2003). 20, 40 ve 80 mM NaCl etkisinde test ettiğimiz *C. demersum*'un MDA miktarlarında da artan NaCl derişimi ile birlikte artışların olduğu bulunmuştur (Şekil 4.21). Lipid peroksidasyonu ile ROT üretimi arasında pozitif korelasyonların

bulunması (Sehmer ve ark., 1995) *C. demersum*'un MDA miktarlarındaki artışın oksidatif stresten, dolayısıyla ROT'lardan kaynaklanmış olabileceğini gösterebilir. Yapılan korelasyon analizlerine göre makarofit dokularının MDA miktarları ile Na derişimleri arasında pozitif önemli ilişkinin bulunması da bunun tuz stresinden kaynaklandığını destekleyebilir ($P=0.004$; $r=0.760$). Benzer şekilde iyon akümüasyonu, ROT üretimi ve lipid peroksidasyonu arasında pozitif korelasyonların olduğunun bulunmuş olması araştırma bulgularımızla paralellik göstermektedir (Sjolin ve Moller., 1991; Sehmer ve ark., 1995).

Cd+NaCl kombinasyonlarında yetiştirilen *C. demersum*'un MDA miktarlarındaki artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu bulunmuştur (Şekil 4.21). Tuz metal kombinasyonlarında MDA miktarlarında bu durumu açıklayan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. MDA miktarlarında önemsiz de olsa artışların olması membranlarda hasarlanmayı gösterebilir. Ancak Cd ve tuz stresinde bitkinin savunma mekanizmalarının ortak indüklenmiş olma ihtimali MDA miktarlarında aşırı bir artışa neden olmamış olabilir. *C. demersum*'un MDA miktarları ile Cd ve Na miktarları arasında önemsiz pozitif korelasyonların bulunması az da olsa ROT'ların üretildiğini gösterebilir (Cd için $P=0.392$; $r=0.326$, Na için $P=0.558$; $r=0.226$).

Bulgulara göre Cd etkisinde bırakılan *C. demersum*'un toplam protein miktarında önemli azalmalar olmuştur (Şekil 4.22). Cd etkisindeki makrofitlerin protein miktarları kontrole göre önemli azalmalar göstermiş olmasına karşın, akümüle olan Cd ile protein miktarları arasında önemli bir korelasyon oluşmamıştır ($P=0.123$; $r=-0.470$). NaCl stresi de toplam protein miktarlarını önemli düzeylerde azaltmıştır (Şekil 4.22). Ancak Cd etkisinin akisine, yapılan korelasyon analizinde bu azalmalar ile Na akümüasyonları arasında ters ve önemli ilişki bulunmuştur ($P=0.002$; $r=-0.793$). Cd+NaCl kombinasyonundaki makrofitlerin protein miktarları ile Cd ve Na akümüasyonları arasında negatif önemli korelasyonların bulunması, her iki etmeninde bu azalmalara neden olduğunu desteklemektedir. (Cd için $P=0.042$; $r=-0.685$, Na için $P=0.012$; $r=-0.785$) (Çizelge 4.2). Ayrıca sonuçlar incelendiğinde en düşük protein miktarlarının NaCl etkisinde test edilen makrofitlerde olduğu görülebilir. Bu durum Cd'li derişimlerde (Cd ve Cd+NaCl) tuz stresinden farklı proteinlerin indüklenmiş olabileceğini gösterebilir.

Makrofit dokularının toplam azot miktarlarındaki azalmaların olduğu bulunmuştu. Bu azalmalarında 6.25 çarpım faktörü dikkate alındığında toplam protein miktarlarındaki azalmaların nedenlerinden biri olduğu belirtilmiştir (Saygıdeğer ve ark., 2004). Kadmiyum ve tuz stresli koşullarda bitkilerin toplam protein miktarlarında azalmaların olduğunu destekleyen çalışmalar vardır (Demir ve Kocaçalışkan, 2001; Muhling ve Lauchli, 2003; Dhir ve ark., 2004). Ağır metal ve tuz streslerinde bitkilerin protein azalmaların nedenlerinin genelde protein sentezinin inhibisyonunda ya da oksidatif strese üretilen ROT'ların tetiklediği proteolizisten kaynaklandığı da rapor edilmiştir (Solomon ve ark., 1999; Parida ve ark., 2004).

Adana ili ve çevresi sulak alanlar ve su bitkileri yönünden oldukça zengindir. Bu alanlara çeşitli kaynaklardan toksik maddeler girerek bitkilere zarar verebilmektedir. Araştırma bulgularımıza göre Cd, NaCl ve bunların kombinasyonları *C. demersum*'da fizyolojik ve morfolojik değişiklere neden olduğu belirlenmiştir. Ülkemizde yüksek yapılı su bitkileri ile yapılan araştırmalar oldukça sınırlı olduğu için, bu çalışmanın ileride yapılacak araştırmalara kaynak olacağına inanmaktayız.

KAYNAKLAR

- ADAMS, P., THOMAS, J.C., VERNON, D.M., BOHNERT, H.J. and JENSEN, R.G., 1992a. Distinct Cellular and Organismic Responses to Salt Stress. *Plant Cell Physiol.* 33: 1215-1223.
- ADAMS, W.W., VOLK, M., HOEHN, A. and DEMMING-ADAMS, B., 1992b. Leaf Orientation and the Response of Xanthophylls Cycle to Incident Light. *Oecologia* 90: 404-410.
- AGASTIAN, P., KINGSLEY, S.J. and VIVEKANANDAN, M., 2000. Effect of Salinity on Photosynthesis and Biochemical Characteristics in Mulberry Genotypes. *Photosynthetica*, 38: 287-290.
- ALCANTARA, E., ROMERA, F.J., CAN ETE, M. and DE LA GUARDIA, M.D., 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.
- ALI, G., SRIVASTAVA, P.S. and IQBAL, M., 1999. Proline Accumulation, protein Pattern, Photosynthesis in *Bacopa monniera* Regenerates Grown under NaCl stres. *Biologia Plantarum*, 42: 89-95.
- ALLEN, R.D., WEBB, R.P. and SCHAKE, S.A., 1997. Use of Transgenic Plants to Study Antioxidant Defenses. *Free Radic. Biol. Med.* 23: 473-479.
- ALLOWAY, B.J. and AYERS, D.C., 1993. Chemical principles of environmental pollution, Blackie academic and Professional, London.
- APSE, M.P., AHARON, G.S., SNEDDEN, W.A. and BLUMWALD, E., 1999. Salt Tolerance Conferred by Overexpression of a Vacuolar Na^+/H^+ Antiport in *Arabidopsis*. *Science* 285: 1256-1258.
- ARAVIND, P. and PRASAD, M.N.V., 2003. Zinc Alleviates Cadmium-Induced Oxidative Stress in *Ceratophyllum demersum* L.: A Free Floating Freshwater Macrophyte. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 391-397.
- ARNON, D.I. and HOAGLAND, D.R., 1940. Crop Production in Artificial Culture Solutions and in Soils with Special Reference to Factors Influencing Yields and Absorption of Inorganic Nutrients. *Soil Sci.* 50: 463-483.

- ARORA A., BYREM. T.M., NAIR M.G. and STRASBUTG G.M. (2000). Modulation of Liposomal Membrane Fluidity by Flavonoids and Isoflavonoids. Arch. Biochem. Biophys. 373: 102-109.
- ARRIGONI, O., ARRIGONI-LISO R. and CALABRESE, G., 1975. Lycorine as an Inhibitor of Ascorbic Acid Biosynthesis. Nature, 256: 513-514.
- ASADA, K. and TAKAHASHI, M., 1987. Production and Scavenging of Active Oxygen Radicals in Photosynthesis. In: Kyle, D.J., Osmond, C.B., Arntzen, C.J. (Eds.), Photoinhibition, vol. 9. Elsevier, Amsterdam, pp. 227-288.
- ASADA, K., 1992. Ascorbate Peroxidase-a Hydrogen Peroxide Scavenging Enzyme in Plants. Physiol. Plant. 85: 235-241.
- ASADA, K., 1994. Mechanisms for Scavenging Reactive Molecules Generated in Chloroplasts under Light Stress. In: Baker NR, Bowyer JR, (Eds.) Photoinhibition of photosynthesis. From Molecular Mechanisms to the Field. Oxford: Bios Scientific Publishers, 129-142.
- AUBERT, S., HENNION, F., BOUCHEREAU, A., GOUT, E., BLINGY, R. and DOME, A.J., 1999. Subcellular Compartmentation of Proline in the Leaves of the Subantartic Kerguelen cabbage *Pringlea antiscorbutica* R-Br. In vivo C-13 NMR Study. Plant Cell Environ. 22: 255-259.
- AZIZ, A., MARTIN-TANGUY, J. and LARHER, F., 1998. Stress-Induced Changes in Polyamine and Tyramine Levels can Regulate Proline Accumulation in Tomato Leaf Discs Treated with Sodium Chloride. Physiol. Plant, 104: 195-202.
- BACCOUCH, S., CHAOUI, A. and EL-FERJANI, E., 1998. Nickel Toxicity: Effects on Growth and Metabolism of Maize. J. Plant Nutr. 21:577-588.
- BAKER, A.J.M. and BROOKS, R.R., 1989. Terrestrial Higher Plants Which Hyper-Accumulate Metallic Elements, A Review of Their Distribution, Ecology and Phytochemistry. Biorecovery, 1: 81-126.
- BASAK, M., SHARMA, M. and CHAKRABORTY, U., 2001. Biochemical Responses of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze to Heavy metal Stress, J. Environ. Biol. 22: 37- 41.
- BATES, L.S., WALDREN, R.P. and TEARE, D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-297.

