



**MISIR (*Zea mays* Hido) FİDELERİ ÜZERİNDE
KADMIYUM KAYNAKLI HASARLARA KARŞI TAURİNİN
HAFİFLETİCİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

Medine ŞİPAK

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Prof. Dr. Mucip GENİŞEL
AĞRI-2022
(Her hakkı saklıdır.)**

T.C.

AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Medine ŞİPAK

MISIR (*Zea mays* Hido) FİDELERİ ÜZERİNDE
KADMIYUM KAYNAKLI HASARLARA KARŞI TAURİNİN
HAFİFLETİCİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. Mucip GENİŞEL

AĞRI-2022

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ
MISIR (*Zea mays* Hido) FİDELERİ ÜZERİNDE
KADMIYUM KAYNAKLI HASARLARA KARŞI
TAURİNİN HAFİFLETİCİ ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mucip GENİŞEL

Bu çalışmada, kadmiyumun (Cd) mısır fidelerinde hasar oluşturuıcı etkisi üzerine taurinin (T) hafifletici etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla hidrofonik sistemde Hogland besiyeri kullanılarak 10 gün boyunca yetiştirilen mısır fidelerine 100 µM Cd uygulanmış ve diğer deney gruplarında ise Cd ye ilave olarak 1 mM T ve 2 mM T uygulamaları yapılmıştır. Uygulamalardan 4 gün sonra fideler hasat edilerek analizler yapılmıştır. Cd stresi altındaki bitkilerde kontrole kıyasla kök ve gövde uzunlukları azalırken T uygulamaları yalnız Cd uygulamasına kıyasla, kök ve gövde uzunluklarını önemli düzeyde artırmıştır. Kadmiyum uygulaması kontrole kıyasla kök kuru ağırlığında önemli artışa neden olmuştur. Cd stresi bitkilerde çözünabilir protein içeriğinde ciddi oranda düşüşe neden olurken T uygulaması Cd grubuna kıyasla protein içeriğinde önemli artış göstermiştir. Cd ve T'nin yalnız ve kombine uygulamaları protein profilinde de gözle görülür farklılıklara yol açmıştır. Kadmiyum stresi mısır fidelerinde klorofil *a,b*, karotenoid ve toplam klorofil içeriğinde azalmaya neden olurken taurin bu parametrelerde önemli artışlara neden olmuştur. Kontrole kıyasla Cd stresi mısır fidelerinde POD dışındaki SOD, CAT, APX ve GR antioksidan enzim aktivitelerinin yanı sıra glutatyon ve askorbat içeriğinde ciddi düşüşe neden olmuştur. Taurin uygulaması yalnız Cd uygulamasına kıyasla antioksidan enzimlerin aktivitesinde ve antioksidan maddelerin içeriğinde artış sağlamıştır. Reaktif oksijen türlerinden H₂O₂ ve O₂• içeriğinde Cd uygulaması artışa neden olurken taurin uygulaması bu bileşiklerin içeriğini önemli oranda düşürmüştür. Lipid peroksidasyonu seviyeleri Cd uygulaması ile ciddi derecede artarken bu artışlar taurin ilavesiyle engellenebildiği tespit edilmiştir. Taurin uygulaması Cd alınıını ve/veya taşıınıını da etkilediği tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde mısır bitkisinde Cd kaynaklı hasarlara karşı taurinin hafifletici etkisi olduğu ortaya çıkarılmıştır. Taurin bu etkiyi antioksidan metabolizmayı etkilenleştirmesinin yanı sıra Cd alınıını ve/veya bitki içerisinde taşıınıını düzenleyerek sağladığı söylenebilir.

2022, 123sayfa

Anahtar sözcükler:Kadmiyum, taurin, antioksidan sistem, mısır, oksidatif hasar

ABSTRACT
MASTER IS THESIS
INVESTIGATION OF THE MITIGATION ROLE OF TAURINE ON
AGAINST CADMIUM DAMAGES ON MAIZE (*Zea mays* Hido) SEEDLINGS

Advisor: Prof. Dr. Mucip GENİŞEL

In this study, it was investigated whether taurine (T) had mitigating effects on the damage-inducing effect of cadmium (Cd) on maize seedlings. For this purpose, 100 µM Cd was applied to maize seedlings grown for 10 days in the hydroponic system containing Hogland, and 1 mM T and 2 mM T applications were made in addition to Cd in other experimental groups. Four days after the applications, the seedlings were harvested and analyzed. While root and shoot lengths decreased in plants under Cd stress compared to control, T applications significantly increased root and shoot lengths compared to Cd application. Cadmium application caused a significant increase in root dry weight compared to control. While Cd stress caused a significant decrease in soluble protein content in plants, T application showed a significant increase in protein content compared to the Cd group. Alone and combined applications of Cd and T also led to noticeable differences in protein profile. Cadmium stress caused a decrease in chlorophyll a, b, carotenoid, and total chlorophyll content in corn seedlings, while taurine caused significant increases in these parameters. Compared to control, Cd stress caused a significant decrease in antioxidant enzyme activities of SOD, CAT, APX, and GR except for POD as well as glutathione and ascorbate content in maize seedlings. Taurine application provided an increase in the activity of antioxidant enzymes and the content of these antioxidant substances compared to Cd application alone. While Cd application caused an increase in H₂O₂ and O₂^{•-} content of reactive oxygen species, taurine application significantly decreased the content of these reactive substances. While lipid peroxidation levels were increased significantly with Cd application, it was determined that these increases could be prevented by the addition of taurine. It was also determined that taurine application also affected Cd uptake and/or transport. When all these results are evaluated together, it has been revealed that taurine has a mitigating effect against Cd-induced damage in maize seedlings. It can be said that taurine provides this effect by regulating Cd uptake and/or transport within the plant, as well as influencing antioxidant metabolism.

2022, 123 pages

Keywords: Cadmium, taurine, antioxidant system, maize, oxidative damage.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca, benden bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, çalışmalarımın tamamlanabilmesi için her türlü şartı sağlayan ve bana her zaman her türlü desteği sunan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mucip GENİŞEL'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımı yaptığım Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Laboratuvarı yönetimi ve personeline teşekkür ederim.

Eğitimim tüm süreçlerinde her türlü destekleriyle beni hiç yalnız bırakmayan aileme teşekkür ederim.

Bu tezdeki çalışma TÜBİTAK tarafından 121Z672 no'lu proje ile desteklenmiştir.

.../.../2022

Medine ŞİPAK

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
TEŞEKKÜR	3
İÇİNDEKİLER	4
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	7
ŞEKİL VE ÇİZELGELER DİZİNİ	8
1. GİRİŞ.....	11
1.1. Kadmiyum (Cd).....	13
1.2. Kadmiyum'un Tarım Topraklarına Girişi	14
1.3. Rhizosferde Kadmiyum Dinamiği.....	14
1.4. Kadmiyumun Bitkilerdeki Etkileri	14
1.4.1. Kadmiyumun büyüme ve gelişme üzerindeki etkisi	14
1.4.2. Kadmiyumun bitki su ilişkileri üzerindeki etkisi	15
1.4.3. Kadmiyumun fotosentez üzerindeki etkileri	16
1.4.4. Kadmiyumun mineral beslenmesine etkisi	17
1.4.5. Kadmiyum reaktif oksijen türleriyle (ROT) ilişkisi.....	18
1.4.6. Kadmiyumun enzimler üzerindeki etkisi	20
1.4.7. Kadmiyumun'nun insanlar ve hayvanlar üzerindeki toksik etkileri.....	21
1.4.8. Kadmiyumun bitkilerdeki toksik etkilerini hafifletmek için yapılan çalışmalar	22
1.4.9. Kadmiyumun mısır bitkisi üzerine etkisi	24
1.5. Taurin	24
1.5.1. Taurinin biyosentezi	25
1.5.2. Taurinin organizmalardaki işlevleri	25
1.5.3. Bitkilerde Taurin ile yapılmış çalışmalar	25
1.5.4. Taurinin dokulardaki dağılımı ve miktarı	26
1.5.5. Taurinin Ca^{+2} üzerine metabolik etkileri.....	26
1.5.6. Taurinin antioksidan rolü	27
1.5.7. Taurinin enzimlerin katalitik aktivitesine etkisi.....	28
1.6. Mısır'ın Üretim Açısından Önemi ve Besin Değeri.....	29
2. KURAMSAL TEMELLER	30
2.1. Serbest Radikaller.....	30
2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri	30
2.2. Lipid Peroksidasyonu	33
2.3. Antioksidan Enzimler	34
2.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	34
2.3.2. Peroksidaz (POD).....	35
2.3.3. Katalaz (CAT)	35
2.3.4. Askorbat peroksidaz (APX)	36
2.3.5. Glutasyon redüktaz (GR).....	36
2.4. Antioksidan Bileşikler	37
2.4.1. Glutasyon (GSH)	37
2.4.2. Askorbat (L-Askorbik Asit, C Vitamini, ASH)	38
3. MATERYAL ve METOD	39
3.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar	39

3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları.....	39
3.3. Tohumların Seçilmesi ve Temini	43
3.4. Büyütme Aşamasındaki Deney Tasarımı ve Yapılışı.....	43
3.5. Kök-Gövde Uzluklarının Belirlenmesi	44
3.6. Kuru ve Yaş Ağırlıkların Belirlenmesi	44
3.7. Çözünabilir Protein İçeriğinin Belirlenmesi.....	44
3.8. Fotosentetik Pigment Miktarlarının Belirlenmesi	46
3.9. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	47
3.9.1. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi.....	47
3.9.2. Peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi.....	47
3.9.3. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi	48
3.9.4. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini	49
3.9.5. Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin tayini.....	50
3.10. Protein Profilinin Belirlenmesi.....	50
3.11. Antioksidan Enzimlerin İzoenzim Profillerinin Elektroforez (NATIVE-PAGE) ile Belirlenmesi.....	51
3.11.1. Süperoksit dismutaz (SOD) izoenzimlerinin belirlenmesi.....	51
3.11.2. Guaiakol peroksidaz (GPX) izoenzimlerinin belirlenmesi	52
3.11.3. Katalaz (CAT) izoenzimlerinin belirlenmesi	52
3.11.4. Askorbat peroksidaz (APX) izoenzimlerinin belirlenmesi	52
3.12. Enzimatik Olmayan Antioksidanların İçsel Seviyelerinin Belirlenmesi.....	52
3.12.1. Glutasyon (GSH) içeriğinin belirlenmesi	53
3.12.2. Askorbik asit (ASC) içeriğinin belirlenmesi.....	53
3.13. Oksidatif stress parametrelerinin belirlenmesi	53
3.13.1. Lipid peroksidasyon miktarının belirlenmesi.....	53
3.13.2. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının belirlenmesi	54
3.13.3. Süperoksit (O ₂ ⁻) içeriğinin belirlenmesi	54
3.14. Bitki Element İçeriğinin Belirlenmesi.....	55
3.15. İstatistik analiz.....	55
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	56
4.1. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Kök Gövde Büyümesi Üzerine Etkisi.....	58
4.2. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Kuru Ağırlığı Üzerine Etkisi.....	61
4.3. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Çözünabilir Protein Üzerine Etkisi	62
4.4. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Klorofil <i>a</i> , <i>b</i> , Karoteoid ve Toplam Klorofil İçeriği	64
4.5. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi	67
4.6. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin POD Aktivitesi Üzerine Etkisi	69
4.7. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin CAT Aktivitesi Üzerine Etkisi	70
4.8. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin APX Aktivitesi Üzerine Etkisi	72
4.9. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin GR Aktivitesi Üzerine Etkisi	73

4.10. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Askorbat ve GSH İçeriği Üzerine Etkisi	75
4.11. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin H ₂ O ₂ İçeriği Üzerine Etkisi	77
4.12. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Süperoksit Anyonu İçeriğine Etkisi	78
4.13. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin MDA Miktarı Üzerine Etkisi	79
4.14. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Element İçeriği Üzerine Etkisi	81
5. TARTIŞMA.....	83
5.1. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Büyümesi Üzerine Etkileri	83
5.2. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Kuru Ağırlığı Üzerine Etkileri	85
5.3. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Çözünabilir Protein İçeriği Üzerine Etkisi	85
5.4. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Klorofil ve Karotenoid İçeriği Üzerine Etkileri.....	87
5.5. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Antioksidan Sistem Üzerine Etkileri	89
5.6. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Mısır Bitkisinde MDA Üzerine Etkisi	94
5.7. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinde Kadmiyum Birikmesi üzerine Etkisi.....	95
6. SONUÇLAR.....	97
7. KAYNAKÇA.....	98
8. ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

$^1\text{O}_2$	Tekli (singlet) oksijen
APX	Askorbat peroksidaz
ASH	Askorbat
CAT	Katalaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Oksitlenmiş glutasyon
H_2O_2	Hidrojen peroksit
LPO	Lipid peroksidaz
MDA	Malondialdehit
$\text{O}_2^{\bullet-}$	Süperoksit iyonları
$\text{OH}^{\bullet}$	Hidroksil radikali
PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
POD	Peroksidaz
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksid dismutaz
$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$	Kadmiyum nitrat
CdSO_4	Kadmiyum sülfat;
CdCl_2	Kadmiyum klorür;
RuBisCo	Ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz-oksijenaz;
PEPC	Fosfoenolpiruvat karboksilaz;
PSI	Fotosistem I;
PSII	Fotosistem II;
ACP	Asit fosfataz
ALA-D	δ -aminolevulinik asit dehidrataz
IAA	İndol asetik asit;
SO_3H	sülfonik asit grubu
tAPX	tilakoid Askorbat peroksidaz
gmAPX	glioksizom membran Askorbat peroksidaz
sAPX	stromalAskorbat peroksidaz
cAPX	sitosolikAskorbat peroksidaz

ŞEKİL VE ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çözünebilir protein içeriğinin belirleme standardı	45
Şekil 3.2. CAT aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik.....	49
Şekil 3.3. H ₂ O ₂ içeriği hesaplama standart grafiği	54
Şekil 4.1. Uygulanacak en uygun kadmiyum konsantrasyonlarının belirlenmesi için ön çalışma	56
Şekil 4.2. Uygun kadmiyum konsantrasyonlarının belirlenmesi için ön çalışma.....	57
Şekil 4.3. Uygun taurin konsantrasyonlarının belirlenmesi için ön çalışma.....	57
Şekil 4.4. Uygun taurin konsantrasyonlarının belirlenmesi için ön çalışma.....	58
Şekil 4.5. Hasat günü bitkilerin genel görünümü	59
Şekil 4.6. Hasat edilen mısır bitkilerinin genel görünümü.	59
Şekil 4.7. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fideleri kök-gövde uzunluklarına etkisi.....	60
Şekil 4.8. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin kök-gövde kuru ağırlıklarına etkisi	62
Şekil 4.9. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde çözünebilir protein içeriğine etkisi.....	63
Şekil 4.10.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde toplam protein içeriği	64
Şekil 4.11.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin klorofil <i>a</i> içeriği üzerine etkisi.....	65
Şekil 4.12.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin klorofil <i>b</i> içeriği üzerine etkisi.....	66
Şekil 4.13.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin toplam klorofil içeriği üzerine etkisi.....	66
Şekil 4.14. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin karotenoid içeriği üzerine etkisi.....	67
Şekil 4.15.Taurin uygulamasının mısır bitkilerinde SOD aktivitesi üzerine etkisi ...	68
Şekil 4.16.Taurin uygulamasının mısır bitkilerinde SOD aktivitesi üzerine etkisinin izoenzim görüntüsü.....	69
Şekil 4.17.Taurin uygulamasının mısır bitkilerinde POD aktivitesi üzerine etkisi	70

Şekil 4.18. Taurin uygulamasının mısır bitkilerinde POD aktivitesi üzerine etkisinin izoenzim görüntüsü.....	70
Şekil 4.19. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisi.....	71
Şekil 4.20. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisinin izoenzim görüntüsü	72
Şekil 4.21. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisi.....	73
Şekil 4.22. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisinin izoenzim görüntüsü	73
Şekil 4.23. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde GR aktivitesi üzerine etkisi.....	74
Şekil 4.24. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde glutatyon içeriği üzerine etkisi.....	76
Şekil 4.25. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde askorbat içeriği üzerine etkisi.....	76
Şekil 4.26. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde H ₂ O ₂ içeriği üzerine etkisi.....	78
Şekil 4.27. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde süperoksit anyonu içeriğine etkisi.....	79
Şekil 4.28. Taurin uygulamasının mısır fidelerinde MDA miktarı üzerine etkisi	80
Şekil 4.29. Mısır fidelerinde Cd birikimi ve taurinin Cd birikimine etkisi (köklerde).....	81
Şekil 4.30. Mısır fidelerinde Cd birikimi ve taurinin Cd birikimine etkisi (gövdede)	82

Çizelge 4.1. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fideleri kök ve gövde uzunluklarına etkisi.....	60
Çizelge 4.2. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin kök-gövde kuru ağırlıklarına etkisi	61
Çizelge 4.3. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde çözünebilir protein içeriğine etkisi.....	63
Çizelge 4.4. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin pigment içerikleri üzerine etkisi.....	65
Çizelge 4.5. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerindeSOD aktivitesi üzerine etkisi.....	68
Çizelge 4.6. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde POD aktivitesi üzerine etkisi.....	69
Çizelge 4.7. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisi.....	71
Çizelge 4.8. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde APX aktivitesi üzerine etkisi.....	72
Çizelge 4.9. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde GR aktivitesi üzerine etkisi.....	74
Çizelge 4.10. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde askorbat ve GSH içeriği üzerine etkisi.....	75
Çizelge 4.11. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde H ₂ O ₂ içeriği üzerine etkisi.....	77
Çizelge 4.12. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde süperoksit anyonu içeriğine etkisi.....	79
Çizelge 4.13. Taurin uygulamasının mısır fidelerinde MDA miktarı üzerine etkisi ..	80
Çizelge 4.14. Mısır fidelerinde Cd birikimi ve taurinin Cd birikimine etkisi.....	81

1. GİRİŞ

Stres bitkiler için çevre şartlarının normal olarak büyüme ve gelişmesine olumsuz etki edecek şekilde değişmesiyle bitkilerde meydana gelen duruma denir. Diğer bir deyişle bitkilerin normal olarak yaşamasını engelleyen dış faktörlerden kaynaklı homeostasinin bozulmasıdır (Büyük vd. 2012). Bitkiler yaşamları boyunca birçok farklı stres faktörü ile karşılaşmaktadır, bunlar temelde biyotik ve abiyotik faktörler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Biyotik faktörler; mikroorganizmaların (fungus, bakteri ve virüs) enfeksiyonu ve zararlı hayvanların saldırıları sonucu oluşan stres faktörleridir. Abiyotik faktörler ise kuraklık, don, radyasyon, kimyasallar, ağır metaller gibi çevresel kaynaklı faktörlerdir (Levitt 1972; Lichtenthaler 1996).

Endüstrileşme ve kentleşmeyle birlikte, doğada meydana gelen çevre kirliliği önemli bir sorun haline almıştır (Bayçu 1997; Ali and Khan 2017; Hussain *et al.* 2019). Çevre kirliliğinde önemli bir paya sahip olan ağır metal kirliliği, kaçınılmaz bir hızla büyüyen çağımızın en ciddi çevresel tehditlerinden biridir (Liu *et al.* 2014). Ağır metallere ekosistemlerin toprak, su ve hava gibi ortamlarında kalıcı olarak birikirler (Ali *et al.* 2019). Metal rafinasyon gibi çeşitli endüstriler, farklı ağır metaller içeren arıtılmamış ksenobiyotik kirleticileri tarımsal ekosisteme deşarj etmekte ve buralarda ağır metal kirliliği ortaya çıkarmaktadır (Wang and Chen 2009). Küresel olarak, mobilizasyon ve taşıma hızı, sanayileşmenin hızlı büyümesi nedeniyle ekolojik sistemlerdeki ağır metaller 1940'lardan bu yana olağanüstü derecede genişlemiştir (Anyanwu *et al.* 2018).

Ağır metal tanım olarak, fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm^3 'ten daha yüksek olan metallerdir. Bu grubun içine kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, civa ve çinko olmak üzere 60'tan fazla metal girmektedir (Kahvecioğlu *et al.* 2003). Bitki gelişimi ve büyümesi mutlak gerekli olan ağır metaller de vardır, bunlar; Çinko (Zn), manganez (Mn), demir (Fe) ve nikel (Ni) gibi temelağır metallerdir (Andresen *et al.* 2018). Bu elementlerin aksine; Kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve gümüş (Ag) dahil olmak üzere esansiyel olmayan ağır metaller biyolojik aktiviteleri yoktur veya çok az biyolojik aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte izin verilen limitin üzerinde maruz kalmaları fizyolojik ve metabolik

süreçlerine müdahale ederek biyolojik sistemler için tehlike oluştururken, kontaminasyona da neden olurlar (Zulfiqar *et al.* 2019; Haider *et al.* 2021). Ayrıca Kennedy and Gonsalves (1987)'ın bildirdiğine göre ağır metaller bitkilerde transpirasyon, stoma hareketleri, su alımı, fotosentez, enzim aktivitesi, çimlenme, protein sentezi, membran stabilitesi, hormonal denge gibi birçok fizyolojik olayın bozulmasına neden olmaktadır. Ağır metaller suya karışabilir, bitkiler tarafından alınabilir ve atmosfere gaz olarak salınabilir ya da kil veya organik madde gibi toprak bileşenlerince absorbe edilebilir. Bitkisel ve hayvansal üretimle besin zincirine dahil olan bu ağır metaller ise insan sağlığını olumsuz etkiler (Saether *et al.* 1997; Acero *et al.* 2003). Artan ağır metal seviyeleri, çevre ve insanlar için önemli bir tehdit faktörüdür (Doğaroğlu 2018).

Genellikle okyanus yüzeyindeki sularda ağır metal bulunur fakat düşük yoğunluktadır ve oradan yükselip atmosfere taşınırlar. Sahil kıyılarında ve nehir sularının yüzeyinde yüksek seviye ağır metal bulunur. Özellikle şehir merkezlerine yakın alanlarda ağır metal kirliliği, kanalizasyon vasıtasıyla artar (Wikfors and Ukeles 1982; Rebhun and Amotz 1984), endüstri alanlarının yakınında ise bu artış çok daha yüksektir (Cotté-Krief *et al.* 2000; Bu-Olayan *et al.* 2001; Esser and Volpe 2002). Kirliliğe neden olan ağır metal kaynakları; jeolojik kökenli olanlar (volkanik patlamalar, depremler, seller vs. gibi doğal kaynaklar) ve antropojenik (endüstriyel, kentsel, tarımsal ve ulaşım gibi etmenler) diye ikiye ayrılabilir (Alloway 2013).

Ağır metaller, toprakta doğal olarak karakteristik taşlaşma (litojenik) ve toprak oluşumu (pedojenik) yollarla ortaya çıkar ve çok küçük bir konsantrasyonda bulunur (Wuana and Okieimen 2011). Fakat sanayinin gelişmesiyle birlikte madencilik, eritme, imalat, kanalizasyon bertarafı ve endüstriyel atıkların uygunsuz işlenmesi gibi faaliyetler sonucu ağır metal kirliliği ekosistemde yaygınlaşmıştır (Wang *et al.* 2016a; Wang *et al.* 2016b; Abbas *et al.* 2017; Lu *et al.* 2018). Bunun yanında tarımın gelişmesiyle kimyasal gübrelerle atık suyla sulama tarım topraklarında ağır metal konsantrasyonunu artıran diğer etmenlerdir. Ayrıca metal ve kimya fabrikalarının çok yaygın olarak kullandıkları metal içeren mantar ilaçları ile ahşap koruyucuları, büyük sanayi komplekslerinin yaydığı gaz ve tozları (Peterson 1993), yenilenemeyen enerji kaynaklarının yakılması, metalurji endüstrileri, (Tchounwou *et al.* 2012; Yuan *et al.* 2019) gibi faaliyetler sonucu çevrede ağır metalleri yaygınlaşmıştır.

1.1. Kadmiyum (Cd)

Bitkilerde strese sebep olan en yıkıcı ağır metallere bir olan kadmiyum (Hegedüs *et al.* 2001) gümüş beyazı renginde bir metaldir ve havada hızla kadmiyum oksite dönüşür. Kadmiyumun suda çözünür formları kadmiyum nitrat ($\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$), kadmiyum sülfat (CdSO_4), kadmiyum klorür (CdCl_2) gibi inorganik tuzlarıdır (Sonsuz *et al.* 2011). Çok düşük dozlarda bile toksik olması ve biyolojik yarı ömrünün uzun olması nedeniyle kadmiyum önemli bir kirleticidir (Goyer 1991; Lyons *et al.* 1996; Adhikari *et al.* 2018). Herbisitler, kimyasal gübreler, pestisit uygulamaları, kontamine yer altı suları ile sulama dâhil olmak üzere başlıca çeşitli endüstriyel yayılımlar ve antropojenik faaliyetlerden çevreye giren daha sonra da gıda zincirine aktarılan kadmiyum (Cd); insanlar, bitkiler ve hayvanlar için yaygın olarak toksik bir kirleticidir (Sandalio *et al.* 2001; Liu *et al.* 2014). Bitkiler için gerekli bir element olmayan kadmiyum; bitkinin morfolojik, yapısal, biyokimyasal ve fizyolojik durumlarında çeşitli değişikliklere yol açar. Kadmiyum bitkiler tarafından kolaylıkla alınır ve düşük konsantrasyonda bile etkisi gösterir (Ekmekçi *et al.* 2008; Xu *et al.* 2014; Fahadet *et al.* 2015; Hussain *et al.* 2021a; Hussain *et al.* 2021b). Bunun yanı sıra insanlarda da ciddi sağlık etkileri nedeniyle en tehlikeli maddeler arasında 7. element olarak sınıflandırılmıştır (ATSDR, 2019= Agency for Toxic Substances and Disease Registry).

Cd çok düşük konsantrasyonda bile reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini hızlandırır (Gao *et al.* 2018), protein sentezini azaltır ve hücre ölümünü indükler (Abbas *et al.* 2017; Shen *et al.* 2017). Yapılan çalışmalar, Cd ile kirlenmiş topraklarda mısır bitkisinde kadmiyumun kökten alınımının baskın olduğu, daha sonra sürgünlere ve tohumlara taşındığını belgelemiştir (Vaculík *et al.* 2015; Rizwan *et al.* 2017).

Kadmiyum sadece toprakta değil kök sisteminde ve tohumda da yüksek hareketliliğe sahip bir ağır metaldir. Cd bakımından kirli topraklarda yetişen bitkilerin yenilebilir kısımlarında geniş ölçüde biriktiriliyor olması bu ağır metalin besin zincirine katılmasına neden olur (Monteiro *et al.* 2009).

1.2. Kadmiyum'un Tarım Topraklarına Girişi

Cd'nin yeraltı suyuna ve tarım topraklarına insan kaynaklı (antropojenik) girişi, elektrokaplama, plastik üretimi, trafik, çöplükler, yanma emisyonları, madencilik, boya pigmentleri, alaşım hazırlama, kompost/gübre, Cd içeren piller gibi endüstriyel ürün ve endüstriyel atıklardan oluşan işlemlerden kaynaklıdır. Ayrıca kontrolden geçenevsel arıtma çamuru bile Cd içerir, Cd kanalizasyon sistemlerinden derelere ve nehirlerle girerek diğer yerleri kirletir (Moradi *et al.* 2005; Bigalke *et al.* 2017; Khan *et al.* 2017; Kubier *et al.* 2019).

1.3. Rhizosferde Kadmiyum Dinamiği

Toprakta ortalama 0,41 ppm konsantrasyonuyla son derece ekotoksik bir element olan kadmiyum, topraktaki doğal konsantrasyonu 0,06 ila 1,1 ppm aralığındadır (Kabata-Pendias and Pendias 2011). Kadmiyum toprakta dört farklı fraksiyonlarda bulunabilir bunlar; Değiştirilebilir/çözünür fraksiyon, organik olarak bağlı fraksiyon, inorganik olarak bağlı fraksiyon ve minerolojik kadmiyumdur. Bu dört fraksiyonda da biyolojik olarak kullanılabilir (Mohamed *et al.* 2010).

Toprakta ayrıştırma ile toprağın hareketli havuzuna kolayca girer ve organik maddelerin yanı sıra inorganik iyonlarla çok sayıda karmaşık bileşik oluşturur. Kadmiyum toprakta $CdCl^+$, $CdHS^+$, $CdHCO_3^+$, $CdOH^+$, $Cd(HS)_4^{2-}$, $CdCl_3^-$, $Cd(OH)^3$ gibi birçok katyonik ve anyonik formda bulunduğu bildirilmektedir (Kabata-Pendias and Sadurski 2004).

1.4. Kadmiyumun Bitkilerdeki Etkileri

1.4.1. Kadmiyumun büyüme ve gelişme üzerindeki etkisi

Kadmiyum toksisitesi bitkilerde genel büyüme anormalliklerine ve inhibisyona neden olur (Tran and Popova 2013; Zhang *et al.* 2019). Bitkiler için gerekli bir element olarak kabul edilmez. Ayrıca bitkide fizyolojik süreçleri; solunum, fotosentez, su hareketi ve gaz değişimini doğrudan veya dolaylı olarak inhibe ederek bitki metabolizmasında bozulmaya yol açar (Tang *et al.* 2018). Cd stresi, bitkilerin besin alımında dengesizliğe neden olarak fotosentez veriminde ve biyokütlede düşüşe neden olur (Rizwan *et al.* 2016; Zhou *et al.* 2017).

Bazı araştırmalar, Cd maruziyetinin pirinç, buğday ve domates dahil olmak üzere çeşitli mahsullerde kök uzamasını en aza indirdiğini göstermiştir (Rizwan *et al.*2012; Hussain *et al.*2015; Abbaset *et al.*2017). Cd'ye uzun süre maruz kaldıktan sonra, kökler müsilaılı esmer bir görüntü alır ve çürür; sürgünlerde azalma meydana gelir, yaprakların kıvrılması ve kloroz meydana gelebilir (Tran and Popova 2013). Rizosfer bölgesinde kadmiyum bulunması yan köklerin oluşumunu engeller ve ana kökün sert, bükülmüş ve kahverengi olmasına neden olur (Krantev *et al.*2008; Yadav 2010; Rascio and Navari-Izzo 2011). Bunun nedeni, epidermisin kortikal hücre katmanlarındaki ve apikal bölgesindeki anormal genişlemelerdir (Rascio and Navari-Izzo, 2011).

Bitki yapraklarında Cd stresi nedeniyle çeşitli semptomların (kloroz, kuruma, bodurlaşma ve nekroz) meydana geldiği bildirilmiştir (Ismael *et al.*2019). Yapraktaki değişiklikler arasında kloroplastın yapısındaki değişiklikler, kloroza neden olan düşük klorofil içeriği ve fotosentez aktivitesinin kısıtlanması yer almaktadır (He *et al.*2008; Rascio *et al.*2008; Lee *et al.*2010; Liu *et al.*2010; Miyadate *et al.*2011). Cd stresi altında, çeşitli bitki bileşenlerinin toplam yaprak alanında ve kuru ağırlığında da önemli bir azalma kaydedilmiştir (Jinadasa *et al.* 2016).

Bitkilerin Cd stresi altındaki bodur büyümesi, azaltılmış besin ve su alımına, solunuma, fotosenteze, azot ve karbonun asimilasyonuna ve antioksidan aktiviteye bağlanabilir (Rizwan *et al.*2017). Yüksek Cd konsantrasyonunun nohut (*Cicer arietinum* L.), mercimek (*Lens culinaris* L.), yonca (*Medicago sativa* L.), buğday, mısır, ıspanak ve soya fasulyesinin hücre ve bütün bitki büyümesini en aza indirdiği gösterilmiştir (Rizwan *et al.*2012; Rehman *et al.*2015; Younis *et al.*2016; Zhang *et al.* 2019).

1.4.2. Kadmiyumun bitki su ilişkileri üzerindeki etkisi

Kadmiyuma maruz kalan bitkilerde, hücre içi boşluk azalması, hücre boyutu, hücre sayısı ve iletim demetlerinin çapında değişiklik gibi çeşitli morfolojik ve fizyolojik değişiklikler meydana gelir. Bu nedenle bitkiler kadmiyuma maruz kaldıklarında değişen derecelerde su stresine maruz kalırlar (Fernández *et al.*2013). Bitkideki bu değişimler, plazma membran geçirgenliğinde değişiklikleri indükleyerek bitkinin iyonik homeostazını bozmaktadır; böylece Cd stoma

iletkenliğini, terleme oranını ve nispi yaprak su içeriğini inhibe eder (Domínguez *et al.* 2011). Dahası Cd toksisitesi, su emilimi için kök yüzey alanının vesaçak kök yoğunluğunu azaltarak hidrolik iletkenlikte önemli bir düşüşe neden olur (Gouia *et al.* 2003). Cd ile kirlenmiş topraklarda, toprak çözeltisinin ozmotik yeteneği kök hücre özsuyununkinden daha düşük olabilir (Małacka *et al.* 2008). Böyle koşullarda toprağın ozmotik basıncı artmasından dolayı bitkinin su absorpsiyon seviyesitoprak çözeltisi tarafından ciddi şekilde sınırlanacaktır (Rucińska-Sobkowiak 2016). Kadmiyum'un bitkide kök ve sürgünlerde Ca ve K miktarını ciddi oranda azaltmasını yanı sıra bitkinin terleme ve hidrolik iletkenliğinde önemli bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Zhou and Qiu, 2005).