- BELTAGI, M.S., SALEH, A.A.H. and EL-MELEIGY, El-S.A., 2002. Effect of Cadmium and Paclobutrazol on Anabolic Capacities and Electrophoretic Protein Patterns in Peanut (*Arachis hypogaea*) Plant. Pakistan Journal of Biological Sciences 5(2): 196-200.
- BENAVIDES, M.P., MARCONI, P.L., GALLEG0, S.M., COMBA, M.E. and TOMARO, M.L., 2000. Relationship Between Antioxidant Defence Systems and Salt Tolerance in *Solanum tuberosum*. Aust. J. Plant Physiol. 27: 273-278.
- BERNHARD, W.R. and KAGI, J.H.R., 1987. Purification and Characterization of a Typical Cadmium-Binding Polypeptides from *Zea mays*. Experientia 52: 309-315.
- BLUMWALD, E., AHARON, G.S., and APSE, M.P., 2000. Sodium Transport in Plant Cells. Biochim. Biophys. Acta 1465: 140-151.
- BOHNERT, H.J. and JENSEN, R.G., 1996. Strategies for Engineering Waterstress Tolerance in Plants. Trends Biotechnol. 14: 89-97.
- BOTELLA, M.A., QUESADA, M.A., KONONOWICZ, A.K., BRESSAN, R.A., PLIEGO, F., HASEGAWA, P.M. and VALPUESTA, V., 1994. Characterization and in-situ Localization of a Salt-Induced Tomato Peroxidase Messenger-RNA. Plant Mol. Biol. 25: 105-114.
- BRECKLE, S.W. and KAHLE, H., 1992. Effects of Toxic Heavy metals (Cd, Pb) on Growth and Mineral Nutrition of Beech (*Fagus sylvatica* L.). Plant Ecology. 101: 43-53.
- BROOKS, A., COLLINS, C.J. and THURMAN, D.A., 1981. The Mechanism of Zinc Tolerance Grasses. Journal of Plant Nutrition, 3: 695-705.
- BRUNE, A., URBACH, W. and DIETZ, K.-J., 1994. Compartmentation and Transport of Zinc in Barley Leaves as Basic Mechanisms Involved in Zinc Tolerance. Plant Cell and Environment, 17: 153-162.
- BUNLUESIN, S., KRUATRACHUE, M., POKETHITIYOOK, P., LANZA, G.R., UPATHAM E.S., and SOONTHORNSARATHOOL, V., 2004. Plant Screening and Comparison of *Ceratophyllum demersum* and *Hydrilla verticillata* for Cadmium Accumulation. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 73: 591-598.

- CAKMAK, I. and H. MARSCHNER. 1992. Magnesium Deficiency and High Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase in Bean Leaves. *Plant Physiol.* 98: 1222-1227.
- CARPITA, N.C., GIBEAUT, D.M., 1993. Structural Models of Primary Cell Walls in Flowering Plants: Consistency of Molecular Structure with the Physical Properties of the Walls During Growth. *The Plant Journal.* 3: 1-30.
- CHANG, H., SIEGEL, B.Z. and SIEGEL, S.M., 1984. Salinity Induced Changes in Isoperoxidase in Taro, *Colocasia esculenta*. *Phytochemistry* 23: 233-235.
- CHEESEMAN, J.M., 1988. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants. *Plant Physiol.* 87: 547-550.
- CHEN, G. and ASADA, K., 1989. Ascorbate Peroxidase in Tea Leaves: Occurrence of Two Isozymes and the Differences in Their Enzymatic and Molecular Properties. *Plant Cell Physiol.* 30: 987-998.
- CHEN, K.M., GONG, H.J., CHEN, G.C., WANG, S.M. and ZHANG, C.L., 2003. Up-Regulation of Glutathione Metabolism and Changes in Redox Status Involved in Adaptation of Reed (*Phragmites communis*) Ecotypes to Drought-Prone and Saline Habitats. *J. Plant Physiol.* 160: 293-301.
- CHEN, Y.X., HE, Y.F., LUO, Y.M., YU, Y.L., LIN, Q. and WONG, M.H., 2003. Physiological Mechanism of Plant Roots Exposed to Cadmium. *Chemosphere* 50: 789-793.
- CHIEN, H.F., WANG, J.W., LIN, C.C. and KAO, C.H., 2001. Cadmium Toxicity of Rice Leaves is Mediated Through Lipid Peroxidation. *Plant Growth Regulation* 33: 205-213.
- CLARKSON, D. and LÜTTGE, U., 1989. Mineral Nutrition: Divalent Cations, Transport and Compartmentalization. *Prog. Botany*, 51: 93-112.
- COBBETT, C.S., 2000. Phytochelatins and Their Roles in Heavy Metal Detoxification. *Plant Physiol.* 123: 825-832.
- COSTA, G. and MOREL, J.-L., 1994. Water Relations, Gas Exchange and Amino Acid Content in Cd-Treated Lettuce. *Plant Physiol. Biochem.* 32, 561-570.

- COSTA, G. and SPITZ, E., 1997. Influence of Cadmium on Soluble Carbohydrates, Free Amino Acids, Protein Contents of in Vitro Cultured *Lupinus albus*. Plant Sciences, 128: 131-140.
- COSTA, G., MICHAUT, J.C. and GUCKERT, A., 1997. Amino Acids Exuded from Axenic Roots of Lettuce and White Lupin Seedlings Exposed to Different Cadmium Concentrations. J. Plant. Nutr. 20: 883-900.
- CRAFT, C.C. and AUDIA, W.V., 1962. Phenolic Substances Associated with Wound-Barrier Formation in Vegetables. Bot. Gaz., 123: 211-219.
- CRAM, W.J., 1973. Internal Factors Regulating Nitrate and Chloride Influx in Plant Cells. J. Exp. Bot. 24: 328-341.
- CRAMER, G.R., LAUCHLI, A. and POLITO, V.S., 1985. Displacement of Ca^{2+} by Na^{+} from Plasmalemma of Root cells. A primary Response to Salt Stress. Plant Physiol., 79: 207-211.
- CROWE, J.H., HOEKSTRA, F.A. and CROWE, C.M., 1992. Anhydrobiosis. Annu. Rev. Plant Physiol. 54: 579-599.
- CUMMING, J.R. and TAYLOR, G.J., 1990. Mechanisms of Metal Tolerances in Plants: Physiological Adaptation for Exclusion of Metal Ions from the Cytoplasm, p. 329-359. In: Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms, Alscher, R. G. and Cumming, J. R. (Eds.), Wiley-Liss, Inc.
- CZARNECKA, E., EDELMAN, L., SCHOFFL, F. and KEY, J.L., 1984. Comparative Analysis of Physical Stress Responses in Soybean Seedlings Using Cloned Heat Shock cDNAs. Plant Mol. Biol. 3: 45-58.
- DAS, P., SAMANTARAY, S. and ROUT, G.R., 1997. Studies on Cadmium Toxicity in Plants: A Review. Environmental Pollution, 98: 29-36.
- DAVIES, M.B., AUSTIN, J., PARTRIDGE, D.A., 1991. Vitamin C: Its chemistry and biochemistry. Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- DE GARA, L, PACIOLLA, C., TOMMASI, F., LISO, R, ARRIGONI, O., 1994. In vivo Inhibition of Galactono- γ -lactone Conversion to Ascorbate by Lycorine. J. Plant Physiol., 144: 649-653.
- DE KNECHT, J.A., VAN BAREN, N., TEN BOOKUM, W.T., WONG FONG SANG, H.W., KOEVOETS, P.L.M., SCHAT, H. and VERKLEIJ, J.A.C., 1995.

- Synthesis and Degradation of Phytochelatins in Cadmium-Sensitive and Cadmium-Tolerant *Silene vulgaris*. *Plant Sci.* 106: 9-18.
- DE LACERDA, C.F., CAMBRAIA, J., OLIVA, M.A., RUIZ, H.A. and PRISCO, J.T., 2003. Solute Accumulation and Distribution During Shoot and leaf Development in Two Sorghum Genotypes under salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 49: 107-120.
- DEMIR, Y. and KOCACALISKAN, I., 2001. Effects of NaCl and proline on Polyphenol Oxidase Activity in Bean Seedlings. *Biol. Plant*, 44: 607-609.
- DHIR, B., SHARMILA, P. and SARADHI, P.P. 2004. Hydrophytes Lack Potential to Exhibit Cadmium Stress Induced Enhancement in Lipid Peroxidation and Accumulation of Proline. *Aquatic Toxicology* 66: 141-147.
- DI TOPPI, L.S. and GABBRIELLI, R., 1999. Response to Cadmium in Higher Plants. *Environmental and Experimental Botany* 41: 105-130.
- DI TOPPI, L.S., LAMBARDI, M., PAZZAGLI, L., CAPPUGI, G., DURANTE, M. and GABBRIELLI, R., 1998. Response to Cadmium in Carrot in vitro Plants and Cell Suspension Cultures. *Plant Science* 137: 119-129.
- DIELS, G.E., and MERGEAY, M.N., 1990. DNA-probe Mediated Detection of Resistance Bacteria From Soil Highly by Heavy Metals, *Appl. Env. Mic.* 56: 1485-1491.
- DIERBERG, F.E., T.A. DEBUSK and N.A. GOULLET JR. 1987. Removal of Copper and Lead Using a Thin-Film Technique. *In: Reddy, K.B. and W. Smith (eds.), pp: 497-504 Aquatic Plants for Water Treatment and Resource Recovery.* Magnolia Publishing. Inc., Florida, USA.
- DIETZ, K.J., TAVAKOLI, N., KLUGE, C., MIMURA, T., SHARMA, S.S., HARRIS, G.C., CHARDONNENS, A.N. and GOLLDACK, D., 2001. Significance of the V-Type ATPase for the Adaptation to Stressful Growth Conditions and Its Regulation on the Molecular and Biochemical Level. *J. Exp. Bot.* 52: 1969-1980.
- DIONISIO-SESE, M. L. VE TOBITA, S., 1998. Antioxidant Responses of Rice Seedlings to Salinity Stress. *Plant Science.* 135: 1-9.
- DOUGLAS, C.J., 1996. Phenylpropanoid Metabolism and Lignin Biosynthesis: from Weeds to Trees. *Trends Plant Sci.* 1: 171-178.