1.4.3. Kadmiyumun fotosentez üzerindeki etkileri

Kadmiyum toksisitesi bitkilerde çeşitli metabolik olaylara olumsuz etki ettiği gibi fotosentez üzerinde de olumsuz etkisi vardır. Kadmiyum bitkilerde fotosentez ve solunuma etki ederek bitki karbon metabolizmasının bozulmasına (Zulfiqar *et al.* 2021), klorofil biyosentezinde etki etmesi sonucu kloroplast yoğunluğunun azalmasına yol açar (Baryla *et al.* 2001). Kadmiyum yaprakların epidermisinde stoma iletkenliği, hücre boyutu ve stoma yoğunluğunda bir azalmaya neden olur. Bu durum CO₂ ve O₂ dengesini bozar. Yağlı tohum, baklagiller ve tahıl ürünlerinde Cd birikiminin stoma açılmasını aksattığı bildirilmiştir (Younis *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2019). Daha yüksek bitkilerde, Cd ayrıca stoma kapanmasını ve genel bir fotosentez inhibisyonunu indükler. Haider *et al.* (2021) bildirdiğine göre bir çok çalışma ile kolza (Ali *et al.* 2015), alpin kuru otu (*Thlaspi caerulescens* L.), (Küpper *et al.* 2007), bezelye, mısır, arpa (Popova *et al.* 2012), maş fasulyesi (Wahid *et al.* 2008) ve buğday (Abbas *et al.* 2017) gibi birçok tarımsal üründe, Cd toksisitesine kısa ve uzun süreli maruz kalma, fotosentetik aktivitenin inhibe edildiği bildirilmiştir.

Fotosentez sırasında, ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz-oksijenaz (RuBisCo) ve fosfoenolpiruvat karboksilaz (PEPC) enzimleri, bitkilerde karbon fiksasyonu ve verimli fotosentez için hayati öneme sahiptir (Zhang *et al.* 2007). Kadmiyum iyonları, karboksilasyon reaksiyonlarında temel kofaktörler olan Mg iyonlarını değiştirerek RuBisCo aktivitesini azaltarak yapılarına doğrudan zarar verir ve RuBisCo'nun aktivitesini oksijenasyon reaksiyonlarına kaymasınadoğru yol açar

(Siedlecka *et al.* 1998; Tran and Popova, 2013).Cd'nin RuBisCO'nun büyük ve küçük alt birimlerinde geri dönüşü olmayan bir hasara neden olduğunu ve böylece enzimin tamamen inhibe edilmesine yol açtığını gösterilmiştir(Stiborová1988; Malik *et al.*1992).

Cd'nin toksisitesi fotosentetik aparatlara, özellikle ışık toplama kompleksine ve fotosistem I (PSI) ve fotosistem II'ye (PSII) zarar verir (Hasan *et al.* 2009). Demir (Fe), klorofil içeriğinin ve fotosentez için ışığın toplanmasında doğrudan yer alan diğer pigmentlerin sentezinin iyileştirilmesine yardımcı olur (Akinola and Ekiyoyo, 2006). Kadmiyum kaynaklı demir (Fe^{3+}) redüktaz inhibisyonu, fotosentez süreci ve aparatları üzerinde ciddi bir etkisi olan demir (Fe^{2+}) eksikliğine neden olur (Hasan *et al.* 2009). PSII'de elektron taşınımı ve özellikle oksijen üreten kompleksin Cd etkisine çok duyarlı olduğu bulunmuştur (Clijsters and Assche 1985; Noor *et al.* 2018). Cd'nin inhibisyon yeri ve mekanizması ile ilgili olarak, genel olarak PSII'nin su oksitleyici kompleksinin, oksijen üretim merkezlerini oluşturan Ca/Mn kümelerindeki Ca^{2+} 'nin değiştirilmesiyle (Sigfridsson *et al.* 2004; Dinakar *et al.* 2009) veya Qb bağlanma sahasındaki bazı modifikasyonlarla Cd'den etkilendiği kabul edilir (Geiken *et al.* 1998; Hayat *et al.* 2011).

1.4.4. Kadmiyumun mineral beslenmesine etkisi

Kadmiyumun bitkilerde besinlerin alımı ve asimilasyonu üzerinde olumsuz etkiler yarattığı rapor edilmiştir (Li *et al.* 2016; Ismael *et al.* 2019; Mourato *et al.*2019). Cd'nin hem Zn, Mn, Fe gibi mikro elementlerin hem de makro element olan P, N de müdahale ederekbu elementlerin bitkilerde asimilasyonlarını ve özel rollerini bozduğu bildirilmektedir (Solti *et al.*2011; Bertoli *et al.*2012; Sipos *et al.*2013; Jinadasa *et al.*2016; Khan *et al.*2016).

Bitki kökleri tarafından Cd alımı ile ilgili mekanizmalar genellikle Cd ve benzer kimyasal özelliklere sahip diğer besin mineralleri arasındaki absorpsiyon bölgeleri için rekabetten oluşur (Hasan *et al.*2009).Cd kök içerisine genellikle H^+ karşılığında plazma zarındaki epidermal tabakada; pasif taşıma dahil olmak üzere mineral besinler, spesifik iyon taşıyıcılar ve şelat formundaki spesifik proteinler yoluyla girer (Sadana *et al.*2003; Curie *et al.*2009; Yamaguchi *et al.*2011).Thévenodand Lee (2013) tarafından yapılan çalışmada; Cd, bitkilerde

sırasıyla Ca ve K seviyeleri üzerindeki antagonistik etkisine yanıt olarak sinyal iletiminde ve stoma gaz değişiminde düzensizliklere neden olduğu bildirilmiştir. Cd ile Fe arasında antagonistik bir etki olduğundan ötürü bitkinin beslenme ortamında Cd bulunması halinde Fe'nin taşınımı önemli ölçüde azalmakta ve sürgünlerde Fe eksikliği oluşmaktadır (Siedlecka and Krupa 1999). Hıyar (*Cucumis sativus* L.), mısır (*Zea mays* L.), domates (*Lycopersicon esculentum* L.) ve marulda (*Lactuca sativa* L.) Mg, Ca ve K konsantrasyonları toprakta yüksek Cd seviyeleri nedeniyle azalmıştır (Nazar *et al.*2012). Stresli koşullar altında, temel elementlerin absorpsiyonundaki inhibisyon, köklerden besin elementi alımında Cd ile besin elementleri arasındaki rekabete dayandırılabilir (Rizwan *et al.*2016; Ertani *et al.*2017).

Cd giriş için rekabet etmenin yanı sıra, besin taşınımı ile ilgili olan çok sayıda taşıyıcı üzerinde olumsuz etki yaparak ve engelleyerek bitkinin toprak üstü kısımlarına besin taşınımı geciktirir (Wang *et al.* 2016a; Wang *et al.* 2016ab; Sarwar *et al.* 2017; Mitani-Ueno *et al.* 2018; Naeem *et al.* 2019). Astolfi *et al.* (2005) bildirdiğine göre; Cd, H⁺ ATPaz aktivitesinde azalmaya neden olur ve bazı temel elementlerin emilimini engelleyebilir. Buna ek olarak spesifik taşıyıcı gen ekspresyonuna müdahale eder (Migocka and Klobus 2007) ve köklerden mineral besinlerin akışını geciktirir (Kováčik *et al.*2006).

1.4.5. Kadmiyum reaktif oksijen türleriyle (ROT) ilişkisi

Bitkilerde artan reaktif oksijen türleri (ROT) baskılanmış antioksidan sistem ve redoks dengesizliği nedeniyle oksidatif bozulmaya ve lipid peroksidasyonuna neden olur (Andresen and Küpper 2013; Ehsan *et al.* 2014; Petrov *et al.* 2015; Younis *et al.*2016; Abbas *et al.* 2017; Gutsch *et al.* 2019).

Kadmiyum, yüksek hareketliliği ve suda çözünürlüğü nedeniyle nispeten düşük konsantrasyonda bile hücrelere ulaşarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini hızlandırır (Gao *et al.* 2018). Ayrıca kadmiyum, süperoksit radikali (O₂⁻), singlet oksijen (¹O₂), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikallerin (OH[•]) artışıyla lipid peroksidasyonu tetikleyerek hücre ölümüne, proteinlerin oksidasyonuna, DNA'ya zarar verebilecek reaktif oksijen türlerinin birikimini ve/veya sentezini artırır (Gichner *et al.* 2004; Kim *et al.* 2009). Bir dizi çalışma Cd

toksisitesinin, ROT artışına ve yüksek lipid peroksidasyonuna neden olduğu bildirmiştir (Bashir *et al.* 2018; Baruah *et al.* 2019; Zhang *et al.* 2019; Farooq *et al.* 2020; Hussain *et al.* 2021a; Hussain *et al.* 2021b).

Lipid peroksidasyonu, Cd stresi altındaki bitkilerde biyomembranın parçalanması nihayetinde gliksizomlar, peroksizomlar, mitokondri ve kloroplast gibi hücredeki hayati organellerin yapılarında fizyolojik işlev bozukluğuna yol açar (Keunen *et al.* 2011; Andresen and Küpper 2013; Liptáková *et al.* 2013). Cd protein sentezini azaltır ve hücre ölümünü indükler (Abbas *et al.* 2017; Shen *et al.* 2017). Cd toksisitesi altındaki bitkideki meydana gelen oksidatif stres; protein oksidasyonu, enzim inhibisyonu, iyonik sızıntı ve DNA'nın yanı sıra RNA yıkımı gibi önemli yapısal hasarlara neden olması sonucu, hücresel organellerin aktivitelerinin engellenmesine ve bitkinin ölümüne yol açar (Gonçalves *et al.* 2007; Shahid *et al.* 2014b; Gratao *et al.* 2015).

Ayrıca Cd, bitkilerde temel ROT üreten noktalar olarak kabul edilen peroksizomlar, kloroplastlar ve mitokondri gibi ultraselüler bileşenleri bozarak dolaylı olarak ROT üretimini artırır (Pietrini *et al.* 2003; Lushchak 2011). Cd'nin potansiyel hedef bölgeleri; sistein kalıntıları, Fe-S kümeleri, iki değerlikli metaller için tiyol ve bağlanma bölgeleri, elektron taşıma zinciri inhibisyonu, proton hareket kuvveti dağılımı ve hücre işlev bozukluğudur (Kurochkin *et al.* 2011). Heyno *et al.* (2008), mitokondriyal elektron taşıma sisteminin tıkanması ile serbest radikalleri indüklemek Cd'nin başlıca etkileridir. Ek olarak, mitokondriyal elektron taşıma zincirlerinin yanı sıra fotosentezde görev alan metalloproteinlerin bozulması da Cd stresine altındaki bitkilerde ROT'un indüklemekle sorumludur (Belyaeva *et al.* 2012; Parmar *et al.* 2013).

Reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini onarmak için bitkiler, enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemi dahil olmak üzere antioksidan savunma sisteminden yararlanırlar (Gill and Tuteja 2010). Kadmiyum tarafından indüklenen ROT üretimi, süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan savunma sisteminin enzimleri ve ayrıca bitkilerde stresli ortamlarda üretilen ROT'u süpürmekten sorumlu olan askorbat, α tokoferol, glutatyon ve karotenoidler gibi bazı

enzimatik olmayan söndürücülerin etkisiyle temizlenir (Wu *et al.* 2007). Stres koşullarının zararlı etkilerini hafifletmede farklı antioksidanların rolünü değerlendirmek için birçok çalışma yapılmıştır. Örneğin, SOD enziminin aktivasyonu, hücresel düzeyde savunmanın birincil adımı olarak kabul edilir (Noctor and Foyer 1998). Ayrıca, H₂O₂'yi söndürmede CAT ve APX'in süpürücü etkileri de ortaya konulmuştur (Mobin and Khan 2007; Khaliq *et al.*2015).

Kadmiyum, oksidatif savunma sisteminde yer alan antioksidan enzimlerin (süperoksitdismutaz, guaiakol peroksidaz, askorbat peroksidaz, katalaz ve glutatyon redüktaz) aktivitelerini etkiler (Gill *et al.* 2011). Örneğin, Cuypers *et al.*(2011), Cd'nin Karboksil (-COOH) tiyol (-SH) için yüksek afinitesinin ve antioksidan enzimler üzerindeki histidil gruplarının, ROT dengesinin parçalanmasıyla sonuçlanan antioksidan savunma sistemini etkisiz hale getirme eğiliminde olduğu için oksidatif stresten sorumlu olduğunu bildirmiştir (Sebastian and Prasad 2013). Sitozolde Cd, lipoksijenaz veya ROT oluşumunda görev yapan linolenik asitlerin hücresel salınımını sağlayan fosfolipazları aktive eder (Belkadhi *et al.*2015).

Ali *et al.* (2013), Cd stresi kolza tohumu bitkilerinde morfolojik olarak bozulmuş mitokondri, hücre duvarlarının çatlamış ve hücrelerin plazmoliz olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer sonuçlar pamukta da (*Gossypium hirsutum* L.), (Daud *et al.*2009) ve *Sedum alfredii*'de (Jin *et al.*2008) belirlenmiştir. Ayrıca Cd'nin, peroksizom yaşlanmasına neden olduğu ve bunun glioksizomlarda metabolik değişikliğe yol açtığı bildirilmektedir (McCarthy *et al.*2001).Cd toksisitesinin bitkilerde oluşturduğu oksidatif stres nedeniyle membran geçirgenliğinde bozulur ve buna bağlı olarak bodur büyümeye görülebilir (Mahmood *et al.* 2009).

1.4.6. Kadmiyumun enzimler üzerindeki etkisi

Kadmiyum, sülfanil fonksiyonel grubu (-SH) ile aşırı bağlanma afinitesi ve Zn, Mg ve Ca dahil olmak üzere enzim aktive edici katyonların yerini alma rekabeti nedeniyle bitkilerdeki çok sayıda temel enzimin fonksiyonel yetenekleri üzerinde belirgin bir inhibisyon etkiye sahiptir (Cuypers *et al.*2011; Pourrut *et al.*2011; Gupta *et al.*2019). Köklerde, elektrokimyasal gradyanı koruyan, besin alımı ve taşınması için itici güç sağlayarak bir proton pompası gibi davranan plazmalemma ile ilişkili

H⁺ATPase ile Cd'in etkileştiği, dolayısıyla kökün iyon alımının metabolizasının bozulmasına neden olduğu bildirilmiştir (Astolf *et al.* 2005; Falhof *et al.* 2016).

Skrebsky *et al.* (2008), Cd'nin, fotosentetik pigmentlerin korunmasında ve biyosentezinde yer alan enzimlerinden asit fosfataz (ACP) ve δ -aminolevulinik asit dehidrataz (ALA-D) aktiviteleri üzerindeki etkisini incelemiştir. Kadmiyum, 80 μ M Cd konsantrasyonunda ALA-D aktivitesini %89 oranında durdurmuştur. Bununla birlikte, sırasıyla sürgünde ve kökte ACP'de %23'e ve %30'a varan inhibisyon gözlemlendi; bu durum, PO_4^{3-} bağlama bölgeleriyle Cd etkileşimi veya ACP'yi aktive eden Ca^{2+} ve Mg^{2+} iyonlarının değiştirilmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir.

Fide büyümesini kolaylaştıran enzimler, Cd kaynaklı stres altında potansiyel olarak inaktif edilir (Yan *et al.* 2014). Cd 'ye maruz kalan arpa tohumlarının endospermdeki şeker rezervlerinin mobilizasyonunu katalize eden proteazlar ve α -amilazlar ile asit fosfatazların (ACP) ciddi şekilde inhibe oldukları saptanmıştır (Kalai *et al.* 2014). Pirinç bitkisinde protein substratlarını hidrolize ederek metabolik aktivitelerde yer alan pirinçte proteolitik enzimlerde Cd değişikliği yol açtığı bildirilmiştir. Yine bu çalışmada lösin amino peptidazda %50'ye kadar inaktivasyon gözlemlenmiştir; buna karşılık, sırasıyla lösin ve arginin'in lizin substratlarına hidrolizini katalize eden karboksipeptidaz aktivitesinde artış kaydedilmiştir (Salas *et al.* 2018).

Cd ayrıca sürgünlerdeki nitrat redüktaz aktivitesini inhibe ederek nitratin (azot) emilimini ve köklerden sürgünlere taşınmasını azalttığı bildirilmiştir (Hernandez *et al.* 1996; Tran and Popova 2013; Chang *et al.* 2013). Cd'nin, maş fasulyesi ve nohut gibi çeşitli bitki türlerinde, azot fiksasyonunda hayati bir rol oynayan nitrojenaz aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Ouariti *et al.* 1997; Chiraz *et al.* 2003; Wahid *et al.* 2007; Hasan *et al.* 2008). Ayrıca, bitki NH_4^+ asimilasyonunda yer alan diğer bazı enzimlerin aktiviteleri de Cd'ye maruz kaldığında engellenir ve bu da Azot eksikliğine neden olur (Sánchez-Pardo *et al.* 2013).

1.4.7. Kadmiyumun'nun insanlar ve hayvanlar üzerindeki toksik etkileri

Kadmiyum çevreye salınması ile direk temas veya yutulma yoluyla insan bünyesine alınabilir (Sovet 1858). Fakat kadmiyum bitkiler tarafında alınıp depo

edilebildiği (Anjum *et al.*2016) için bitkiler vasıtasıyla besin zincirine karışabilir (van Assche 1998). Bundan dolayı çalışmamızda kadmiyumun insan ve hayvan sağlığı üzerine etkisine de değindik. Cd'nin insan sağlığı üzerindeki toksik etkileri ilk olarak 1858'de Sovet'in Cd içeren cilalarla çalışan ve bu ajanları çalışırken soluyan veya yutan kişilerde solunum ve gastrointestinal hastalıklar meydana geldiğini bildirmesiyle ortaya çıkmıştır (Sovet 1858). Hayvanlarda Cd'nin etkileri üzerine ilk deneyler Alsberg and Schwartz (1919) tarafından yapılmıştır. Kuşlar ve köpekler de dahil olmak üzere çeşitli omurgalıların organlarında çeşitli klinik belirtiler ve morfolojik değişiklikler bildirilmiş ve Cd zehirlenmesinin böbrek, kemik ve akciğer hasarına yol açabileceği belirtilmiştir. Daha sonra Prodan (1932), Cd'ye maruz kalan kedilerde ve insanlarda akciğerler, karaciğer ve böbreklerde hasarlar olduğunu bildirmiştir.

Cd'nin insan vücuduna girişi sindirim veya soluma yoluyla olur. Alınan Cd'nin %98'inin karasal gıdalardan, yalnızca %1'inin balık ve kabuklu deniz ürünleri gibi sucul gıdalardan ve %1'inin içme suyundaki Cd'den geldiği tahmin edilmektedir (van Assche 1998). Kadmiyumun ağız yoluyla akut olarak maruz kalmanın, başlıca etkileri mide bulantısı, kusma, karın krampları ve ishal gibi mide-bağırsak rahatsızlıklarıdır. Solunum yoluyla akut zehirlenme, şiddetli bronşiyal ve pulmoner tahriş, akciğer amfizemi gibi solunum belirtilerine yol açabilir ve en şiddetli durumlarda ölüm bile meydana gelebilir (Lauwerys 1986).

Bir İnsanın günlük diyetinde kabul edilebilir maksimum Cd miktarı 60-70 µg'dir (Chunhabundit 2016). Bu seviyenin üstündeki Cd, solunum ve kemik bozuklukları, diyabet, hipertansiyon (Ueno *et al.* 2010) ile ilişkili olduğu ve akciğerler, böbrekler ve karaciğer gibi organlarda aşırı hasara neden olarak ortaya çıkan malignite tehlikesine neden olduğu bildirilmektedir (Shahid *et al.*2014a; Baldantoni *et al.*2016).

1.4.8. Kadmiyumun bitkilerdeki toksik etkilerini hafifletmek için yapılan çalışmalar

Cd'nin bitkilerdeki olumsuz etkilerini azaltmak için çok sayıda yapılmıştır. Bunlar arasında, toprağa biyokömür eklenmesi (Abbas *et al.*2017; Rizwan *et al.* 2018), toprak nemi yönetimi (Huang *et al.*2018) ve farklı kimyasalların uygulaması

(Asgher *et al.* 2015; Gondor *et al.* 2016; Adhikari *et al.* 2018; Gao *et al.* 2018; Lu *et al.* 2018), gibi kapsamlı araştırmalar yapılmıştır.

Son zamanlarda, artan sayıda alışma, Cd stresine bitki tepkilerinde çeşitli fitohormonların katılımlarını ortaya koymuştur (Sneideris *et al.* 2015). Domateste, Cd kaynaklı oksidatif stresin ve fotosentetik inhibisyonun hafifletilmesinde brassinosteroidlerin rolü de ortaya konmuştur (Hayat and Hasan 2011). Salisilik asit (SA) (Gondor 2016; Lu *et al.* 2018), absisik asit (ABA) (Shen *et al.* 2017; Zhang *et al.* 2019), silikon (Si) gibi eksojen kimyasal düzenleyicilerin uygulanması (Vaculik *et al.* 2015), selenyum (Se) (Gao *et al.* 2018), sülfat (Adhikari *et al.* 2018; Han *et al.* 2018) ve nitrik oksit (NO) (Ahmad *et al.* 2018), element veya bileşiklerin uygulanması bitkilerde Cd birikimini hafifletmek için yapılan çalışmalar arasındadır.

Cd kaynaklı endojen salisilik asit, bitki glutatyon sentezindeki hız sınırlayıcı adımı düzenleyerek Cd stresine toleransı arttırdığı rapor edilmiştir (Guan *et al.* 2015). Abiyotik streslere karşı bitki tepkilerinde yer alan önemli bir fitohormon olan giberellik asit (GA), *Arabidopsis*'te Cd'ye bağlı NO birikimini ve Cd²⁺ alımıyla ilgili gen ekspresyonunu azaltarak Cd toksisitesini hafifletirken, eksojen metil jasmonat, *Kandelia obovata* fidelerinin toprak üstü kısmına Cd alımını engeller (Zhu *et al.* 2012; Chen *et al.* 2014). Etilen, oklu bitki proseslerinin düzenleyicisidir ve Cd, esas olarak artan ACS2 ve ACS6 ekspresyonu yoluyla *Arabidopsis*'te etilenin biyosentezini indükler (Schelling *et al.* 2014). Dahası, çeşitli bitki türlerinde oksin ve Cd stresi arasında yakın bir ilişki rapor edilmiştir. Arpada, Cd kaynaklı hafif oksidatif stres, kök ucundaki IAA sinyalini düzenleyerek kök büyümesinin inhibisyonuna neden olur (Tamas *et al.* 2012). Pirinçte, oksin sinyal modifikasyonu, Cd stresi altında hücre döngüsü genlerinin ekspresyonunda önemli bir rol oynar (Zhao *et al.* 2012). Kavakta, Cd stresi, GH3 enzimlerinin aktivitelerinde artışları tetikleyerek oksin fizyolojisine ve lignifikasyonlara müdahale eder (Elobeid *et al.* 2012). Mısırdaki, GH3 genlerinin ekspresyonu ile Cd tedavisi de dahil olmak üzere çeşitli abiyotik streslere yanıt verilir. Cd stresi, mısır köklerinde Cd ve GH3 aracılı oksin seviyeleri arasında bir etkileşim sonucu serbest IAA içeriğini baskılar (Feng *et al.* 2015).

1.4.9. Kadmiyumun mısır bitkisi üzerine etkisi

Mısır köklerinde Zn fitometallofor kompleksleri kolayca emilirken, köklerin plazma membranındaki bağlanma bölgeleri, çeşitli metallerin (yani kökte Cd) taşınmasını sağlayan Fe fitometalloforlar için özel olarak özelleştirilmemiştir (Pandey *et al.* 2008). Anjum *et al.* (2016) tarafından yapılan bir çalışmada Cd uygulaması ile mısır bitkisinin yenilebilir kısımlarında Cd önemli ölçüde artmış ve tane veriminin azaldığı bildirilmiştir. Mısır tanelerinde Cd'nin toksik birikiminin kök alımı yoluyla baskın olduğunu ve Cd ile kirlenmiş topraklarda sürgünlere ve daha sonra tohumlara taşındığını ortaya konulmuştur (Vaculík *et al.* 2015). Tarım arazisi topraklarında Cd kirliliği mısırın büyümesini, tane verimini ve kalitesini azaltır (Vaculík *et al.* 2015; Adhikari *et al.* 2018).

1.5. Taurin

Taurin (2-aminoetansülfonik asit; $C_2H_7NO_3S$), kükürt (tiyol grubu) içeren, metiyonin ve sistein metabolizmasından türeyen, 125,14 g/mol molekül ağırlığında, renksiz, suda çözünebilen, yarı esansiyel bir beta amino asittir. Diğer amino asitlerden farkı; yapısında karboksil grubu (-COOH) yerine sülfonik asit grubu (-SO₃H) bulunur. Taurin hem pozitif hem de negatif yük içerdiği için nötral bir moleküldür (Huxtable 1992; Jacobsen and Smith 1968; Moyer *et al.* 1988; Kendler 1989; O'Flaherty *et al.* 1997; Eppler and Dawson 1998).

Taurindeki amino grubu, Taurinin β karbonunda bulunduğu için taurin bir β aminoasittir (Eppler and Dawson 1998). Sülfonat grubu nedeniyle de güçlü asidik özellik gösterir (Sturman *et al.* 1975; Huxtable 1992). Memeli dokularında proteinlerle birleşmez veya parçalanmaz. Bununla birlikte, hayvan türlerine bağlı olarak tüm amino asit havuzunun %30-50'sini oluşturduğu için hayvan dokusundaki en bol serbest amino asittir (Jacobsen and Smith 1968; Kuzmina *et al.* 2010). Taurin, memelilerde: antioksidasyon ve detoksifikasyon, immün yanıtın modülasyonu, kalsiyum taşınımı, miyokard kontraktilesi, retina gelişimini, safra asit metabolizması, ozmotik regülasyon ve endokrin fonksiyonları gibi birçok biyolojik fonksiyona katılır (Thurston *et al.* 1980; Hofmann and Small 1967; Lourenco and Camilo 2002; Kuzmina *et al.* 2010). Taurin, Leopold Gmelin ve Friedrich Tiedemann tarafından ilk defa 1827'de öküz safrasından elde edilmiş ve öküz

anlamına gelen taurus adını vermiştir. Bugünkü kullanılan adı Von H. Demarcay tarafından verilmiştir (Demarcay 1838).

1.5.1. Taurinin biyosentezi

Taurin, piridoksin (vitamin B6) varlığında metionin ve sisteinde novo sentez yoluyla son ürün olarak oluşmaktadır. Sisteindentaurin sentezinde, öncellikle sistein, sistein sülfonik aside (sisteinsülfinat) oksitlenir ve sisteinsülfinat da dekarboksilasyon ile hipotaurine dönüşür. Son aşamada ise, hipotaurin dehidrojenaz enzimi aracılığıyla taurini oluşturur (Wright *et al.*1986; Tappaz 2004)

1.5.2. Taurinin organizmalardaki işlevleri

Taurinin detoksifikasyon, ozmoregülasyon, Ca^{+2} akışını düzenlemenin yanı sıra membran stabilizasyonu, nöronal uyarılabilme regülasyonu ve sinaptik aktivite gibi birçok biyokimyasal ve fizyolojik olaylarda rol aldığı ileri sürülmüştür (Hayes 1976; Pasantes-Morales *et al.* 1985; Kendler 1989). Taurinin, antioksidan kapasitesi ile ilgili çalışmalarda hücre koruyucu ve hücre ölümünü azaltıcı gibi hayati öneme sahip biyolojik aktivitesi olduğu gözlenmiştir (Dasand Sil, 2012, Perfeito *et al.* 2012).

Taurin, bir amino grubu ve bir sülfonat grubuna sahip özel bir amino asittir. Bu fonksiyonel gruplar, ağır metallere bağlanabilir ve daha sonra bu tür bileşiklerin atılımını uyarabilir. Taurinin serbest radikal üretimini doğrudan azalttığına dair bir kanıt yoktur, ancak daha sonra emilmeyen veya daha hızlı atılan kadmiyumu bağlayarak iyi çalışabilir. Başka bir deyişle, kadmiyumun genel biyoyararlanımını veya emilen kadmiyumun hücre içi kullanılabilirliğini azaltarak etki edebilir (Hwang and Wang 2001)

1.5.3. Bitkilerde Taurin ile yapılmış çalışmalar

Bitkilerde üzerinde taurinle yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bununla birlikte yapılan çalışmalar şunlardır; Lee (2015) tarafından bitki doku kültüründe domates bitkisiyle yapılan bir çalışmada: streskoşulları altındaki bitkilere direnç kazandırmak için taurin kullanımını konu alan kontrollü deneysel bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmada stres kaynaklı eksplantlarda, kallus ve filiz gelişimi önemli ölçüde gecikmiştir. Ancak taurin içeren kültür ortamındaki filizler, taurin içermeyen

kontrole kıyasla stresden daha az etkilenmiştir. Bunun yanı sıra Taurin bitki yaş ağırlığını kontrole kıyasla artırmıştır.

Yapılan başka bir çalışmada, taurinin buğday bitkisinde taurin uygulanmasıyla fidelerin kök uzunluğu, bitki boyu, kuru ve taze ağırlıkta artış yanı sıra yapraktaki fotokimya veriminde artış, göreceli zar geçirgenliği ve zar lipid peroksidasyon ürünü MDA içeriğinde azalma tespit edilmiştir; bu şekilde taurinin bitki üzerinde koruyucu etkiler gösterdiği düşünülmüştür (Hao *et al.* 2004).

1.5.4. Taurinin dokulardaki dağılımı ve miktarı

Taurinkonsantrasyonları genelde katı hücre duvarlarına sahip olmayan türlerde yüksek bulunurken; bitkiler gibi katı hücre duvarlarına sahip türlerde düşük ya da bulunmamaktadır (Huxtable 1992). Taurin bazı alg, mantar ve kara ve deniz yosunlarında tespit edilmiş olup tohumlu bitkilerde tespit edilmemiştir (Kataoka *et al.* 1986).

Taurin hayvanların neredeyse organların tamamında bulunur (Jacobsen and Smith 1968). Bu serbest amino asit hayvanlarda: normal retina ve miyokardiyal fonksiyonun sürdürülmesi, safra asitlerinin konjugasyonu, osmoregülasyon ve hücrelerdeki kalsiyum akışının modülasyonunun yanı sıra üreme ve bağışıklık sistemi dahil pek çok fizyolojik süreçlerde rol oynar (Huxtable 1992; Sanderson 2006).

Taurin hücrelerde, protein ve peptitlere bağlı olarak bulunmadığı için proteinlerin yıkımı taurinin hücre içi derişimini değiştirmez. Ancak hücre membranının zarar görmesi sonucu taurinin hücre içi miktarını değiştirebilir (Chesney 1985).

1.5.5. Taurinin Ca⁺² üzerine metabolik etkileri

Taurin, özellikle kalsiyum (Ca⁺²) için membran fonksiyonlarının düzenlenmesine izin verir. Taurin düşük Ca⁺² şartlarında kalsiyum biyoyararlanımını arttırarak veya Ca⁺²'nin yüksek olduğu durumlarda biyoyararlanımı azaltarak Ca⁺²yüküne karşı hücreleri koruyarak çift yönlü etki gösterir (Huxtable 1992) . Bunu membran fonksiyonlarındaki değişikliklerle düzenler. Çift katlı lipit yapısındaki

membranlarda asidik fosfolipitler, Ca^{+2} için önemli bağlanma bölgeleridir. Taurin ile fosfatidilkolin ve fosfatidiletanolamin gibi membran fosfolipitleri arasında iyonik, sterik ve elektronik benzerlik ilişkiler olduğu ileri sürülmüştür (Sturman *et al.* 1975; Pasant-Morales *et al.* 1985). Taurin iyon çifti oluşturarak fosfolipitlerin baş gruplarının arasına girer ve membran konformasyonunda değişiklik meydana getirir dolayısıyla katyon bağlama bölgelerinin sayısını ve afinitesini etkiler. Böylece taurin Ca^{+2} nin kanala verilmesini sağlayarak kanal açma veya kapama hareketini değiştirir (Sturman 1988; Trachtman *et al.* 1988; Huxtable 1992).

Taurin sarkoplazmik retikulum, mitokondri ve diğer organellerin gibi sistemlerin, kalsiyum depolama kapasitesini arttırması yanı sıra Ca^{+2} ile aktive olan ATPaz pompalarının pompalama hızını uyarır (Huxtable 1992). Taurin, bir anyon varlığında, sarkoplazmik retikulumun Ca^{+2} yi depolama kapasitesini arttırır ve Ca^{+2} -ATPaz pompalarını sitümüle eder. Taurin Ca^{+2} nin plazma membranına yüksek afinite ile bağlanmasını modifiye ederek afiniteyi arttırır ancak bağlama kapasitesini azaltır. Ayrıca Ca^{+2} nin zar boyunca pasif difüzyonunu azaltır ve Ca^{+2} kanal aktivitesini modüle eder (Huxtable 1992).