- DUBOIS M, GILLES KA, HAMILTON JK, REBERS PA, SMITH F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-356.
- EDREVA, A. and APOSTOLOVA, E., 1989. Manganese Toxicity in Tobacco. A Biochemical Investigation. *Agrochimica*, 33: 441-451.
- EDWARDS, R., DIXON, D.P. and WALBOT, V., 2000. Plant Glutathione S-Transferases: Enzymes with Multiple Functions in Sickness and in Health. *Trends Plant Sci.* 5: 193-198.
- EL-BAKY, A., HANAA, H., AMAL, M.A. and HUSSEIN, M.M., 2003. Influence of Salinity on Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes and Electrophoretic Patterns of Protein and Isoenzymes in Leaves of Some Onion Cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences* 2: 1220-1227.
- ELSHINTINAWY, F. and ELSHOUBAGY, M.N., 2001. Alleviation of Changes in Protein Metabolism in NaCl-Stressed Wheat Seedlings by Thiamine. *Biol. Plant.* 44: 541-545.
- ELSTNER, E.F., 1987. Metabolism of Activated Oxygen Species. In: Davies, D.D. (Ed.), *The Biochemistry of Plants. vol. II, Biochemistry of Metabolism.* Academic Press, San Diego, CA, pp. 252-315.
- FADZILLA, N.M., ROBERT, P., FINCH R.P. and BURDON, R.H., 1997. Salinity, Oxidative Stress and Antioxidant Response in Shoot Cultures of Rice. *J. Exp. Bot.* 48: 325-331.
- FARAGO, M.E., and MULLEN, W.A. (1979). Plants which Accumulate Metals. Part IV. A Possible Copper-Proline Complex from the Roots of *Armeria maritima*. *Inorg. Chim. Acta*, 32: 93-94.
- FERNANDES, F.M., ARRABAÇA, M.C. and CARVALHO, L.M.M., 2004. Sucrose metabolism in *Lupinus albus* L. under salt stress. *Biologia Plantarum*, 48:317-319.
- FORD, C.W., 1984. Accumulation of Low Molecular Solutes in Water Stress Tropical Legumes. *Phytochemistry* 23: 1007-1015.
- FOY, C.D., CHANEY, R.L. and WHITE, M.C., 1978. The Physiology of Metal Toxicity in Plants. *Annual Review of Plant Physiology* 29: 511-566.

- FOYER, C.H., 1993. Ascorbic Acid. In: Alscher RG, Hess JL, (Eds). Antioxidants in higher plants. Boca Raton: CRC Press, pp. 31-58.
- FOYER, C.H., LELANDAIS, M. and KUNERT, K.J., 1994. Photooxidative Stress in Plants. *Physiol. Plant.* 92: 696-717.
- FOYER, C.H., LELANDAIS, M., EDWARDS, E.A. and MULLINEAUX, P.M., 1991. The Role of Ascorbate in Plants, Interactions with Photosynthesis and Regulatory Significance. In: Pell, E., Steffen, K. (Eds.), Active Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism. American Society of Plant Physiology, Rockville, MD, pp. 131-144.
- FRIDOVICH, I., 1986. Biological Effects of the Superoxide Radical. *Arch. Biochem. Biophys.* 247: 1-11.
- FRITIOFF, A., KAUTSKY, L. and GREGER, M., 2004. Influence of Temperature and Salinity on Heavy Metal Uptake by Submersed Plants. *Environ. Pollut.*, Baskıda.
- FUHRER, J., 1982. Early Effects of Excess Cadmium Uptake in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Cell Environ.* 5: 263-270.
- GADALLAH, M.A.A., 1999. Effects of Proline and Glycinebetaine on *Vicia faba* Response to Salt Stress. *Biol. Plant.* 42: 249-257.
- GAITONDE, M.K., 1967. A Spectrophotometric Method for the Direct Determination of Cysteine in the Presence of Other Naturally Occurring Amino Acids. *Biochem. J.* 104: 627-633.
- GALLEGO, S.M., BENAVIDES, M.P. and TOMARO, M.L., 1996. Effect of Heavy Metal Ion Excess on Sunflower Leaves: Evidence for Involvement of Oxidative Stress. *Plant Sci.* 121: 151-159.
- GARCIA, N.F., MARTINEZ, V. and CARVAJAL, M., 2004. Effect of Salinity on Growth, Mineral Composition, and Water Relations of Grafted Tomato Plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 167: 616-622.
- GEKELER, W., GRILL, E., WINNACKER, E.-L. and ZENK, M.H., 1988. Algae Sequester Heavy Metals Via Synthesis of Phytochelatin Complexes. *Archs. Microbiol.* 150: 197-202.

- GEKELER, W., GRILL, E., WINNACKER, E.-L. and ZENK, M.H., 1989. Survey of the Plant Kingdom for the Ability to Bind Heavy Metals Through Phytochelatins. *Z. Naturforsch.* 44: 361-369.
- GHNAYA,T., NOUAIRI, I., SLAMA, I., MESSEDI, D., GRIGNON, C., ABDELLY, C. and GHORBEL, M. H., 2005. Cadmium Effects on Growth and Mineral Nutrition of Two Halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. *Journal of Plant Physiology*, Baskıda.
- GIERTYCH, M.J., KAROLEWSKI, P. and DE TEMMERMAN, L.O., 1999. Foliage Age and Pollution Alter Content of Phenolic Compounds and Chemical Elements in *Pinus nigra* Needles. *Water Air Soil Pollut.*, 110:363-377.
- GIROTTI, A.W., 1985. Mechanism of Lipid Peroxidation. *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*, 1: 87-95.
- GOLDBOLD, D. L. and HUTTERMANN, A., 1985. Effect of Zinc, Cadmium and Mercury on Root Elongation of *P. abies* (Karst.) Seedlings and the Significance of These Metals to Forest Die-Back. *Environmental Pollution* 38: 375-381.
- GOMEZ, J.M., HERNANDEZ, J.A., JIMENEZ, A., DEL RIO, L.A. and SEVILLA, F., 1999. Differential Response of Antioxidative Anzymes of Chloroplasts and Mitochondria to Long-Term NaCl Stress of Pea Plants. *Free Rad. Res.* 31:11-18.
- GOSSETT, D.R., BANKS, S.V., MILLHOLLON, E.P. and LUCAS, M.C., 1996. Antioxidant Response to NaCl Stress in a Control and an NaCl-Tolerant Cotton Cell Line Grown in the Presence of Paraquat, Buthionine Sulfoximine, and Exogenous Glutathione. *Plant Physiol.* 11: 803-809.
- GOSSETT, D.R., MILLHOLLON, E.P. and LUCAS, M.C., 1994. Antioxidant Response to NaCl Stress in Salt Tolerant and Salt Sensitive Cultivars of Cotton. *Crop Sci.* 34: 706-714.
- GRATTAN, S.R. and GRIEVE, C.M., 1999. Mineral Nutrient Acquisition and Response by Plants Grown in Saline Environment. In: Pessarakli, M. (Ed.) *Hanbook of Plant and Crop Stres*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 203-229.
- GREGER, M., KAUTSKY, L. and SANDBERG, T., 1995. A Tentative Model of Cd Uptake in *Potamogeton pectinatus* in Relation to Salinity, Environmental and Experimental Botany 35: 215–225.

- GRIFFITHS, H.R., MOLLER, L., BARTOSZ, G., BAST, A., BENTONI-FREDDARI, C., COLLINS, A., COOKE, M., COOLEN, S., HAENEN, G., HOBERG, A.M., LOFT, S., LUNEC, J., OLINSKI, R., PARRY, J., POMPELLA, A., POULSEN, H., VERHAGEN, H., and ASTLEY, A.B., 2002. Biomarkers. *Molecular Aspects of Medicine*, 23: 101-208.
- GRILL, E., GEKELER, W., WINNACKER, E.-L. and ZENK, M.H., 1986. Homophytochelatins are Heavy Metal-Binding Peptides of Homo-Glutathione Containing Fabales. *FEBS Lett.* 205: 47-50.
- GRILL, E., LOEFFLER, S., WINNACKER, E.-L. and ZENK, M.H., 1989. Phytochelatins, the Heavy-Metal-Binding Peptides of Plants, are Synthesized from Glutathione by a Specific g-Glutamylcysteine Dipeptidyl Transpeptidase (Phytochelatase). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86: 6838-6842.
- GRILL, E., WINNACKER, E.L. and ZENK, M.H., 1985. Phytochelatins, the Principal Heavy-Metal Complexing Peptides of Higher Plants. *Science*, 230: 674-676.
- GUETA-DAHAN, Y., YANIV, Z., ZILINSKAS, A. and BEN-HAYYIM, G., 1997. Salt and Oxidative Stress: Similar and Specific Effects Responses and Their Relation to Salt Tolerance in *Citrus*. *Planta*, 203: 460-469.
- GUPTA, P. and CHANDRA, P., 1996. Response of Cadmium to *Ceratophyllum demersum* L., Rootless Submerged Plant. *Waste Management*, 16: 335-337.
- HAGHIRI, F., 1973. Cadmium Uptake by Plants. *Journal of Environmental Quality*, 2: 93-96.
- HALLER, W.T., SUTTON, D.L. and BARLOWE, W.C., 1974. Effects of Salinity on Growth of Several Aquatic Macrophytes. *Ecology*, 55: 891-894.
- HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 1985. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford.
- HALLIWELL, B., 1982. The Toxic Effects of Oxygen on Plant Tissues. In: Oberly, L.W. (Ed.), *Superoxide Dismutase*, vol. I. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 89-123.
- HALLIWELL, B., 1987. Oxidative Damage, Lipid Peroxidation, and Antioxidant Protection in Chloroplasts. *Chem. Phys. Lipids* 44: 327-340.