1.5.6. Taurinin antioksidan rolü

Çeşitli antioksidanlar, oksidan kaynaklı hücre hasarının önlenmesinde ve başta lipidler, proteinler ve DNA gibi yüksek moleküler bileşiklerin oksidatif modifikasyonunun azaltılmasında rol oynar. Antioksidanlar üç mekanizmadan birine etki eder: (1) ROT üretimini azaltılması, (2) ROT'un nötrleştirilmesi ve (3) ROT'un etkisine müdahale edilmesi (Schaffer 2009).

Taurin bu üç mekanizma ile ROT'un etkisini azalttığı yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalarda tiyol içeren bazı bileşiklerin antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında, daha indirgeyici özelliği olan bileşiklerin daha güçlü antioksidanlar olduğu tespit edilmiştir. Tiyol içeren antioksidan etkili bileşiklerin, hem moleküldeki tiyol sayısı hem de kükürt atomlarının oksidasyon durumu bu bileşiklerin antioksidan etki ve aktivitesinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Nakagawa and Kuriyama 1975). Taurinin, özellikle yüksek oksidan seviyelerine maruz kalan dokularda, diğer dokulara göre daha çok bulunması onun oksidatif stresin azaltılmasındaki rolünü düşündürür (Oliveira *et al.* 2010). Karafakıoğlu (2010)

taurinin hücre membranlarının stabilizasyona destek olması, oksidan-antioksidan dengeyi sağlaması ve hücre bütünlüğünü koruması özelliği ile bir antioksidan olarak nitelendirmiştir. Taurin elektron transfer zincirini stabilize ederek mitokondriyal fonksiyonları güçlendirmektedir ve reaktif oksijen türlerinin üretimini inhibe etmektedir (Jong *et al.* 2012). Antioksidan aktivite ve apoptozun yavaşlaması ve hücre zarının stabilizasyonunda Taurinin hücre koruyucu etkisi açısından çok önemlidir (Pasantes-Morales *et al.* 1985; Marcinkiewicz and Kontny 2014). Taurin, membran fosfolipitleriyle etkileşime girerek lipid peroksidasyonunu önleme yeteneği sayesinde doymamış membran lipidlerinden MDA oluşum hızını azaltarak, hücreleri oksidatif hasara karşı korunmasında etkili olmaktadır (Huxtable 1992).

1.5.7. Taurinin enzimlerin katalitik aktivitesine etkisi

Doğada, bir enzimin katalitik aktivitesi, aktif bölgesinde özel olarak bulunan belirli kalıntıların çözülerek genel protein topolojisi ile elde edilir ve düzenlenir. Başka bir deyişle, katalitik aktivite, polipeptit zincirlerinin belirli çevresel koşullar altında tanımlanmış üç boyutlu yapılara uygun şekilde katlanmasına bağlıdır (Mikolajczak *et al.* 2017).

Enzimlerin katalitik aktiviteleri; membranlara yerleştirme, protein partnerleriyle etkileşim, kimyasal modifikasyon, deterjanların etkisi ve allosterik mekanizmalar gibi farklı mekanizmalarla düzenlenebilir (Shumyantseva *et al.* 2015).

Shumyantseva *et al.* (2015) yaptığı bir çalışmada; biyolojik olarak aktif taurinin, Sitokrom P450 3A4'ün (CYP3A4) katalitik aktivitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. CYP3A4, ilaç metabolizmasının birinci fazına katılarak hem endojen hem de eksojen bileşiklerin oksidasyon/hidroksilasyonu sağlayan en önemli katalizördür. Taurin rifampisin varlığında sitokrom CYP3A4'ü kodlayan mRNA'nın indüksiyonunu düzenleyen bir nöromodülatör olarak işlev görmüştür. Taurin CYP3A4 enziminin itrakonazol ile uyarılmış inhibisyonunu zayıflatarak koruyucu etki göstermiştir. Reaktif oksijen türleri CYP3A4'ün katalitik aktivitesini kısmen inaktive etmiştir. Antioksidanlar ROT'u nötralize eder ve sitokrom P450 izoenzimlerini korur. Taurin varlığında katalitik aktivedeki artışı taurinin antioksidan özellikleri ile açıklamışlardır (Shumyantseva *et al.* 2015).

1.6. Mısır'ın Üretim Açısından Önemi ve Besin Değeri

Mısır (*Zea mays* L.), dünyanın tropik ve subtropikal bölgeleri için uygun bir mahsuldür. Mısır, stresli koşullar altında azalan üretkenlikten sorumlu fizyolojik değişiklikleri incelemek için mükemmel bir model bitki olabilir (Anjum *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2019). Şu anda dünya çapında yaygın olarak yetiştirilmekte olan mısır, küresel gıda sistemi için temeldir ve verim artışı büyük öneme sahiptir. Mısır gıda, yem ve endüstriyel hammaddelerin vazgeçilmez kaynağı haline gelmiştir (Baggiari *et al.* 2009). Pirinç ve buğdaydan sonra en önemli üçüncü tahıl mahsulü olan mısır (*Zea mays* L.), Çin ve Amerika olmak dünya çapında yaygın olarak yetiştirilmektedir (Anjum *et al.* 2015; Zhang *et al.* 2019). Zengin bir besin kaynağı (%72 nişasta, %10 protein, %8.5 lif ve %4.8 yemeklik yağ) olan mısır, tüm dünyada önemli bir gıda, şeker, yemeklik yağ ve hayvan yemi kaynağıdır (Dowswell *et al.* 1996).

Şu ana kadar verilen bilgiler göstermektedir ki; ağır metal kirliliği dünya üzerindeki tarımsal alanların verim kapasitesini ciddi anlamda etkilemektedir. Bu ağır metaller arasında kadmiyum da küresel sanayileşme ve çeşitli faktörlerin etkisiyle tarımsal üretim ve gıda arzı için ciddi tehdit unsuru haline gelmiştir. Ağır metallerin toksik etkilerini hafifletmek için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bunlar arasında bitkilerin antioksidan kapasitesi artıran maddelerin bitkilere uygulanması ve bu yolla strese faktörlerine karşı bitki toleransının artırılması önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada da daha önce kadmiyum toksisitesine karşı kullanılmamış olan taurinin kadmiyuma maruz bırakılan mısır fidelerinin gelişimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarının bu anlamda bilime yeni bilgiler katacağı düşünülmektedir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Serbest Radikaller

Son yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan veya yüksek enerjili atom veya moleküller serbest radikaller olarak tanımlanmaktadır (Bast *et al.* 1991; Halliwell and Gutteridge, 1985; WW 1996). Bu eşlenmemiş elektronlarından dolayı diğer maddelerle kolaylıkla reaksiyona girebilirler (Karabulut ve Gülay 2016). Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilir. Oksijen kaynaklı olanlar Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve nitrojen kaynaklı olanlar Reaktif Nitrojen Türleri (RNT) olarak isimlendirilir (Halliwell and Gutteridge 1999; Valko *et al.* 2007).

2.1.1. Reaktif Oksijen Türleri

ROT, bitkide solunum ve fotosentez metabolizması gibi birçok anabolik ve katabolik reaksiyonlarında moleküler düzeyde elektron kaçışlarından yan ürün olarak üretildiği kabul edilir. Kloroplastlar, mitokondri ve peroksisom gibi bazı hücresel bölümlerde üretilir (Ron 2017; Dietz *et al.* 2016; Huang *et al.* 2016; Sandalio and Romero-Puertas 2015). ROT hücrede DNA hasarından hücre ölümüne kadar hasarlara yol açabilirken diğer taraftan bitki büyümesini ve stres tepkileri düzenleyen önemli sinyal molekülleri olarak işlev görebilirler. ROT'un iki farklı etkisi onların hücre içindeki miktarlarına, üretim alanlarına ve biyolojik membranları geçme potansiyeline bağlıdır (Miller *et al.* 2010).

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Oksijen molekülüne bir elektron ilave olarak süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) oluşur (Miller *et al.* 1990). Serbest radikal olmasına rağmen yüksek derecede reaktif değildir. Süperoksit'in üretimi çoğunlukla hücrenin mitokondrisi içinde gerçekleşir (Cadenas and Sies 1998). Normalde oksijenin suya dönüştürülmesi gerekirken, toplam elektronların % 1-3'ü $O_2^{\cdot-}$ oluşturmak üzere sızdığı submitokondriyel parçacıklar üzerindeki ölçümlerde gösterilmektedir. Süperoksit radikali, elektron transport sisteminde hem kompleks I hem de kompleks II'te üretilir ve anyonik forma dönüştüğünde mitokondrinin iç membranından kolaylıkla geçer. Genellikle üretilen ilk ROT olduğu bilinen $O_2^{\cdot-}$ oluşumu, $OH^{\cdot}$ ve $^1O_2$ oluşumunu tetikleyebilir

(Eltner 1987; Halliwell 2006). Süperoksit radikali, demire (Fe^{3+}) bir elektron vererek indirgenmiş bir demir formu (Fe^{2+}) oluşturabilir bu da daha sonra H_2O_2 yi indirgeyebilir. $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve demirin hızla $\text{OH}^{\cdot}$ oluşturduğu reaksiyonlara Haber-Weiss reaksiyonu denir, Fe^{2+} 'nin H_2O_2 tarafından oksidasyonunu içeren adım ise Fenton reaksiyonu olarak adlandırılır.

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Orta derecede reaktif olan H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\text{OH}^{\cdot}$ ve $^1\text{O}_2$ gibi diğer ROTlar ortalama 2-4 μs gibi kısa yarı ömre sahipken H_2O_2 nispeten uzun yarılanma ömrüne (1 ms) sahiptir (Bhattacharjee 2005). SOD tarafından $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin katalizlenmesi ile H_2O_2 oluşur (Asada *et al.* 1974). Bitkilerde düşük konsantrasyonlarda çeşitli biyotik ve abiyotik stres formlarına adaptasyonda rol oynayan bir sinyal molekülü olarak görev alır. Fakat yüksek konsantrasyonlarda oksidatif strese neden olarak bitkilerde H_2O_2 ikili bir rol oynar (Quan *et al.* 2008). H_2O_2 'nin bitkide; yaşlanma (Peng *et al.* 2005), hücre döngüsüne (Mittler *et al.* 2004), fotorespirasyon ve fotosenteze (Noctor and Foyer 1998), stomatal hareketlere (Bright *et al.* 2006), büyüme ve gelişmesine (Foreman *et al.* 2003) etki ederek birçok fizyolojik süreçlerde sinyal molekülü olarak düzenleyici görevi olduğu da yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Yüksek konsantrasyonda H_2O_2 , tiyol gruplarını oksitleyerek enzimleri inaktive edebilir, DNA kırılmalarına, protein denatürasyonlarına neden olur.

Nonradikal bir bileşik olan H_2O_2 yüksüz bir moleküldür; difüzyonla yer değiştirebilir. H_2O_2 nin oksitleyici olarak bilinmesinin sebebidemir ve bakır gibi metal iyonlarının varlığında ROT'lar içinde en tehlikeli olan hidroksil radikalinin ($\text{OH}^{\cdot}$) öncülü olmasıdır (Eltner 1991). H_2O_2 Fe ile tepkimeye girip yüksek oksidasyon özelliğine sahip demir reaktiflerini oluşturabilir. Demirin bu çok güçlü oksitleyici formu hücrenin zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. H_2O_2 'nin oksitleyici özelliği nedeniyle, biyolojik sistemlerde H_2O_2 seviyesi kontrol altında tutulmalıdır ve H_2O_2 yüksek seviyelere ulaştığında da uzaklaştırılması gerekir (Halliwell 1984; Güler 2008). Hücre içi savunma sistemi enzimleri olan CAT, APX ve POD enzimleri H_2O_2 yi su ve moleküler oksijene dönüştürerek ortamdan uzaklaştırır. Bitkilerde bu enzimlerin hücresel seviyelerini düzenlemesi oksidatif streslere tolerans sağlamada oldukça önemlidir (Gechev *et al.* 2002; Minibaeva and Gordon 2003; Mutlu 2009; Erdal 2010).

Tekli (singlet) oksijen ($^1\text{O}_2$)

Oksijenin yüksek enerjili formu tekli oksijenin, elektron taşıma sisteminde görevli olan O_2 molekülünün fazladan enerji yüklenmesi sonucu kendi dönüş yönünün tersi yönde olan farklı bir yörüngeye yer değiştirmesi ile oluşur. Bunun yanı sıra H_2O_2 'nin hipoklorit ile reaksiyonu sonucunda da oluşabilir. Bitkilerde $^1\text{O}_2$ nin asıl kaynağı fotosentez reaksiyonlarında elektron transport sistemindeki klorofil pigmentleri olup, fazla miktarda ışık enerjisi absorblayan klorofilden oksijene enerji aktarılmasıyla ilgilidir (Foyer *et al.* 1997; Güler 2008).

Eşleşmemiş elektronu bulunmadığından radikal özelliği olmayan $^1\text{O}_2$ nin, oksidan özelliği oldukça yüksek olmasından dolayı singlet oksijen canlı organizmada hasara neden olabilir (Cadenas 1989; Durmuş 2003).

Tekli oksijen; proteinler, pigmentler, nükleik asitler ve lipidlerle reaksiyona girme potansiyeline sahiptir. Ayrıca ışık kaynaklı PSII aktivitesi kaybının tetiklediği hücre kaybından sorumlu olan en önemli reaktif oksijen türü olduğu düşünülmektedir. (Wagner *et al.* 2004; Krieger-Liszkay *et al.* 2008). Ek olarak tekli oksijen hücre zarlarının glikolipid, fosfolipid, sterol ve gliserid yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girmesi sonucunda aldehitler, peroksitler, pentan ve hidroksi yağ asitleri gibi çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluştururlar (Gechev *et al.* 2002; Minibaeva and Gordon 2003; Mutlu 2009; Erdal 2010).

Hidroksil radikali ($\text{OH}^\bullet$)

Hidroksil radikali, biyomoleküller ile daha güçlü reaksiyona girmesinden dolayı biyolojik sistemlere diğer ROT'lardan daha fazla zarar verebilir. Kısa ömürlü ve yüksek derecede reaktiftir olan bu radikallerin nötral formları hidroksil iyonlarıdır. Hidrojenperoksit, özellikle Fe^{+2} ve Cu^+ veya diğer geçiş elementleri (Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında, nötr pH ve uygun ortam sıcaklıklarında, demir katalizörlü Fenton reaksiyonu ile $\text{O}_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 'den $\text{OH}^\bullet$ üretilebilir (Halliwell 1987; Halliwell 1999; Betteridge 2000).

Biyolojik sistemlerde hidroksil radikali; DNA, proteinler ve lipidler gibi hemen hemen tüm biyolojik moleküllerle potansiyel olarak reaksiyona girme

potansiyeline sahiptir. Bu tepkimeler temel nedeni OH•'ın son yörüngesinde paylaşılmamış elektron bulunmasından kaynaklı olarak elektron alma ilgisinden kaynaklanır (Halliwell 1984). OH•'ın doymamış yağ asitlerini hedef alarak hücre zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olur. Zar lipidlerinin peroksidasyonu sonucunda zarın yapısını bozulup ve geçirgenliği artması neticesinde hücre ölümüne indüklenir (Nishiyama *et al.* 1998; Güler 2008; Erdal 2010).

2.2. Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu, tüm bir organizmalarda meydana geldiği bilinen en zararlı süreç olarak kabul edilmektedir. Lipid peroksidasyonu sırasında üretilen ürünlerin ketonlar, MDA ve ilgili bileşikler gibi küçük hidrokarbon parçaları içeren çoklu doymamış öncülerden oluştuğu bilinmektedir (Garg and Manchanda 2009). Hem hücre zarlarında hem de organel zarlarında LPO, ROT eşiğinin üzerindeki seviyelere ulaşıldığında meydana gelir. Sadece normal hücre fonksiyonunu doğrudan etkilemekle kalmaz, aynı zamanda lipid türevli radikallerin üretimi yoluyla oksidatif stresi de artırır (Montillet *et al.* 2005).