- HALLIWELL, B., and GUTTERIDGE, J.M.C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, New York, 936s.
- HARE, P.D. and CRESS, W.A., 1997. Metabolic Implications of Stress-Induced Proline Accumulation in Plants, *Plant Growth Regul.* 21: 79-102.
- HART, B.A. and SCAIFE, B.D., 1977. Toxicity and Bioaccumulation of Cadmium in *Chlorella pyrenoidosa*. *Environmental Research* 14: 401–413.
- HARTZENDORF, T. and ROLLETSCHEK, H., 2001. Effects of NaCl-salinity on amino acid and carbohydrate contents of *Phragmites australis*. *Aquatic Botany* 69: 195-208.
- HARWOOD, J.L. and RUSSEL, N.J. 1984. Lipids in Plants and Microbes. Allen and Unwin, London.
- HE, Q.B. and SINGH, B.R., 1994. Crop Uptake of Cadmium from phosphorus fertilizers. I. Yield and Cadmium Content. *Water, Air and Soil Pollution.* 74: 251-265.
- HELAL, H.M., UPENOV, A. and ISSA, G.J., 1999. Growth nad Uptake of Cd and Zn by *Leucaena leucocephala* in Reclaimed Soils as Affected by NaCl Salinity. *J. Plant Nutr. Sci.* 162: 589-592.
- HERNANDEZ, J., JIMENEZ, A., MULLINEAUX, P. and SEVILLA, F., 2000. Tolerance of Pea Plants (*Pisum sativum*) to Long-Term Salt Stress is Associated with Induction of Antioxidant Defences. *Plant Cell Environ.* 23: 853-862.
- HERNANDEZ, J.A. and ALMANSA, M.S., 2002. Short-Term Effects of Salt Stress on Antioxidant Systems and Leaf Water Relations of Pea Plants, *Physiol. Plant.* 115: 251-257.
- HERNANDEZ, J.A., CORPAS, F.J., GOMEZ, M., DEL RIO L.A. and SEVILLA, F., 1993. Salt Induced Oxidative Stress Mediated by Activated Oxygen Species in Pea Leaf Mitochondria. *Physiol. Plant* 89:103-110.
- HERNANDEZ, L.E., CARPENA-RUIZ, R. and GARATE, A., 1996. Alterations in the Mineral Nutrition of Pea Seedlings Exposed to Cadmium. *J. Plant Nutr.* 19: 1581-1598.
- HERRMANN, K.M., 1995. The Shikimate Pathway: Early Steps in the Biosynthesis of Aromatic Compounds. *Plant Cell.* 7: 907-919.

- HODGES, D. M., DELONG, J. M., FORNEY, C. F. and FRANGE, R. K. 1999. Improving the Thiobarbituric Acid-Reactive-Substances Assay for estimating Lipid Peroxidation in Plant Tissues Containing Anthocyanin and Other Interfering Compounds. *Planta*, 207: 604-611
- HODGES, D.M. and FORNEY, C.F., 2000. The Effect of Ethylene, Depressed Oxygen and Elevated Carbon Dioxide on Antioxidant Profiles of Senescing Spinach Leaves. *Journal of Experimental Botany* 51: 645-655.
- HORTON, A.A., and FAIRHURST 1987. Lipid Peroxidation and Mechanism of Toxicity. *CRC, Critical Reviews in Toxicology*, 18(1): 27-79.
<http://aquat1.ifas.ufl.edu/cerdem2.jpg>
- IANNELLI, M.A., PIETRINI, F., FIORE, L., PETRILLI, L. and MASSACCI, A., 2002. Antioxidant Response to Cadmium in *Phragmites australis* Plants. *Plant Physiol. Biochem.* 40: 977-982.
- IMLAY, J.A. and LINN, S., 1988. DNA Damage and Oxygen Radical Toxicity. *Science* 240: 1302-1309.
- INOUE, M., MITSUMUNE, M., TOHOYAMA, H., JOHO, M. and MURAYAMA, T., 1991. Contributions of Cell Wall and Metalbinding Peptide to Cd- and Cu-Tolerances in Suspension-Cultured Cells of Tomato. *Bot. Mag. Tokyo* 104: 217-229.
- IYENGAR, E.R.R. and REDDY, M.P., 1996. Photosynthesis in Highly Salt Tolerant Plants. In: Pesserkali, M. (Ed.), *Handbook of Photosynthesis*. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, pp. 897-909.
- JAIN, S. K., VASUDEVAN, P. and JHA, N. K., 1989. Removal of Some Heavy Metal from Polluted Waters by Aquatic Plants: Studies on Duckweed and Water Velvet, *Biological Wastes*, 28: 115-126.
- KAÇAR, B., 1972. Bitki Analizleri: Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri II. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara.
- KAFI, M., STEWART, W. S. and BORLAND, A. M., 2003. Carbohydrate and Proline Contents in Leaves, Roots, and Apices of Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Wheat Cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50: 155-162.
- KAGI, J.H.R., 1991. Overview of Metallothionein. *Methods Enzymol.* 205: 613-626.

- KEIPER, F.J., CHEN, D.M. and DEFILIPPIS, L.F., 1998. Respiratory, Photosynthetic and Ultrastructural Changes Accompanying Salt adaptation in Culture of *Eucalyptus microcorys*. J. Plant Physiol. 152: 564-573.
- KELTJENS, W.G. and VAN BEUSICHEM, M.L., 1998. Phytochelatins as Biomarkers for Heavy Metal Toxicity in Maize: Single Metal Effects of Copper and Cadmium. J. Plant Nutr. 21: 635-648.
- KENNEDY, B.F. and DE FILLIPPIS, L.F., 1999. Physiological and Oxidative Response to NaCl of the Salt Tolerant *Grevillea ilicifolia* and the Salt Sensitive *Grevillea arenaria*. J. Plant Physiol. 155: 746-754.
- KEREPESI, I. and GALIBA, G., 2000. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. Crop Sci. 40: 482-487.
- KESSLER, A. and BRAND, M.D., 1995. The mechanism of the Stimulation of State 4 Respiration by Cadmium in Potato Tuber (*Solanum tuberosum*) mitochondria. Plant Physiol. Biochem. 33: 519-528.
- KHAN, M.A., UNGAR, I.A. and SHOWALTER, A.M., 1999. Effects of Salinity on Growth, Ion Content, and Osmotic Relations in *Halopyrum mocoronatum* (L.) Stapf. J. Plant Nutr. 22: 191-204.
- KHATKAR, D. and KUHAD, M.S., 2000. Short-Term Salinity Induced Changes in Two Wheat Cultivars at Different Growth Stages. Biol. Plant. 43: 629-632.
- KHAVARINEJAD, R.A. and CHAPARZADEH, N., 1998. The Effects of NaCl and CaCl₂ on Photosynthesis and Growth of Alfalfa Plants. Photosynthetica 35: 461-466.
- KING, G.H., TURNER, V.A., HUSSEY JR., C.E., WURTE, LE, E.S. and LEE, S.M., 1988. Isolation and Characterization of a Tomato cDNA Clone which Codes for a Salt-Induced Protein. Plant Mol. Biol. 10: 401-412.
- KINNERSELY, A.M., 1993. The Role of Phytochelates in Plant Growth and Productivity. Plant Growth Regulation, 12: 207-217.
- KINRAIDE, T.B., 1999. Interactions Among Ca²⁺, Na⁺ and K⁺ in salinity toxicity: Quantitative Resolution of Multiple Toxic and Ameliorative Effects. J. Exp. Bot., 50: 1495-1505.

- KLAPHECK, S., FLIEGNER, W. and ZIMMER, I., 1994. Hydroxymethylphytochelatins are Metal-Induced Peptides of the Poaceae. *Plant Physiol.* 104: 1325-1332.
- KNEER, R. and ZENK, M.H., 1992. Phytochelatins Protect Plant Enzymes from Heavy Metal Poisoning. *Phytochemistry* 31: 2663–2667.
- KOYRO, H.W., 2000. Effect of High NaCl-Salinity on Plant Growth, Leaf Morphology, and Ion Composition in Leaf Tissues of *Beta vulgaris* ssp *maritima*. *J. Appl. Bot. Angew. Bot.* 74: 67-73.
- KROTZ, R.M., EVANGELOU, B.P. and WAGNER, G.J., 1989. Relationships Between Cadmium, Zinc, Cd-Binding Peptide, and Organic Acid in Tobacco Suspension Cells. *Plant Physiol.* 91: 780-787.
- KRUPA, Z., 1988. Cadmium-Induced Changes in the Composition and Structure of the Light Harvesting Chlorophyll a/b protein Complex II in Radish Cotyledons. *Phyisologia Plantarum.* 73: 518-524.
- KUBOTA, H, SATO, K., YAMADA, T. and MAITANI, T., 1995. Phytochelatins (Class III metallothionein) and Their Desglycyl Peptides Induced by Cadmium in Normal Root Cultures of *Rubia tinctorum* L. *Plant Sci.* 106: 157-166.
- KUHN, H., and BORCHERT, A., 2002. Regulation of Enzymatic Lipid Peroxidation: The Interplay of Peroxidizing and Peroxide Reducing Enzymes. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(2): 154-172.
- KUIPER, P.J.C., 1985. Lipid Metabolism of Higher Plants as a Factor in Environmental Adaptation. In: Siegenthaler, P.A. and Eichenberger, W. (Eds) *Structure, Function and Metabolism of Plant Lipids*. Elsevier, Amsterdam, pp, 525-530.
- KÜPPER, H., KÜPPER, F. and SPILLER, M., 1996. Environmental Relevance of Heavy Metal-Substituted Chlorophylls Using the Exaple of Water Plants. *Journal of Environmental Botany*, 295: 259-266.
- KWAK, S.S., KIM, S.K., PARK, I.J. and LUI, J.R., 1996. Enhancement of Peroxidase Activity by Stress Related Chemicals in Sweet Potato. *Phytochemistry*, 43: 565-568.
- LACKNER, R., 1998. Oxidative Stress in Fish by Environmental Pollutants. *Fish Ecotoxicology*, 203-224.