Lipid peroksidasyonu zarlarda temelde OH•'nin etkisi ile çoklu doymamış yağ asidi kalıntılarının doymamış yağ asidi zincirinden hidrojen atomlarını uzaklaştırarak başlar. Aerobik bir ortamda, bu karbon merkezli lipid radikalının yağ asitlerine, ROO radikallerini oluşturmak için oksijen eklenir. Bir kez başlatıldığında, ROO• bitişik çoklu doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerinden hidrojen atomlarını uzaklaştırarak peroksidasyon zincir reaksiyonunu daha da devam etmesinde neden olur. Meydana gelen lipid hidroperoksit, aldehitler (malonildialdehitler), alkenler, lipid alkoksil radikalleri, alkoller ve lipid epoksitler gibi çeşitli reaktif türlere kolayca ayrışmaktadır (Fam and Morrow 2003). Bu nedenle, bir zincir reaksiyonunda tek bir başlatmadan sonra birden fazla peroksit molekülü oluşması mümkündür.

Lipid peroksidasyonun genel etkileri membran akışkanlığı azalması, iki katman arasında fosfolipidlerin değişimini kolaylaşması, membranda seçici geçirgenlik kaybı nedeniyle normalde membranı geçmeyen maddelerin infiltrasyonunun artmasıdır. Ek olarak membran proteinlerinin, reseptörler ile enzimlerin inaktivasyonu ve iyon kanallarında tahribatı da lipid peroksidasyonunun etkileri arasındadır.

Bazı LPO ürünleri, tiyobarbitürik asit reaktanları olarak adlandırılan renkli ürünler oluşturmak için tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girer (Heath and Packer 1968). Lipid peroksidasyon seviyesi, lipid peroksidasyonunun ürünü olan MDA miktarı ölçülerek belirlenebilir. LPO derecesi, MDA-tiyobarbitürik asit ile oluşturulan bu pembe çözeltinin absorbansından belirlenir ve oksidatif strese kaynaklanan hasarın derecesinin bir göstergesi olarak kullanılır (Yılmaz ve Ozan 2003; Kuru 2007; Erdal 2010). Kadmiyuma maruz kalan mısır bitkilerinde artan MDA miktarıyla LPO tespit edilmiştir (Krantevet *et al.* 2006; Singh *et al.* 2019).

2.3. Antioksidan Enzimler

Normal koşullarda, potansiyel olarak toksik oksijen metabolitleri düşük miktarlarda üretilir. ROT üretimi ile söndürme arasında uygun bir denge vardır. ROT üretimi ve söndürülmesi arasındaki denge, lipidler, proteinler ve nükleik asitlerde oksidatif hasara neden olabilen hücre içi ROT miktarlarında hızlı artışlara yol açabilen bazı olumsuz çevresel faktörleri tarafından bozulabilir (Noctor *et al.* 2002; Sharma *et al.* 2019). Aşırı sıcaklıklar, ağır metaller, kuraklık, su mevcudiyeti, hava kirleticiler, yetersiz beslenme, tuz stresi vb. olumsuz çevresel koşullara maruz kalma bitkilerde $^1O_2$, $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve $OH^{\cdot}$ gibi ROT'ların üretimi artabilir ve oksidan-antioksidan arasındaki denge bozulur (Noctor *et al.* 2002).

Antioksidan savunma sistemi, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki ayrı bileşene ayrılır. Antioksidan enzimler; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), peroksidaz (POD) ve glutatyon redüktaz (GR) bulunur. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise; suda çözünebilir askorbik asit ve glutatyon (GSH) ile yağda çözünür karotenoidler ve tokoferollerdir (Mittler *et al.* 2004; Singh *et al.* 2008a).

2.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz tüm aerobik canlılarda oksidatif strese karşı savunmada merkezi bir görev alır (Scandalios 1993). SOD metalloenzimler grubuna ait bir enzim olup $O_2^{\cdot-}$ nin O_2 ve H_2O_2 'ye dismutasyonunu katalize eder. Aktif oksijen üreten hücre altı bölümlerin çoğunda bulunur ve SOD bakır/çinko SOD (Cu/Zn-SOD), manganez SOD (Mn-SOD) ile demir SOD (Fe-SOD) olarak bitkilerde üç ayrı izoenzimi rapor edilmiştir (Fridovich 1989; Racchi *et al.* 2001). Tüm SOD formları

DNA tarafından kodlanır ve bir amino merkezi hedefleme dizisi tarafından ilgili alt hücre bölmelerine lokalize olur (Bowler *et al.* 1992). MnSOD mitokondride lokalize iken FeSOD ise kloroplastlarda lokalizedir (Jackson 1978). Ayrıca Cu/Zn-SOD sitozol, kloroplast, peroksizom ve mitokondride bulunan üç izoformmu mevcuttur (Bowler *et al.* 1992; Kanematsu and Asada 1989; del Río *et al.* 1998). Ökaryotik Cu/Zn-SOD siyanüre duyarlıdır ve dimer olarak bulunurken diğer ikisi (Mn-SOD ve Fe-SOD) siyanüre karşı duyarsızdır ve dimer veya tetramer olabilir (Scandalios 1993; del Río *et al.* 1998). Kuraklık ve metal toksisitesi dahil olmak üzere çeşitli çevresel streslere maruz kalan bitkilerde SOD aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Sharma and Dubey 2005; Mishra *et al.* 2011). Artan SOD aktivitesi, genellikle bitkinin çevresel streslere karşı artan toleransı ile ilişkilidir. (Zaefyzadeh *et al.* 2009). SOD'un aşırı üretiminin bitkilerde oksidatif stres toleransının artmasıyla sonuçlandığı bildirilmiştir (Gupta *et al.* 1993).

2.3.2. Peroksidaz (POD)

POD, ROT'u ortadan kaldırmada önemli bir rol oynayan, SOD ve CAT ile birlikte çalışan bir enzimdir. POD, çeşitli organik ve inorganik substratın (AH₂) dehidrojenasyonunu katalize etmek için hidrojen donörü olarak H₂O₂'yi kullanır (Bergmeyer and Grabl 1983). POD birçok fizyolojik olayla ilişkilidir ve metabolizmada aktif rol oynadığı (Durmuş 2003) ve POD aktivitesinin stresli bitkilerde arttığı bilinmektedir (Asada 1992).

2.3.3. Katalaz (CAT)

Katalaz (CAT) en hızlı reaksiyona giren enzimlerden biridir. Tetramerik bir HEM grubu içeren CAT, H₂O₂'yi doğrudan H₂O ve O₂'ye detoksifikasyon potansiyeline sahip olur stres koşulları altında ROT'u süpürmede etkilidir (Garg and Manchanda 2009). Katalaz solunum zincirindeki oksijenin eksik indirgenmesi sonucu üretilen H₂O₂'yi O₂'ye indirger (Caudiere and Ferrari 1999). Ayrıca katalazın metil hidrojen peroksit (MeOOH) gibi birçok hidroperoksitlerle reaksiyona girdiği bildirilmiştir (Ali and Alqurainy 2006). CAT kararlı bir enzim olmamasından kaynaklı, yüksek ışık yoğunluğu veya strese maruz kalması sonucu bitki hücrelerinde oluşan H₂O₂'nin yüksek konsantrasyonlarıyla inhibe edilebilir (Streb *et al.* 1993). CAT'ın çok az miktarda mitokondride bulunmasının dışında sadece peroksizomlarda

bulunması ve H₂O₂'ye afinitesinin zayıf olması bu enzimin etkinliğini azaltmaktadır (Asada 1992; Scandalios 1993). CAT'ın koruyucu etkisini, GSH, askorbik asit, E ve K vitaminleri ortamdaki elektronları kolayca alarak serbest radikalın ortadan kaldırılmasıyla artırır (Keha and Küfreviöglu 2000; Taşğın 2004; Erdal 2010).

2.3.4. Askorbat peroksidaz (APX)

Askorbat peroksidaz (APX), CAT ve POD'a kıyasla H₂O₂'ye karşı daha yüksek bir afiniteye sahiptir. APX, O₂-O₂ ile askorbat (ASH) –glutasyon (GSH) döngülerinde H₂O₂'nin atılmasında görev alır ve ASH'yi elektron vericisi olarak kullanır. CAT, H₂O₂'yi İki molekül askorbat kullanarak suya dönüştürür (Noctor and Foyer 1998). Bu reaksiyonda askorbat iki molekül MDHA'ya dönüşür MDHA ise MDHA redüktaz tarafından tekrar askorbata dönüştürülen bir döngü oluşur (Kumar *et al.* 2011).

APX bulundukları yere göre farklı izoformda bulunur. Bunlar; tilakoid (tAPX) ve glioksizom membran formları (gmAPX), kloroplast stromal çözünür form (sAPX), sitosolik form (cAPX) olmak üzere en az beş farklı izoformdan oluşur (Noctor and Foyer 1998).

APX çok fazla üretimi, ROT süpürme sistemini güçlendiren POD aktivitesini artırdığı ve dolayısıyla oksidatif stres toleransını artırdığı öne sürülmüştür (Sarowar *et al.* 2005). Yapılmış bazı çalışmalarda *Ceratophyllum demersum* L. (tilki kuyruğu), *Brassica juncea* L. Czern. (hardal), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Vigna mungo* L. (siyah mercimek) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) gibi birçok bitkide stres koşulları altında hem APX enzim aktivitesinde hem de bu enzimin gen ekspresyonunda artışlar olduğu gözlenmiştir. APX enzim aktivitesinde ve gen ekspresyonundaki artışların oksidatif stres savunmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Beauchamp and Fridovich 1971; Polidoros and Scandalios 1999; Zlatev *et al.* 2006; Hsu and Kao 2007; Khan *et al.* 2007; Mobin and Khan 2007; Singh *et al.* 2008b).

2.3.5. Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz (GR) prokaryotlarda ve ökaryotlarda bulunan temel bir disülfid grubu içeren bir flavo-protein oksidoredüktazdır (Romero-Puertas *et al.*

2006). Enzimik ve enzimatik olmayan oksidasyon-indirgeme döngülerine katılarak bir antioksidan olarak hareket ettiğinde, GSH, GSSG'ye oksitlenir. Ayrıca GSH'nin indirgenmiş durumunu sürdürerek ROT'e karşı savunma sisteminde önemli bir rol oynar. GSH, bitkilerde birçok metabolik olayı düzenleyici ve antioksidan süreçte yer alan bir moleküldür. GR, oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) disülfür bağının NADPH'ye bağlı reaksiyonunu katalize için GSH havuzunu korumak için önemlidir (Reddy and Raghavendra 2006; Rao and Reddy 2008). NADPH'yi elektron verici olarak kullanarak GSSG'nin, GSH'a indirgenmesini katalizler (Ranieri *et al.* 2005; Yannarelli *et al.* 2007). Katalitik mekanizma iki adımı içerir: ilk olarak flavin kısmı NADPH tarafından indirgenir, flavin oksitlenir ve bir redoks aktif disülfid köprüsü indirgenerek bir tiolat anyonu ve bir sistein üretilir, ikinci adım ise tioldisülfid değişim reaksiyonları yoluyla GSSG'nin indirgenmesini içerir (Ghisla and Massey 1989). İndirgenmiş enzim GSSG tarafından yeniden oksitlenmezse, geri dönüşümlü bir inaktivasyona maruz kalabilir. Kloroplastlar, sitozol, mitokondri ve peroksizomlarda yer almasına rağmen, fotosentetik dokulardaki GR aktivitesinin yaklaşık %80'i kloroplastik izoformlardan sorumludur (Edwards *et al.* 1990).

2.4. Antioksidan Bileşikler

2.4.1. Glutatyon (GSH)

Tripeptid glutatyon (γ -glutamilsisteinil-glisin, GSH), ROT'un neden olduğu oksidatif hasara karşı hücre içi savunmada önemli bir rol oynayan, kritik öneme sahip düşük moleküler ağırlıklı protein olmayan tiyollerden biridir (sharma *et al.* 2012). Bitki dokularında indirgenmiş formubol miktarda bulunur. Sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri, kloroplastlar, peroksizomlar ve apoplast gibi tüm hücre organelleri ve kısımlarında bulunur (Mittler and Zilinskas 1992; Jiménez *et al.* 1998). İndirgeme gücü nedeniyle GSH; sülfat taşınmasının düzenlenmesi, hücre büyümesi/bölünmesi, sinyal iletimi, metabolitlerin konjugasyonu, proteinlerin ve nükleik asitlerin sentezi, metal şelasyonu için fitoşelatinlerin sentezi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve strese duyarlı genlerin ekspresyonu gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Foyer *et al.* 1997; Xiang *et al.* 2001; Mullineaux and Rausch 2005). Bitkilerde GSH'nin hücre farklılaşması, hücre ölümü ve yaşlanma, patojen direnci ve enzimatik

düzenleme dahil olmak üzere çeşitli büyüme ve gelişme ile ilgili süreçlerde aktif olarak görev aldığı bildirilmiştir (Rausch and Wachter 2005).

2.4.2. Askorbat (L-Askorbik Asit, C Vitamini, ASH)

Bitkilerde en bol bulunan, suda çözünen, düşük moleküler ağırlıklı ASH, ROT'un zararlı etkilerini önler veya en aza indirir (Smirnoff 2005; Khan and Ashraf 2008). AsA, bir dizi enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonda elektron verme yeteneğinden dolayı güçlü bir antioksidan olarak kabul edilir (sharma *et al.* 2012). Bitkiler ASH'ı H_2O_2 'nin detoksifikasyonu için substrat olarak kullanır (Nakano and Asada 1987; Mehlhorn *et al.* 1996). Bitkinin fotosentetik hücrelerinde, meristemlerde ve bazı meyvelerde daha yüksek olmak üzere tüm dokularında bulunur. Askorbatın en yüksek konsantrasyonu tam gelişmiş kloroplast ve yüksek klorofil içeren olgun yapraklarda olduğu bildirilmektedir. Bitkide fizyolojik koşullar normal olduğunda ASH'nin yapraklarda ve kloroplastta çoğunlukla indirgenmiş formda kaldığı bildirilmiştir (Smirnoff 2000). Tamamen oksitlenmiş dehidroaskorbik asit kısa bir yarı ömre sahip olduğu ve tekrar indirgenmedikçe kaybolacağından, askorbatın rejenerasyonu son derece önemlidir. $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ile doğrudan reaksiyona girerek ve tokoferoksil radikalinden α -tokoferol üreterek membran koruması sağlar ve prostetik geçiş metal iyonları içeren enzimlerin aktivitelerini korur (Noctor and Foyer 1998). Bitki hücrelerinde enzim kofaktörü, antioksidan ve kloroplast ya da hücre zarındaki elektron taşıma sistemlerinde elektron verici-alıcı olarak görev yapar (Padh 1990).

Çeşitli bitkilerle yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir ki; biyotik ve abiyotik stres durumunda gerçekleştirilen enzim ve gen ifadesi analizleri sonucunda ASH ile ilişkili gen ifade seviyelerinde artış kaydedildiği ve bu artışların strese karşı savunma cevabı olarak verildiği saptanmıştır. *Cucumis sativus* L. (salatalık), *Arabidopsis thaliana* L. Heynh (turp), *Pisum sativum* L. (bezelye), *Nicotiana tabacum* L. (tütün), *Populus nigra* L. (kavak), *Hordeum vulgare* (arpa), *Picea asperata* Mast. (dragon ladini), *Soja max* Piper (soya) ve daha pek çok bitkide değişik yapılan çalışmalar askorbik asitin stres cevap olarak arttığını kanıtlamıştır (Aono *et al.* 1993; Schützendübel *et al.* 2002; Zhang *et al.* 2002; Skórzyńska-Polit *et al.* 2003; Holländer-Czytko *et al.* 2005; Demirevska-Kepova *et al.* 2006; Romero-Puertas *et al.* 2007; Yang *et al.* 2008).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Buzdolabı :	Profilo
Derin dondurucu (-80°C) :	Harris, İngiltere
Elektroforez :	Bio-Rad
Hassas terazi :	Shimadzu AY220
Homojenizatör :	QIAGEN GmbH SchwingmühleTissueLyser 2
Masa santrifüjü :	DLAB MX-S
Otomatik pipetler :	Ependhof
pH metre :	ISO LAB Laborgeräte GmbH pH metre
Santrifüj (Soğutmalı) :	ThermoSCIENTIFIC SL 16R Centrifuge
Spektrofotometre :	ThermoSCIENTIFIC <i>MULTISKAN GO</i>

3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları

İnceleme ve ölçümlerde kullanılan solüsyonlar ve hazırlanma prosedürleri aşağıda tarif edilmiştir. Solüsyonlar Fluka ve Sigma isimli firmalardan sağlanmıştır.

1. Arnon ve Hoagland besi çözeltisi: 1 M KNO₃, 1M Ca(NO₃)₂. 4H₂O, 1M NH₄H₂PO₄, 1 M MgSO₄. 7H₂O, 50 mM KCl, 25 mM H₃BO₃, 2 mM MnSO₄. 7H₂O, 2 mM ZnSO₄. 7H₂O, 0.5 mM CuSO₄. 5H₂O, 0.5 mM H₂MoO₄ (%85 MoO₃), 20 mM Fe-EDTA olacak şekilde ana çözeltiler hazırlanır. Bu çözeltilerden 6 mL KNO₃, 4 mL Ca(NO₃)₂. 4H₂O, 2 mL NH₄H₂PO₄, 1 mL MgSO₄. 7H₂O, mikro element çözeltisi toplam 1mL olacak şekilde alınır ve çözelti hacmi 1 litre olacak şekilde tamamlanmıştır.
2. Protein tayini için 0,05 M KH₂PO₄ (pH: 6,5) : 1,7 gr KH₂PO₄ 200 ml distile suda çözülmüş, 1 N NaOH kullanılarak pH 6,5'e ayarlandıktan sonra hacim distile suyla 250 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.
3. Coomassie reaktifi (Protein tayini için): 5 ml etanol içinde 10 mg Coomassie Blue G-250 çözülmesinin ardından, üzerine 10 ml %85'lik fosforik asit eklenir ve hacmi distile suyla 100 ml olacak şekilde tamamlanır.
4. Antioksidan enzim aktiviteleri için homojenizasyon tamponu 0,1 M KH₂PO₄ (pH: 7,0), 1 mM EDTA, %1 PVP: Distile suda 3,4 gr KH₂PO₄ 200ml çözülmüş, 1 N NaOH kullanılarak pH 7,0'ye ayarlanmasının ardından hacmi

distile su kullanılarak 250 ml olacak şekilde tamamlanmış ve üzerine 2,5 g PVP ve 0,073 gr EDTA eklenmiştir.

5. 103,5 mM KH_2PO_4 , pH: 7,5 (CAT aktivite tayini maksadıyla kullanılan solüsyon): 70ml distile suda 1,41 gr KH_2PO_4 çözülmüş, 1 N NaOH ile pH: 7,5'e ayarlanmış ve son olarak distile su ile hacmi 100 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.
6. 40 mM H_2O_2 solüsyonu (CAT aktivite tayini maksadıyla kullanılan substrat solüsyonu): 346 μl %35'lik H_2O_2 solüsyonu hacmi distile su ile 100ml olacak şekilde tamamlanmıştır.
7. 5 mM H_2O_2 solüsyonu (CAT aktivite tayininde standart grafik oluşturmak maksadıyla kullanılmak üzere): 43 μl %35'luk H_2O_2 alınp hacmi distile su ile 100ml olacak şekilde tamamlanmıştır.
8. 0,1 M Na_2HPO_4 , pH: 5,5 (POD aktivite tayini maksadıyla kullanılan tampon solüsyonu): 3,55 gr Na_2HPO_4 , 200 ml distile suda çözülüp, pH: 5,5 olacak şekilde ayarlandıktan sonra hacmi distile su ile 250 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.
9. POD aktivite tayini maksadıyla kullanılan substrat solüsyonu (5 mMguaikol + 5 mM H_2O_2): 100 ml 0,1 M fosfat tamponunda (pH: 5,5) 15 μl H_2O_2 ve 54 μl guaikol'dan ($d=1,13$ g/mol) 5 mM olacak şekilde çözülerek hazırlanmıştır.
10. 50 mM KH_2PO_4 (pH: 7,8) (SOD tampon solüsyonu): Distile suda 1,7 gr KH_2PO_4 200 ml çözüldükten sonra, pH: 7,8'e ayarlanıp distile su ile hacmi 250 ml olacak şekilde tamamlanmıştır.
11. 13 mMmetionin solüsyonu (SOD reaksiyon çözeltisi): 0,586 grmetionin, 250 ml 50 mM KH_2PO_4 solüsyonu içine eklenerek çözülür.
12. 63 μM NitroblueTetrazolium Klorür (SOD reaksiyon çözeltisi maksadıyla): 250 ml 50 mM KH_2PO_4 solüsyonu içine 0,0128 grNitroblueTetrazolium Klorür eklenerek çözülür.
13. 0.1 mM Etilen Diamin Tetra Asetik asit-EDTA (SOD reaksiyon çözeltisi maksadıyla): 250 ml 50 mM KH_2PO_4 solüsyonu içine 0,073 gr Etilen Diamin Tetra Asetik asit eklenerek çözülür.

14. 13 μ M riboflavin (SOD aktivitesi maksadıyla ikinci solüsyon): 500 ml distile suda 0,019 gr riboflavin çözüldükten sonra, 3 ml'lik çözeltide 13 μ M riboflavin bulunabilmesi için 390 μ L riboflavin alınmıştır.
15. %0,1'lik trikloroasetik asit-TCA (Lipid peroksidasyon için homejanizasyon): 0,1 g TCA 100 ml distile su içerisine eklenerek çözülür.
16. %0,5 liktiobarbutirik asit-TBA (Lipid peroksidasyon için reaksiyon solüsyonu): 20 g TCA 100 ml distile su içinde çözülür ve daha sonra içerisine 0,5 grtiobarbutirik asit eklenerek hafif ısıda iyice çözünmesi sağlanır.
17. Monomer(akrilamid/bis) çözeltisi (%30 akrilamid, %2,7 bis) : 29,2 g akrilamid 75 ml saf suda çözülür, çözeltiye 0,8 g bis katılıp çözülür. Son hacim 100 ml'ye tamamlanır.
18. Ayırma jeli solüsyonu (1,5 M Tris, pH: 8,8) : 50 ml distile suda 18,15 grtris çözülür. HCl ile pH 8,8 olacak şekilde ayarlanır. Distile su ile 100 ml olacak şekilde tamamlanır.
19. Yükleme jeli tamponu (0,5 M Tris, pH: 6,8) : 40 ml distile su içinde 3 grtris çözülür. pH 6,8 HCl ile ayarlanır. Hacim distile su ile 50 ml olacak şekilde tamamlanır.
20. %10 SDS: 1 gr SDS nihai hacim 10 ml hedeflenerek distile su içinde çözülür.
21. %10 Amonyum persülfat (polimerizasyon başlatıcı) : 0,05 g amonyum persülfat son hacim 500 μ l olacak şekilde saf suda çözülür.
22. Örnek uygulama tamponu (0,125 M Tris, %10 2-merkaptetanol, %4 SDS, %20 gliserol, %0,2 bromfenol mavisi pH: 6,8): 2,5 ml yükleme jeli tamponu, 2 ml gliserol, 4 ml %10 SDS, 1 ml 2-merkaptetanol alınıp son hacim 10 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanır, pH: 6,8'e ayarlanır. Karışıma 0,02 g bromfenol mavisi katılarak karıştırılır. Kullanılacak hacimlere bölünüp - 20°C'de saklanır.
23. Tank tamponu (0,025 M Tris, %0,1 SDS, 0,192 M glisin, pH: 6,8) : 3 grTris, 14,4 grGlisin, 1 gr SDS alınır. 900 ml distile su içinde çözülerek pH 6,8 olacak şekilde ayarlanır. Nihai hacim 1000ml hedeflenerek distile su eklenerek tamamlanır.
24. Boyama substrat çözeltisi (SOD izoenzimleri için) (33,2 μ M riboflavin, 0,24 mM NBT, %0,2 TEMED, 1 mM EDTA, 0,05 M KH₂PO₄ pH 7,8): 0,0098 gr NBT, 100 μ l TEMED, 0,147g EDTA, 0,45 g KH₂PO₄ 40 ml saf suda çözülüp

pH: 7,8'e ayarlanır. 1 ml saf su içerisinde 0,0062 g riboflavin çözülür ve 100 µl'si boyama substrat çözeltisine katılır. Çözeltinin son hacmi 50 ml'ye saf su ile katılır.

25. 1 mM EDTA, 0,05 M KH_2PO_4 pH 7,8 (SOD izoenzimleri için): 0,147 g EDTA, 0,345 gr KH_2PO_4 40 ml distile suda çözülerek pH 7,8 olacak şekilde ayarlandıktan sonra son hacim 50 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanır.
26. 2 mM Askorbik asit, 50 mM Na_2HPO_4 (APX izoenzimleri için): 0,0352 g askorbik asit, 1,34 g Na_2HPO_4 80 ml distile su içinde çözülür ve pH 7,0 olacak şekilde ayarlanır. Son hacmi 100 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanır.
27. 4 mM Askorbik asit, 2 mM H_2O_2 : 50 mM Na_2HPO_4 (APX izoenzimleri için): 2 mM Askorbik asit çözeltisinden 50 ml alınır üzerine 0,0176 g askorbik asit ve 10 µl %35 H_2O_2 katılıp iyice karıştırılır.
28. 28 mM TEMED, 2,4 mM NBT, içeren 50 mM Na_2HPO_4 (pH 7,8) tamponu (APX izoenzimleri için) : 105 µl TEMED, 0,0491 g NBT, 0,335 g Na_2HPO_4 20 ml distile su içinde çözülerek pH 7,8 olacak şekilde ayarlandıktan sonra son hacmi 25 ml olacak şekilde distile su eklenerek tamamlanır.
29. 0,25 mM NADPH çözeltisi hazırlamak için (GR aktivitesi için) : 0,0022 g NADPH 10 ml saf su içerisinde çözülür.
30. 1 mM GSSG (GR aktivitesi için): 0,0061g GSSG, 10 ml saf su içerisinde çözülür.
31. 0,5 mM EDTA (GR aktivitesi için): 0,0014 g EDTA 10ml saf su içerisinde çözülür.
32. 50 mM Tris-HCl (GR aktivitesi için): 0,06 g Tris bir miktar saf su içerisinde çözülür, sonra pH: 7,8' e ayarlanır ve son hacim 10ml'ye tamamlanır.
33. %5'lik TCA (homojenizasyon için): 1g TCA 10ml saf su içerisinde çözülür.
34. 50 mM KH_2PO_4 (süperoksit metodu için homojenizasyon çözeltisi) 0,068 gr KH_2PO_4 bir miktar suda çözülür. pH 7,8'e ayarlanır ve son hacim 10 ml'ye tamamlanır.
35. 10 mM Hidroksilamin (süperoksit içeriği için) 0,0069 gr hidroksilamin 10 ml saf suda çözülür.

36. 17 mM sülfamid (süperoksit içeriği için) 0,029 gr sülfamid 10 ml saf su içerisinde çözülür.
37. 7 mM naftilamin (süperoksit içeriği için) 0,01 gr naftilamin 10 ml saf suda çözülür

3.3. Tohumların Seçilmesi ve Temini

Bu araştırmada Dünya'da olduğu gibi ülkemizde de üretimi oldukça yaygın olarak yapılan ve tüketim açısından ilk sıralarda olan tahıl bitkisi mısır (*Zea mays* Hido) bitkileri kullanılmıştır. Mısır tohumları Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsünden sağlanmıştır.

3.4. Büyütme Aşamasındaki Deney Tasarımı ve Yapılışı

Deney tasarımı

Deney tasarımı için öncelikle uygulanacak kadmiyum ve taurin miktarını belirlenmiştir. Bunun için literatür verilerinden de faydalanılarak uygulanacak olan Cd konsantrasyonu belirlemek amacı ile 50, 100, 200, 400 μM CdCl_2 konsantrasyonlarını içeren bir deney düzeneği kurulmuş ve bu deney sonuçlarına göre asıl çalışmada 100 μM CdCl_2 kullanılmasına karar verilmiştir. Diğer bir denemede ise 2,4,8,16 mM taurin uygulamaları ile bitki gelişiminde en iyi sonuçları sağlayan en düşük taurin konsantrasyonu 2 mM'n olarak belirlenmiştir. Uygulanacak maddenin minimum miktarda maksimum fayda beklentisi nedeniyle taurin konsantrasyonu 2mM ile birlikte 1mM olacak şekilde kullanılmasına karar verilmiştir.

Deneme Deseni

- Kontrol
- 1T (1 mM Taurin)
- 2T (2 mM Taurin)
- Cd (100 μM CdCl_2)
- Cd+1T [(100 μM CdCl_2) + (1 mM Taurin)]
- Cd+2T [(100 μM CdCl_2) + (2 mM Taurin)]

Deneyin yapılışı

Ekilmeden önce tohumlar %96 derecede alkol ile kısa ve hızlı şekilde yıkanmıştır. Ardından %5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 5 dakika boyunca yüzey sterilizasyonuna maruz bırakılmıştır. Sonrasında 3 kere distile su ile yıkama işlemi uygulanmıştır. Mısır tohumları Hoagland besi yeri içeren hidrofonik sisteminde saksılara ekilmiştir. Bitkiler kontrollü iklim koşullarında (sıcaklık: 25/20°C, ışık-karanlık periyodu: 12/12 saat, 20.000 lüks, nem %70) büyümesi sağlanmıştır. Hasat edileceği güne kadar, her bitki grubunun, günlük olarak aynı miktarda Hoagland besi solüsyonuyla sulaması yapılmıştır. Bitkilerin bulunduğu saksılar 10. günde deneme desenine göre kadmiyum ve/veya taurin verilerek gruplara ayrılmıştır. Uygulamadan 96 saat sonra yetiştirilen bitkiler hasat edilip, kök gövde uzunlukları ölçülmüştür. Ardından her grup ayrı olacak şekilde bitkiler dokuları fizyolojik ve biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere -80° C'de muhafazaya alınmıştır.

Konsantrasyonların belirlenmesi için yapılan kadmiyum ve taurin ön deneylerinde yetiştirme tekniği ana deney ile aynı olup sadece uygulamalar 9. günde yapılarak 96 saat sonra bitkiler morfolojik ölçümler için hasat edilmiştir.

3.5. Kök-Gövde Uzunluklarının Belirlenmesi

Uygulanan maddelerin bitki gelişimi üzerindeki etkilerini belirlemek amacı ile deney bitiminde fidelerin kök ve gövde uzunlukları, milimetrik cetvel ile ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

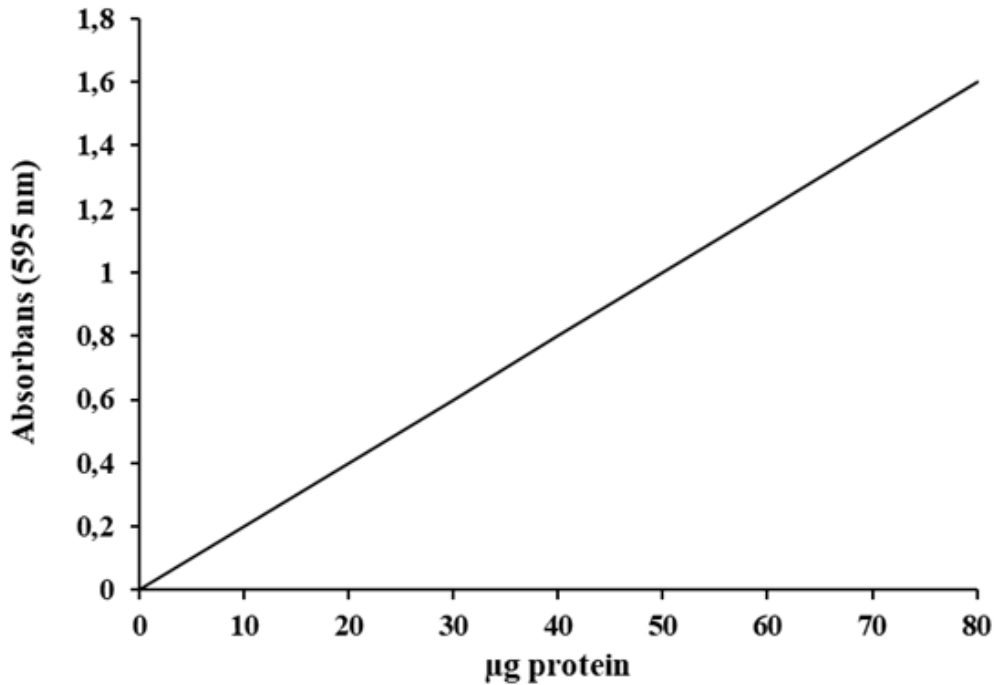
3.6. Kuru ve Yaş Ağırlıkların Belirlenmesi

Uygulanan maddelerin biyokütleyi nasıl etkilediğini saptamak amacı ile bitki dokularının kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Hasat edilen dokuların yaş ağırlık tartımları ardından 60°C'ye ayarlanmış etüvde bir sonraki tartımda ağırlığının değişmeyeceği süre boyunca kurutulmak suretiyle % kuru ağırlıkları saptanmıştır.