- LANE, B., KAJOIKA, R. and KENNEDY, R., 1987. The Gheat-germ Ec Protein is a Zinc-Containing Metallothionein. *Biochem. Cell Biol.* 65: 1001-1005.
- LARSSON, E.H., BORNMAN, J.F. and ASP, H., 1998. Influence of UV-B Radiation and Cd²⁺ on Chlorophyll Fluorescence, Growth and Nutrient Content in *Brassica napus*. *J. Exp. Bot.* 49: 1031-1039.
- LAVID, N., SCHWARTZ, A., TEL YARDEN, O. and OR E. 2001. The Involvement of Polyphenols and Peroxidase Activities in Heavy-Metal Accumulation by Epidermal Glands of the Waterlily (Nymphaeaceae). *Planta*, 212: 323-331.
- LECHNO, S., ZAMSKI, E. and TELOR, E., 1997. Salt Stress-Induced Responses in Cucumber Plants. *J. Plant Physiol.* 150: 206-211.
- LEE, D.H., KIM, Y.S. and LEE, C.B., 2001. The Inductive Responses of the Antioxidant Enzymes by Salt Stress in the Rice (*Oryza sativa* L.). *J. Plant Physiol.* 158: 737-745.
- LEITA, L., CONTIN, M. and MAGGIONI, A., 1991. Distribution of Cadmium and Induced Cd-Binding Proteins in Roots, Stems and Leaves of *Phaseolus Vulgaris*. *Plant Sci.* 77: 139-147.
- LIANG, Y.C., 1999. Effects of Silicon on Enzyme Activity and Sodium, Potassium and Calcium Concentration in Barley Under Salt Stress. *Plant. Soil* 209: 217-224.
- LICHTENTHALER, H. K. and WELLBURN, A.R. 1985. Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf in Different Solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 603: 591-592.
- LIMA, A.I.G., PEREIRA, S.I.A., FIGUEIRA, E.M.A.P., CALDEIRA, G.C.N. and CALDEIRA, H.D.Q.M., 2004. Cadmium Detoxification in Roots of *Pisum sativum* Seedlings: Relationship Between Toxicity Levels, Thiol Pool Alterations and Growth. *Environmental and Experimental Botany*, Baskida.
- LIN, C.C., HSU, Y.T. and KAO, C.H., 2002. The Effect of NaCl on Proline Accumulation in Rice Leaves. *Plant Growth Regul.* 36: 275-285.
- LIU, J.G., LIANG, J.S., LI, K.Q., ZHANG, Z.J., YU, B.Y., LU, X.L., YANG, J.C., and ZHU, Q.S., 2003. Correlations Between Cadmium and Mineral Nutrients in Absorption and Accumulation in Various Genotypes of Rice under Cadmium Stress. *Chemosphere* 52: 1467-1473.

- LOCKWOOD, M.P., 1976. Effects of Pollutants on Aquatic Organisms. , Cambridge University Press, New York.
- LOEFFLER, S., HOCHBERGER, A., GRILL, E., GEKELER, W., WINNACKER, E.-L. and ZENK, M.H., 1989. Termination of the Phytochelatin Synthase Reaction Through Sequestration of Heavy Metals by the Reaction Product. FEBS Lett. 258: 42-46.
- LOEWUS, F.A., 1980. l-Ascorbic Acid: Metabolism, Biosynthesis, Function. In: Preiss J, (Ed.) The Biochemistry of plants. Vol. 3. New York: Academic Press, 77-99.
- LOGANI, M.K. and DAVIES, R.E., 1980. Lipid Oxidation: Biologic Effects and Antioxidants-A Review. Lipids, 15: 485-495.
- LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951. Protein Measurement with Folin Phenol Reagent. Journal of Biological Chemistry, 193: 265-275.
- LOZANO-RODRIGUEZ, E., HERNANDEZ, L.E., BONZY, P. and CHARPENARUIZ R.O. 1997. Distribution of Cadmium in Shoot and Root Tissue of Maize and Pea Plants: Physiological Disturbances. J. Exp. Bot. 306: 123-128.
- LYNCH, J. and A. LAUCHLI, 1985. Salt Stress Disturbs the Calcium Nutrition of Barley (*Hordeum vulgar* L.). New Phytol., 99: 345-354.
- MANSOUR, M.M.F., 2000. Nitrogen Containing Compounds and Adaptation of Plants to Salinity Stress. Biol. Plant. 43: 491-500.
- MARCHETTI, S. and LEITA, L., 1995. Risposta sporofitica e Gametofitica Allo Stress da Cadmio in *Pisum sativum*. In: Atti XXXIX Convegno Annuale Societa Italiana di Genetica Agraria, Vasto Marina, Italy, pp. 207-208.
- MARTINEZ-BALLESTA, M.C., MARTINEZ, V. and CARVAJAL, M., 2004. Osmotic adjustment, water relations and gas Exchange in pepper plants grown under NaCl or KCl. Environmental and Experimental Botany 52:161-174.
- MCCLURE, J.W., 1975. Physiology and Functions of Flavonoids. In: Harborne, J.B., et al. (Eds.), The Flavonoids. Academic Press, New York, pp. 45-77.
- MCMILLAN, C. and MOSELEY, F.N., 1967. salinity Tolerances of Five Marine Spermatophytes of Redfish Bay, Texas, Ecology 48 (3): 503-506.

- MEHTA, S.K. and GAUR, J.P., 1999. Heavy Metal-Induced Proline Accumulation and Its Role in Ameliorating Metal Toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytol.* 143:253-259.
- MELONI, D.A., OLIVA, M.A., MARTINEZ, C.A. and CAMBRAIA J., 2003. Photosynthesis and Activity of Superoxide Dismutase, Peroxidase and Glutathione Reductase in Cotton under Salt Stress. *Environmental and Experimental Botany*, 49: 69-76.
- MENDELSSOHN, I.A., MCKEE, K.L. and KONG, T., 2001. A Comparison of Physiological Indicators of Sublethal Cadmium Stress in Wetland Plants. *Environmental and Experimental Botany* 46: 263-275.
- MEUWLY, P., THIBAUT, P. and RAUSER, W.E., 1993. Glutamylcysteinyl-Glutamic acid-a New Homologue of Glutathione in Maize Seedlings Exposed to Cadmium. *FEBS Lett.* 336: 472-476.
- MHATRE, G.N. and PANKHURST, C.E., 1997. Bioindicators to Detect Contamination of Soils with Special Reference to Heavy Metals. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. (Eds.), *Biological Indicators of Soil Health and Sustainable Productivity*. CAB International, New York, pp. 349-369.
- MILLAR, C.E., 1959. *Soil Fertility*. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- MILLER, G.L., 1956. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.*, 31: 426-428.
- MIRANDA, M.G. and ILANGO VAN, K., 1996. Uptake of Lead by *Lemna gibba* L. Influence on Specific Growth Rate and Basic Biochemical Changes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 1000-1007.
- MITTOVA, V., TAL, M., VOLOKITA, M. and GUY, M., 2002. Salt Stress Induces Up-Regulation of an Efficient Chloroplast Antioxidant System in the Salt-Tolerant Wild Tomato Species *Lycopersicon pennellii* but Not in the Cultivated Species. *Physiol. Plant.* 115: 393-400.
- MIYAKE, C, MICHIHATA, F., ASADA, K., 1991. Scavenging of Hydrogen Peroxide in Prokaryotic and Eukaryotic Algae: Acquisition of Ascorbate Peroxidase During the Evolution of Cyanobacteria. *Plant and Cell Physiology* 32: 33-43.

- MIYAKE, C., and ASADA, K., 1992. Thylakoid Bound Ascorbate Peroxidase in Spinach Chloroplasts and Photoreduction of Its Primary Oxidation Product, Monodehydroascorbate Radicals in the Thylakoids. *Plant and Cell Physiology*. 33: 541-553.
- MO, S.C., CHOI, D.S. and ROBINSON, J.W., 1989. Uptake of Mercury from Aqueous Solutions by Duckweed: The Effect of pH, Copper and Humic Acid. *J. Environ. Sci. Health A*, 24: 135–46.
- MOHAN, B.S. and HOSETTI, B.B., 1997. Potential Phytotoxicity of Lead and Cadmium to *Lemna minor* Grown in Sewage Stabilization Ponds. *Environ. Pollution*, 9: 233-238.
- MORAN, J.F., KLUCAS, R.V., GRAYER, R.J., ABIAN, J., and BECANA, M., 1997. Complexes of Iron with Phenolic Compounds from Soybean Nodules and other Legume Tissues: Prooxidant and Antioxidant Properties. *Free Radical Biol. Med.* 22(5): 861-70.
- MÜHLING, K.H. and LAUCHLI, A., 2003. Interaction of NaCl and Cd Stress on Compartmentation Pattern of Cations, Antioxidant Enzymes and Proteins in Leaves of Two Wheat Genotypes Differing in Salt Tolerance. *Plant and Soil* 253: 219-231.
- MUNDA, I.M., and HUDNIK, V., 1988. The effects of Zn, Mn, and Co Accumulation on Growth and Chemical Composition of *Fucus vesiculosus* L. under Different Temperature and Salinity Conditions. *Marine Ecology* 9: 213-225.
- MUNNS, R. and TERMATT, A., 1986. Whole-Plant Responses to Salinity. *Aust. J. PlantPhysiol.*13: 143-160.
- MUNNS, R., 1988. Why Measure Osmotic Adjustment? *Aust. J. Plant Physiol.* 15: 717-726.
- MURPHY, A., ZHOU, J., GOLDSBROUGH, P.B. and TAI, L., 1997. Purification and Immunological Identification of Metallothioneins 1 and 2 from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 113: 1293-1301.
- MURPHY, L.R., KINSEY, S.T. and DURAKO, M.J., 2003. Physiological Effects of Short-Term Salinity Changes on *Ruppia maritima*. *Aquatic Botany* 75: 293-309.

- MUTHUKUMARASAMY, M., GUPTA, S.D. and PANNERSELVAM, R., 2000. Enhancement of Peroxidase, Polyphenol Oxidase and Superoxide Dismutase Activities by Triadimefon in NaCl Stressed *Raphanus sativus* L. Biol. Plant. 43: 317-320.
- NAGALAKSHMI, N. and PRASAD, M.N.V., 2001. Responses of Glutathione Cycle Enzymes and Glutathione Metabolism to Copper Stress in *Scenedesmus bijugatus*. Plant Sci. 160: 291-299.
- NASU, Y. and KUGIMOTO, M., 1981. *Lemna* (duckweed) as an Indicator of Water Pollution. I. The Sensitivity of *Lemna paucicostata* to Heavy Metals. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 10: 159-169.
- NEUMANN, D., LICHTENBERGER, O., GUNTHER, D., TSCHIRSCH, K. and NOVER, L., 1994. Heat-Shock Proteins Induce Heavy-Metal Tolerance in Higher Plants. Planta 194: 360-367.
- NILU, X., BRESSAN, R.A., HASEGAWA, P.M. and PRADO, J.M., 1995. Ion Homeostasis in NaCl Stress Environments. Plant Physiol. 109: 735-742.
- NISHIZONO, H., KUBOTA, K., SUZUKI, S. and ISHII, F., 1989. Accumulation of Heavy Metals in Cell Walls of *Polygonum cuspidatum* Roots from Metalliferous Habitats. Plant Cell Physiol. 30: 595-598.
- NOCITO, F.F., PIROVANO, L., MAURIZIO, C. and SACCHI, G.A., 2002. Cadmium-Induced Sulphate Uptake in Maize Roots. Plant Physiol. 129: 1872-1879.
- NOCTOR, G. and FOYER, C.H., 1998. Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249-279.
- NORAH, N. and GAUR, J.P., 1995. Effect of Cations, Including Heavy Metals, on Cadmium uptake by *Lemna polyrrhiza* L. BioMetals. 8: 95-98.
- NOVOTNY, V., 1995. Diffuse Source of Pollution by Toxic Metals and Impact on Waters, Heavy Metals Problems and Solutions, Salamons, W., Förstner, U and Mader, P. (Eds.). Springer Verlag, 412s.
- NUCCIO, M.L., RHODES, D., McNEIL, S.D. and HASON, A.D., 1999. Metabolic Engineering of Plants for Osmotic Stress Resistance. Curr. Opin. Plant Biol. 2: 91-99.

- NUSSBAUM, S., SCHMUTZ, D. and BRUNOLD, C., 1988. Regulation of Assimilatory Sulfate Reduction by Cadmium in *Zea mays* L. Plant Physiol. 88: 1407-1410.
- OLSEN, S.R., WATANABE, F.S., 1957. A Method to Determine a Phosphorus Adsorption Maximum for Soils as Measured by the Langmuir Isoterm. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 21: 144-149.
- ONCEL, I., KELES, Y. and USTUN, A.S., 2000. Interactive Effects of Temperature and Heavy Metal Stress on the Growth and Some Biochemical Compounds in Wheat Seedlings. Environmental Pollution, 107: 315-320.
- ORNES W.H. and SAJWAN, K.S., 1993. Cadmium Accumulation and Bioavailability in Cnptail (*Ceratophyllum demersum* L.) Plants. Water, Air and Soil Pollution, 69: 291-300.
- ORTHEN, B., POPP, M. and SMIRNOFF, N., 1994. Hydroxyl Radical Scavenging Properties of Cyclitols. Proc. R. Soc. Edinburg Sect. B 102: 269-272.
- ORTIZ, D.F., RUSCITTI, T., MCCUE, K. and OW, D.W., 1995. Transport of Metal-Binding Peptides by HMT1, a fission yeast ABC-Type Vacuolar Membrane Protein. J. Biol. Chem. 270: 4721-4728.
- OUARITI, O., BOUSSAMA, N., ZARROUK, M., CHERIF, A and GHORBAL M.H., 1997. Cadmium- and Copper-Induced Changes in Tomato Membrane Lipids. Phytochemistry, 45: 1343-1350.
- OUZOUNIDOU, G., MOUSTAKAS, M. and ELEFThERIOU, E.P., 1997. Physiological and Ultrastructural Effects of Cadmium on Wheat (*Triticum aestivum*) Leaves. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 32: 154-160.
- OVEN, M., GRILL, G., GOLAN-GOLDHIRSH, A., KUTCHAN, T.M. and ZENK, M.H., 2002. Increase of Free Cysteine and Citric Acid in Plant Cells Exposed to Cobalt Ions. Phytochemistry, 60: 467-474.
- ÖZBEK, H., KAYA, Z., GÖK, M. ve KAPLAN, H., 1995. Toprak Bilimi. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No:73, Adana, 816s.
- OZTURK, L., EKER, S., OZKUTLU, F. and CAKMAK, I., 2003. Effect of Cadmium on Growth and Concentrations of Cadmium, Ascorbic Acid and Sulphydryl Groups in Durum Wheat Cultivars, Turk., J. Agric. For., 27: 161-168.

- PADMAJA, K., PARSAD, D.D.K. and PARSAD, A.R.K., 1990. Inhibition of Chlorophyll Synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. Seedlings by Cadmium Acetate. *Photosynthetica* 24: 399-404.
- PANDA, S.K. and UPADHYAY, R.K., 2003. Salt Stress Injury Induces Oxidative Alterations and Antioxidative Defence in the Roots of *Lemna minor*. *Biologia Plantarum*, 48 (2): 249-253.
- PARIDA, A., DAS, A.B. and DAS, P., 2002. NaCl Stress Causes Changes in Photosynthetic Pigments, Proteins and Other Metabolic Components in the Leaves of a True Mangrove, *Bruguiera parviflora*, in Hydroponic Cultures. *J. Plant Biol.* 45: 28-36.
- PARIDA, A.K. and DAS, A.B., 2005. Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: A Review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60:324-349.
- PARIDA, A.K., DAS, A.B. and MITTRA, B., 2004. Effects of Salt on Growth, Ion Accumulation, Photosynthesis and Leaf Anatomy of the Mangrove, *Bruguiera parviflor*. *Trees*, 18:167-174.
- PHLEGER, C.F., (1971) Effect of Salinity on Growth of a Salt Marsh Grass. *Ecology*, 52 (5): 908-911.
- POPP, M., LARTHER, F. and WEIGEL, P., 1985. Osmotic Adaptation in Australian mangroves. *Vegetatio* 61: 247-254.
- PRADO, E.F., BOERO, C., GALLARDO, M. and GONZALEZ, J.A., 2000. Effect of NaCl on Germination, Growth and Soluble Sugar Content in *Chenopodium quinoa* Willd. Seeds. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 41: 27-34.
- PRASAD, M.N.V. and HAGEMEYER, J., 1999. Heavy Metal Stress in Plants, from Molecules to Ecosystems. Springer-Verlage Berlin Heidelberg.
- PRZEMECK, E. and HAASE, N.U., 1991. On the Bonding of Manganese, Copper and Cadmium to Peptides of the Xilem Sap of Plant Roots, Water, Air and Soil Pollution, 57-68: 569-577.
- RAMA DEVI, S. and PRASAD, M.N.V., 2004. Membrane Lipid alterations in Heavy Metal Exposed Plant. In: Prasad, M.N.V. and Hagemeyer, J. (Eds.) Heavy Metal Stress in Plants, From Molecules to Ecosystems. Springer-Verlag, Berlin, 99-116.

- RASKIN, I., KUMAR, P.B.A.N., DUSHENKOV, S. and SALT, D.E., 1994. Bioconcentration of Heavy Metals by Plants, *Current Opinion in Biotechnology*, 5: 285-290.
- RATKEVICIUS, N., CORREA, J.A. and MOENNE, A. (2003) Copper accumulation, synthesis of ascorbate and activation of ascorbate peroxidase in *Enteromorpha compressa* (L.) Grev. (Chlorophyta) from heavy metal-enriched environments in northern Chile. *Plant, Cell and Environment*. 26: 159-1608.
- RAUSER, W. E., 1990. Phytochelatins. *Ann. Rev. Biochem.*, 59: 61-86.
- REDDY, M.P. and VORA, A.B., 1986. Changes in Pigment Composition, Hill Reaction Activity and Saccharides Metabolism in Bajra (*Pennisetum typhoides* S&H) leaves under NaCl salinity. *Photosynthetica* 20: 50-55.
- REDDY, M.P., SANISH, S. and IYENGAR, E.R.R., 1992. Photosynthetic Studies and compartmentation of Ions in Different Tissues of *Salicornia brachiata* Roxb. under Saline Conditions. *Photosynthetica* 26: 173-179.
- RHODES, D. and HANSON, A.D., 1993. Quaternary Ammonium and Tertiary Sulphonium Compounds in Higher Plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 357-384.
- RICE-EVANS C.A., MILLER N.J. and PAGANGA G., 1997. Antioxidant Properties of Phenolic Compounds. *Trends Plant Sci.* 2(4): 152-159.
- RIVETTA, A., NEGRINI, N. and COCUCCI, M., 1997. Involvement of Ca^{2+} - Calmodulin in Cd^{2+} Toxicity During the Early Phases of Radish (*Raphanus sativus* L.) Seed Germination. *Plant Cell Environ.* 20: 600-608.
- RODECAP, K.D., TINGEY, D.T. and TIBBS, J.H., 1981. Cadmium-Induced Ethylene Production in Bean Plants. *Z. Pflanzenphysiol.* 105: 65-74.
- ROMHELD, V., 1991. The Role of Phytosiderophores in Acquisition of Iron and Other Micronutrients in Graminaceous Species: An Ecological Approach. *Plant and Soil*, 130: 127-134.
- ROOT, R. A., MILLER, R. J. and KOEPPE, D. E., 1975. Uptake of Cadmium-Its Toxicity and Effect on the Iron-to-Zinc Ratio in Hydroponically Grown Corn. *Journal of Environmental Quality*, 4: 473-476.

- ROUT, N. P. and SHAW, B. P., 2001. Salt tolerance in Aquatic Macrophytes: Possible Involvement of the Antioxidative Enzymes. *Plant Science*, 160: 415-423.
- ROUT, N.P. TRIPATHI, S.B. and SHAW, B.P., 1998. Effect of Salinity on Chlorophyll and Proline Contents in Three Aquatic Macrophytes. *Biol. Plant.* 40: 453–458.
- RUIZ, J.M. and BLUMWALD, E., 2002. Salinity-Induced Glutathione Synthesis in *Brassica napus*. *Planta*, 214: 965-969.
- RUIZ, J.M. and ROMERO, L., 2001. Bioactivity of the Phenolic Compounds in Higher Plants. In: Rahman A. (ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol. 25(F). Elsevier Science, pp. 651-681.
- RUIZ, J.M., BRETONES, G., BAGHOUR, M., RAGALA, L., BELAKBIR, A. and ROMERO, L., 1998. Relationship Between Boron and Phenolic Metabolism in Tobacco Leaves. *Phytochemistry*, 48: 269-272.
- SABEHAT, A., LURIE, S. and WEISS, D., 1998. Expression of Small Heat-Shock Proteins at Low Temperatures. A possible Role in Protecting Against Chilling Injuries. *Plant Physiol.* 117: 651-658.
- SAITO, K., 1996. Formation of L-Ascorbic Acid and Oxalic Acid from D-Glucosone in *Lemna minor*. *Phytochemistry* 41: 145-149.
- SAKIHAMA, Y. COHEN, M.F., GRACE, S.C. and YAMASAKI, H., 2002. Plant Phenolic Antioxidant and prooxidant Activities: Phenolics-Induced Oxidative Damage Mediated by Metals in Plants. *Toxicology* 177: 67-80.
- SALAMONS, W., and FÖRSTNER, U., 1995. Heavy Metals Problems and Solutions, (P., Moder Eds.), Springer Verlag, 412s.
- SALERNO, G.L., PORCHIA, A.C., VARGAS, W.A., and ABDIAN, P.L., 2004. Fructose-Containing Oligosaccharides: Novel Compatible Solutes in *Anabaena* Cells Exposed to Salt Stress. *Plant Science* 167: 1003-1008.
- SALT, D.E. and RAUSER, W.E., 1995. MgATP-Dependent Transport of Phytochelatin Across the Tonoplast of Oat Roots. *Plant Physiol.* 107: 1293-1301.
- SALT, D.E., and WAGNER, G.J., 1993. Cadmium Transport Across Tonoplast of Vesicles from Oat Roots. Evidence for a Cd/H Antiport Activity. *J. Biol. Chem.* 268: 12297-12302.

- SALT, D.E., BLAYLOCK, M., KUMAR, N. P. B. A., DUSHENKOV, V., ENSLEY, B. D., CHET, I. and RASKIN, I., 1995. Phytoremediation: A Novel Strategy for the Removal of Toxic Metals from the Enviroment Using Plants, *Bio/Technology*, 13: 468-472.
- SALT, D.E., THURMAN, D.A., TOMSETT, A.B. and SEWELL, A.K., 1989. Copper Phytochelatins in *Mimulus guttatus*. *Proc. R. Soc. Lond. Series B*. 236: 79-89.
- SANTACRUZ, A., PEREALFOCEA, F., CARO, M. and ACOSTA, M., 1998. Polyamines as Short-Term Salt Tolerance Traits in Tomato. *Plant Sci*. 138: 9-16.
- SANTOS, C., 2004. Regulation of Chlorophyll Biosynthesis and Degradation by Salt Stress in Sunflower Leaves. *Scientia Horticulturae* 103:93-99.
- SAYGIDEĞER, S., 1998. Bioaccumulation and Toxicity of Zinc in *Spirogyra fluviatilis* Hilse. *Water, Air and Soil Pollution*, 101: 323-31.
- SAYGIDEĞER, S., 2000. Sorption of Cadmium and Their Effects on Growth, Protein Contents, and Photosynthetic Pigment Composition of *Veronica anagallis-aquatica* L. and *Ranunculus aquatilis* L., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65: 459–64.
- SAYGIDEĞER, S., DOĞAN, M. and KESER, G. 2004. Effect of Lead and pH on Lead Uptake, Chlorophyll and Nitrogen Content of *Typha latifolia* L. and *Ceratophyllum demersum* L. *International Journal of Agriculture and Biology*. 6(1): 168-172.
- SCANDALIOS, J.G., 2002. The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences*, 27: 483-486
- SCHAT H., SHARMA, S.S. and VOOIJS, R. 1997. Heavy Metal-Induced Accumulation of Free Proline in a Metal-Tolerant and a Nontolerant Ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiol. Plant*. 101:477-482.
- SCHOFFL, F. and KEY, J.L., 1982. An Analysis of mRNAs for a Group of hsp of Soybean Using Cloned DNAs. *J. Mol. Appl. Genet*. 1: 301-314.
- SEHMER, L., ALAOUI-SOSSE, B. and DIZENGREMEL, P., 1995. Effect of Salt Stress on Growth and on the Detoxifying Pathway of Pedunculate Oak Seedlings (*Quercus robur* L.). *J. Plant Physiol*. 147: 144-151.

- SEPEHR, M.F., GHORBANLI M. and NEJAD, R.A.K., 2003. Effects of Cadmium and Salinity on Growth, Photosynthesis and Ionic Contents of *Zea mays*. Asian Journal of Plant Sciences, 2(2): 196-201.
- SHAH, K. and DUBEY, R.S., 1995. Effect of Cadmium on RNA Level as well as Activity and Molecular Forms of Ribonuclease in Growing Rice Seedlings. Plant Physiol. Biochem. 33: 577-584.
- SHAH, K., and DUBEY, R.S., 1998. Effect of Cadmium on Proline Accumulation and Ribonuclease Activity in Rice Seedlings: Role of Proline as a Possible Enzyme Protectant. Biol. Plant. 40: 121-130.
- SHANNON, M.C. and GRIEVE, C.M., 1998. Tolerance of Vegetable Crops to Salinity. Scientia Horticulturae 78: 5-38.
- SHARMA, A., MUKHERJEE, A. and TALUKDER, G., 1985. Modification of Cadmium Toxicity in Biological Systems by Other Metals. Cur. Sci, 54:539-549.
- SHARMILA, P. and PARDHA SARADHI, P., 2002. Proline Accumulation in Heavy Metal Stressed Plants: an Adaptive Strategy. In: Prasad MNV, Strazlka K (eds) Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants. Kluwer, Dordrecht, pp 179-199.
- SHAW, B.P., 1995. Effects of Mercury and Cadmium on the Activities of Antioxidative Enzymes in the Seedlings of *Phaseolus aureus*. Biol. Plant. 37: 587-596.
- SHIRLEY, B.W., 1996. Flavonoid Biosynthesis: 'new' Functions for an 'Old' Pathway. Trends Plant Sci. 1: 377-382.
- SIEDLECKA, A. and KRUPA, Z., 1996. Interaction Between Cadmium and Iron and Its effects on Photosynthetic Capacity of Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiol. Biochem. 34: 833-841.
- SILVA, J.V., DE LACERDA, C.F., DA COSTA, P.H.A., FILHO, J.E., FILHO, E.G. and PRISCO, J.T., 2003. Physiological Responses of NaCl Stressed Cowpea Plants Grown in Nutrient solution Supplemented with CaCl₂. Brazilian Journal of Plant Physiology, 15: 99-105.
- SIMIRNOFF, N., 1996. The Function and Metabolism of Ascorbic Acid in Plants. Annals of Botany. 78: 661-669.

- SINGH, S.K., SHARMA, H.C., GOSWAMI, A.M., DATTA, S.P. and SINGH, S.P., 2000. In vitro Growth and Leaf Composition of Grapevine Cultivars as Affected by Sodium Chloride. *Biol. Plant.* 43: 283-286.
- SIVRITEPE, N., SIVRITEPE, H.O. and ERIS, A., 2003. The effects of NaCl Priming on Salt Tolerance in Melon Seedlings Grown under Saline Conditions. *Scientia Horticulturae*, 97: 229-237.
- SJOLIN, A.M. and MOLLER, I.M., 1991. The Effect of Polyamines and Other Cations on NADH Oxidation on the Inner Surface of the Inner Mitochondrial Membrane. *Plant Physiol. Biochem.* 29: 607-613.
- SMEETS, K., CUYPERS, A., LAMBRECHTS, A., SEMANE, B., HOET, P., LAERE, A.V. and VANGRONVELD, J., 2005. Induction of Oxidative Stress and Antioxidative Mechanisms in *Phaseolus vulgaris* After Cd Application. *Plant Physiology and Biochemistry*, Baskıda.
- SMIRNOFF, N. and CUMBES, Q.J., 1989. Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Compatible Solutes. *Phytochemistry* 28: 1057-1060.
- SMITH JJ, VERVERIDIS P, JOHN P. 1992. Characterization of the Ethylene Forming Enzyme Partially Purified from Melon. *Phytochemistry*. 31: 1485-1494.
- SMYKALOVA, I. and ZAMECNIKOVA, B., 2003. The Relationship Between Salinity and Cadmium Stress in Barley. *Biologia Plantarum*, 46: 269-273.
- SOLOMON, M., BELENGHI, B., DELLEDONNE, M., MENACHEM, E. and LEVINE, A., 1999. The Involvement of Cysteine Proteases and Protease Inhibitor Genes in the Regulation of Programmed Cell Death in Plants, *Plant Cell*. 11: 431-444.
- SPEISER, D.M., ABRAHAMSON, S.L., BANUELOS, G. and OW, D.W., 1992. *Brassica juncea* Produces a Phytochelatin-Cadmium sulfide Complex. *Plant Physiol.* 99: 817-821.
- SREENIVASULU, N., GRIMM, B., WOBUS, U. and WESCHKE, W., 2000. Differential Response of Antioxidant Compounds to Salinity Stress in Salt-Tolerant and Salt-Sensitive Seedlings of Fox-Tail Millet (*Setaria italica*). *Physiol. Plant.* 109: 435-442.

- STADLER, R.H., MARKOVIC, J. and TURSKY, R.J. 1995. In vitro Anti- and Pro-Oksidant Effects of Natural Polyphenols. Biol. Trace. Elem. Res. 47: 299-305.
- STEIGER, H.M., BECK, E. and BECK, R., 1977. Oxygen Concentration in Isolated Chloroplasts During Photosynthesis. Plant Physiol. 60: 903-906
- STEPHAN, U. . and SCHOLZ, G., 1993. Nicotianamine: Mediator of Transport of Iron and Heavy Metals in the Phloem. Physiol. Plant, 88: 522-529.
- TAKAHAMA, U. and ONIKI, T., 1992. Regulation of Peroxidase-Dependent Oxidation of Phenolics in the Apoplast of Spinach Leaves by Ascorbate. Plant Cell Physiol. 33: 379-387.
- THURMAN, D.A., 1981. Mechanisms of Metal Tolerance of Higher Plants p. 239-249. In: Effect of Heavy Metal Pollution on Plants. Lepp, N. V. (Ed.) Applied Science Publishers, London, England.
- THYPYAPONG, P., HUNT, M.D. and STEFFENS, J.C., 1995. Systemic Wound Induction of Potato (*Solanum tuberosum*) Polyphenol Oxidase. Phytochemistry, 40: 673-67.
- TIBURICO, A.F., CAMPOS, J.L., FIGUERAS, X. and BESFORD, R.T., 1993. Recent Advances in the Understanding of Polyamine Functions During Plant Development. Plant Growth Regul. 12: 331-340.
- TORRICELLI, E., GORBI, G., PAWLIK-SKOWRONSKA, B., DI TOPPI, L.S. and CORRADI, M.G., 2004. Cadmium Tolerance, Cysteine and Thiol Peptide Levels in Wild Type and Chromium-Tolerant Strains of *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). Aquatic Toxicology, 68: 315-323.
- UPADHYAY, R.K. and PANDA, S.K., 2005. Salt Tolerance of Two Aquatic Macrophytes, *Pistia stratiotes* and *Salvinia molesta*. Biol. Plant., 49: 157-159.
- URWIN, P.E., GROOM, Q.J. and ROBINSON, N.J., 1996. Characterization of Two cDNAs and Identification of Two Proteins that Accumulate in Response to Cadmium in Cadmium-Tolerant *Datura innoxia* (Mill.) cells. J. Exp. Bot. 47: 1019-1024.
- VAN ASSCHE, F. and CLIJSTERS, H., 1990. Effects of Metals on Enzyme Activity in Plants. Plant Cell and Environ., 13: 195-206.

- VAN STEVENINCK, R. F. M., VAN STEVENINCK, M. E. and FERNANDO, D. R., 1992. Heavy Metal (Zn, Cd) Tolerance in Selected Clones of Duckweed (*Lemna minor*), Plant and Soil, 146: 271-280.
- VERKLEIJ, J.A.C. and SCHAT, H., 1990. Mechanisms of Metal Tolerance in Higher Plants. In: Show, J. (Ed.), Evolutionary Aspects of Heavy Metal Tolerance in Plants. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 179-193.
- VERKLEIJ, J.A.C., KOEVOETS, P., VAN RIET, J., BARK, R., MIJDAM, Y. and ERNST, W.H.O., 1990. Poly(g-glutamylcysteinyl)- Glycines or Phytochelatins and Their Role in Cadmium Tolerance of *Silene vulgaris*. Plant Cell Environ. 13: 913- 921.
- VERVERIDIS, P. and JOHN, P., 1991. Complete Recovery *in vitro* of Ethylene-Forming Enzyme Activity. Phytochemistry, 30: 725-727.
- VÖGELLI, L.R. and WAGNER, G.J., 1996. Relationship Between Cadmium, Glutathione and Cadmium-Binding Peptides (Phytochelatins) in Leaves of Intact Tobacco Seedlings. Plant Sci. 114: 11-18.
- WAGNER, G.J., 1993. Accumulation of Cadmium in Crop Plants and Its Consequences to Human Health. Adv. Agron. 51: 173-212.
- WALBOT, V. and CULLIS, C.A., 1985. Rapid Genomic Change in Higher Plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 36: 367-396.
- WANG, T. C., WEISSMAN, J. C., VARADARAJAN, R., BENEMANN, J. R., 1998. Heavy Metal Binding and Removal by *Phormidium*, A. Environ. Contam. Toxicol., 20: 739-744.
- WANG, Y. and NIL, N., 2000. Changes in Chlorophyll, Ribulose Biphosphate Carboxylase-Oxygenase, Glycine Betaine Content, Photosynthesis and Transpiration in *Amaranthus tricolor* Leaves During Salt Stress. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 75: 623-627.
- WISE, R.R. and NAYLOR, A.W., 1987. Chilling-Enhanced Photooxidation: Evidence for the Role of Singlet Oxygen and Endogenous Antioxidants. Plant Physiol. 83: 278-282.
- WOLLENWEBER, E. and DIETZ, V.H., 1981. Occurrence and Distribution of Free Flavonoid Aglycones in Plants. Phytochemistry 20: 869-932.

- WONG, Y.S., LUO, G.H. and KWAN, K.M.F., 1997. Peroxidation Damage of Oxygen Free Radicals Induced by Cadmium to Plant. *Acta Bot. Sin.* 39: 522-526.
- WU, F.B., CHEN, F., WEI, K. and ZHANG, G.P., 2004. Effect of Cadmium on Free Amino acid, Glutathione and Ascorbic Acid Concentrations in Two Barley Genotypes (*Hordeum vulgare* L.) Differing in Cadmium Tolerance. *Chemosphere*, 57: 447-454.
- WU, J.-T., CHANG, S.C. and CHEN, K.S., 1995. Enhancement of Intracellular Proline Levels in Cells of *Anacystis nidulans* (cyanobacteria) Exposed to Deleterious Concentrations of Copper. *J. Phycol.* 31:376-379.
- www.ecy.wa.gov/programs/wq/plants/plantid2/descriptions/cerdem.html
- YEO, A.R. and FLOWERS, T.J., 1983. Varietal Differences in the Toxicity of Sodium Ions in Rice Leaves. *Physiol. Plant.* 59: 189-195.
- ZENK, M.H., 1996. Heavy Metal Detoxification in Higher Plants-A Review. *Gene*, 179: 21-30.
- ZHIFANG, G. and LOESCHER, W.H., 2003. Expression of a Celery Mannose 6-Phosphate Reductase in *Arabidopsis thaliana* Enhances Salt Tolerance and Induces Biosynthesis of both Mannitol and a Glucosyl-Mannitol Dimmer. *Plant Cell Environ.* 26: 275-283.
- ZOBEL, A.M. and CLARKE, P.A., 1999. Production of Phenolics in Seedlings of *Acer saccharum* and *Acer platanoides* in Response to UV-A Irradiation and Heavy Metals. *Allelopathy J.*, 6:21-34.
- ZORB, C., SCHMITT, S., NEEB, A., KARL, K., LINDER, M. and SCHUBERT, S., 2004. The Biochemical Reaction of Maize (*Zea mays* L.) to Salt Stress is Characterized by a Mitigation of Symptoms and not by a Specific Adaptation. *Plant Science* 167: 91-100.

ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Adana’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana’da tamamladım. 1994 yılında kaydolduğum Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 1998 yılında mezun oldum. 1999 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım ve 2002 yılında Bilim Uzmanı olarak mezun oldum. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Doktora öğrenimime başladım.