3.7. Çözünabilir Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Bitkilerin yapraklarından 0.5g'lık doku alınır. Bu dokular 10 misli hacimdeki 0.05M fosfat tamponunda (pH:6.5) havanda ezilerek homojenizasyon yapılır. Homojenat

15.000 rpm’ de 20 dakika boyunca santrifüj edilir. Protein tayini için süpernatant kullanılır. Protein miktarı spektrofotometre ile tayin edilir. Standart grafik (Şekil 4.7.1) için metot; 1ml’inde 1 mg protein içeren standart sığır albumin çözeltisinden 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 µg protein içeren hacimler tüplere aktarılıp, saf su ile bütün tüplerin hacimleri 0.2ml’ye tamamlanır. Hazırlanan tüplere 3’er ml de Coomassie reaktifi eklenir ve vorteks ile karıştırılır. Kör numune olarak 0.2 ml aynı tampondan ve 3 ml Coomassie reaktifinden oluşan karışım kullanılır. Spektrofotometrik ölçümler sonucunda elde edilen 595nm’deki absorbans değerlerine karşılık gelen protein değerlerinden yararlanarak standart grafik elde edilir. Bitki organlarından elde edilen özütlerden 0.2 ml alınıp, 3 ml Coomassie reaktifiyle karıştırılır. Yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda, 595 nm’de absorbansları ölçülerek, standart grafikten yararlanılıp, 0.2 ml özütteki protein miktarları belirlenir. Sonra, gerekli hesaplamalar yapıp protein miktarları µg protein/g doku olarak tayin edilir. Bitkilerin kök ve yapraklarından alınan örnekler Bradford (Bradford 1976) metoduna göre protein tayini yapılır. Sonuçlar “mg protein/g taze doku cinsinden hesap edilir.



Şekil 3.1. Çözünebilir protein içeriğinin belirleme standardı

3.8. Fotosentetik Pigment Miktarlarının Belirlenmesi

Mısır yapraklarındaki pigment biyosentezinin ve/veya yıkımının belirlenmesi fotosentez mekanizmasının ve uygulamalardan ne şekilde etkilendiğini göstermesi açısından önemlidir. Fidelerin klorofil *a*, klorofil *b*, karotenoid, toplam pigment miktarlarını belirlemek için Witham *et al.* (1971) prosedürü uygulanmıştır. Bitkilerden alınan primer yaprak dokularından 1'er gram olacak şekilde tartılıp ve parçalanarak üzerine 2 ml %80' lik aseton konarak havanda ezilir. Ardından filtre kağıdından süzülerek elde edilen ekstrakt %80'lik aseton ile 10 ml'ye tamamlandıktan sonra bu ekstraktların 450, 645 ve 663 nm absorbans değeri ölçülür. Bitkilerden alınan ekstraktların farklı dalga boyu için yapılan absorbans ölçümlerinden elde edilir. Bu değerlerin aşağıda verilen eşitliklerde yerlerine konmasıyla, bitki yaprak dokusunun 1 gramında bulunan klorofil *a*, klorofil *b*, toplam klorofil ve karotenoid miktarları mg/doku olarak hesaplanmıştır.

$$\text{mg klorofil } a/\text{g doku} = [12.7 (D_{663}) - 2.69 (D_{645})] (V/1000.W)$$

$$\text{mg klorofil } b/\text{g doku} = [22.9 (D_{645}) - 4.68 (D_{663})] (V/1000.W)$$

$$\text{mg toplam klorofil/g doku} = [20.2 (D_{645}) + 8.02 (D_{663})] (V/1000.W)$$

$$\text{mg toplam karotenoid/doku} = 4.07 \times D_{450} - (0.0435 \times K_{la} \text{ miktarı} + 0.367 \times K_{lb} \text{ miktarı})$$

Eşitliklerde: D, klorofil ekstraktının belirtilen dalga boylarındaki absorbans değerini; V, %80'lik aseton son hacmini; W, ekstre edilen dokunun gram olarak yaş ağırlığını göstermektedir.

3.9. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Strese adaptasyon mekanizmaları içerisinde en önemli parametrelerden birisi de antioksidan enzimlerin aktivitelerini düzenlenmesidir. Söz konusu enzimler, ROT bileşiklerinin yapısına müdahale ederek zararsız ara bileşiklere dönüştürmektedirler. Bu çalışmadan elde edilen veriler ile stres cevabının düzenlenmesi tartışmalarında büyük katkı sağlayacaktır. Metod: 0.5' er gram yaprak örnekleri 5 ml 0.1 M fosfat tamponunda homojenize edilerek 15000 rpm' de 15 dk santrifüj edilir. Enzim kaynağı olarak süpernatant kısmı alınarak kullanılır.

3.9.1. Süperoksid dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksid dismutaz (SOD) enzimi, süperoksit radikalleri ile nitrobluetetrazoliumun (NBT) reaksiyonu sonucu oluşan farmazonun indirgenmesini engeller. Bu indirgenme değerinin spektrofotometrik olarak saptanması ile SOD aktivitesi hesaplanır. Reaksiyon karışımı için (3 mL); 50 mM KH_2PO_4 (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 63 μM NBT, 13mM riboflavin ve 0.1 mM EDTA içeren bir karışım hazırlanır. Aktivite ölçümü için 3 mL 50 mM KH_2PO_4 (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 63 μM NBT, ve 0.1 mM EDTA içeren bir reaksiyon karışımı hazırlanır ve spektrofotometre küvetine bu karışımdan 2,58 ml alınır ve üzerine 30 μL enzim ekstraktı pipetlenir. Tüplerin üzerine 13 μM 'lık riboflavin çözeltisinden 390 μL pipetlenip karıştırıldıktan hemen sonra, beyaz bir ışık kaynağı önüne yerleştirilerek reaksiyon başlatılır. Tüp, ışık kaynağının karşısında 15 dk tutulur ardından ışık kaynağının kapatılmasıyla reaksiyon durdurulur. 15 dk içerisinde NBT'nin renk açılma yoğunluğu 560 nm'de köre karşı okunur. Kör; aynı işlemin enzimsiz örneğidir. SOD aktivitesinin, 560 nm'de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilir. Bu değerler EU/gram yaprak olarak sunulur (Agarwal and Pandey 2004).

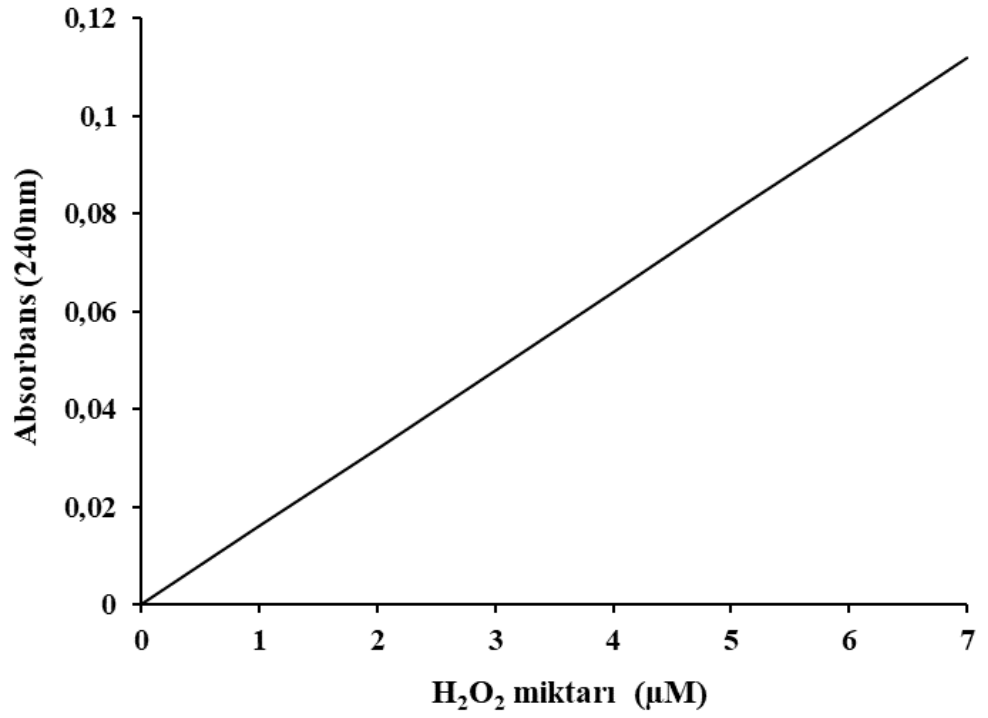
3.9.2. Peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz (POD) aktivite tayini: Substratın guaikol ve H_2O_2 'nin olduğu reaksiyonun ürünü olan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbands artışının 470 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır. Spektrofotometre küvetine aktivite ölçümü için; 100 mL 0.1 M, NaH_2PO_4 (pH: 5.5) ve 5mM H_2O_2 ile 5 mM guaikol içeren substrat çözeltisinden 3 mL konulur. Ardından, üzerine 10 μL enzim ekstraktı ilave

edilir ve 470 nm’de 5 dakika boyunca absorbans artışı 1 dakika aralıklarla kaydedilir. Absorbansın doğrusal olarak arttığı kısımdaki absorbans artışı 1 dakikaya oranlanır, 25°C’de 1 dakikada, absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilir. Sonuçlar gram yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU/g yaprak) olarak sunulur (Ye *et al.* 2003).

3.9.3. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi

Katalazın (CAT) aktivite tayini metodu, katalazın ortamdaki H₂O₂’nin oksijen ve suya dönüşümünü sağlarken meydana gelen absorbans değişiminin 240 nm’de izlenmesi esasına dayanır. Öncelikle reaksiyonda azalan H₂O₂ miktarını belirlemek için standart bir grafik hazırlanır. Standart grafik için, 5 mMH₂O₂ çözeltisinden 3 mL’lik spektrofotometre tüplerine sırasıyla; 0.15, 0.3, 0.45, 0.6, 0.75, 0.9, 1.05, 1.2, 1.35 ve 1.5 mL konulur, tüplerin hacimleri saf su ile 1.5 mL’ye tamamlanır. Her tüpe 1.47 mL 103.5 mM KH₂PO₄ ve 30 µL su ilave edilir. Spektrofotometrede 240 nm’de absorbans köre karşı okunur ve absorbans değerlerine karşılık gelen µM H₂O₂ değerleri kullanarak standart grafik elde edilir. Aktivite ölçümü: 3 mL’lik spektrofotometre küvetine, 103 mM KH₂PO₄ tamponundan 1.475 mL ve 40 mM’lık H₂O₂ substrat çözeltisinden 1.5 mL konulduktan sonra, 25 µL enzim ekstraktı eklenir. Spektrofotometrede 240 nm’de 3 dakika boyunca 1 dakika aralıklarla köre karşı absorbansı okunur ve absorbansın doğrusal olarak azaldığı aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplanır. Bu ortalama absorbans değerleri, standart grafik yardımıyla µmol cinsinden H₂O₂ miktarına dönüştürülür. 25 °C’de, 1 dakika içinde, absorbansı 1 µmol azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilir. Sonuçlar gram yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU/g yaprak) olarak sunulur (Gong *et al.* 2001).



Şekil 3.2. CAT aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik

3.9.4. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini

Enzim aktivitesi, 50 mM Potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 250 μM ASC, 5 mM H₂O₂ ve 20 μl enzim ekstraktı içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımının ölçülmesiyle belirlenir. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm'de ASC için 2,8 mM-1cm-1 epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplanır. Sonuçlar gram taze ağırlık başına ifade edilir. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm'de absorbansdaki azalışa bağlı olarak belirlenir (Nakano and Asada 1981).

3.9.5. Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin tayini

Reaksiyon çözeltisi için substrat olarak 1 mM oksitlenmiş glutasyon (GSSG) ve 0,25 mM NADPH kullanılır. Yükseltgenmiş glutasyonun enzim tarafından indirgenmesi için indirgeyici faktör olarak NADPH kullanılır. Aktivite tayini: içeriğinde 200 µl 0,5mM EDTA içerisinde hazırlanmış 50 mMTris-HCl (pH 7,8), 250 µl GSSG ve 500 µl NADPH bulunan karışıma 50 µl enzim ekstraktı ilave edilir. NADPH'ın oksidasyonu 340 nm'de 5 dakika boyunca azalmanın ölçülmesiyle belirlenir. Glutasyon Redüktaz (GR) aktivitesi mU/ml şeklinde ifade edilir (Foyer and Halliwell 1976).

3.10. Protein Profilinin Belirlenmesi

Mısır yapraklarındaki toplam protein profilinin nasıl değiştiğini belirlemek için Laemmli (1970)'nin belirttiği yöntemle göre protein profilinin belirlenmesinde %4–10 kesikli sodyum dodesilsülfatpoliakrilamid jeli (SDS-PAGE) kullanılacaktır. Protein profilinden elde edilen veriler sentez reaksiyonlarındaki değişimleri hakkında bilgi verecektir. Bunun için elektroforez plakaları sterilize (önce saf su, sonra alkol, tekrar saf su ile) edilir. İki cam plaka üst üste konular ardından kısıpçalarla tutturularak jel hazırlama cihazına yerleştirilir. Hazırlanmış ayırma jeli plakalar arasına enjektörle aktarılır. Enjektörle aktarma işlemi yapılırken havanın aralara girmemesine dikkat edilir. Jelin üst yüzeyinin düzgün olması için üst kısımda izopropil alkol ile ince bir tabaka oluşturulur. Ardından jelin polimerleşmesi için yaklaşık yarım saat beklenir. Polimerleşmesi bittikten sonra üst kısımdaki izopropil alkol dökülür. Daha sonra polimerleşmiş ayırma jelinin üstüne yığılma jel üst yüzeye kadar ilave edilir ve jel tarağı dikkatlice yerleştirilir. Polimerleşme gerçekleştikten sonra tarak dikkatlice çıkarılarak plakalar elektroforez tankına yerleştirilir. Oluşan boşluklar işaretlenip jelin üstü önce saf su, ardından da hazırlanan yürütme tamponu ile yıkanır. Elektroforez tankının alt ve üst kısmına yürütme tamponu konulur. Her birinde 20 µg protein olacak şekilde numuneler hazırlanır. Toplam hacim 100 µl olacak şekilde 1/1 oranında numune tamponu katılır. Üç dakika kaynar su banyosunda inkübasyona bırakılır. Numuneler soğutulduktan sonra, elektroforeze çok ince bir enjektör yardımıyla uygulanır. Tank kapağı kapatılarak (+) kablo (Anot) ve (-) kablo (katot) yerleştirilir. Önce yarım saat 80 voltluk bir akım tatbik edilir. Daha sonra 2–5 saat oda sıcaklığında 120 volt olacak şekilde akım geçirilir. Bu süre

sonunda akım kesilerek, cam plakalar arasındaki jel dikkatlice çıkarılır. Sabitleştirme çözeltisinde (%10 TCA+ %50 izopropanol + %40 saf su) 15 dakika süre ile bekletilir. Fikse çözeltisinden çıkarılan jel daha sonra özel kabına konulup, jelin üstünü örtünce kadar renklendirme çözeltisi eklenir. Elektroforezde kullanılan renklendirme çözeltisi, %10 asetik asit, %50 metanol, %0,1 CoomassieBrillant Blue R-250 ve %40 saf su ile hazırlanır. Daha sonra çalkalayıcıda 45 dakika kadar çalkalanır. Bu işlemden sonra renklendirme çözeltisinden çıkarılarak, renksizleştirme çözeltisine alınır. Renksizleştirme çözeltisi ise, %50 metanol, %10 asetik asit, %40 saf sudan oluşmaktadır. Belirli aralıklarla değiştirilmek suretiyle jelin zemin rengi açılıp, protein bantları belirginleşinceye kadar 1-2 gün bu çözelti içinde çalkalanır. Çalkalayıcıda renkleri açılan jeller %30'luk etil alkol içine alınır ve fotoğrafları çekilir.

3.11. Antioksidan Enzimlerin İzoenzim Profillerinin Elektroforez (NATIVE-PAGE) ile Belirlenmesi

Antioksidan enzimlerin aktivitelerinin spektrofotometrik yöntemle belirlenmesinin ardından, söz konusu enzimlerin doğal elektroforezle (PAGE) izoenzim düzeyinde değişimleri belirlenir. Mevcut strese verilen cevapta enzim aktivitesinin değişmesinden öte enzimin hangi izoenziminin arttığı veya düştüğü bu çalışma ile belirlenir. Bu deneylerden elde edilen veriler proje sonuçlarının tartışılmasına büyük katkı sağlamaktır. Bu izoenzimlerin belirlenmesinde kullanılan olan poliakrilamid jellerinin hazırlanması metodu: SDS katılmadı fakat SDS-PAGE de hazırlanan jellerle aynı şekilde hazırlandı.

3.11.1. Süperoksit dismutaz (SOD) izoenzimlerinin belirlenmesi

SOD izoenzimleri, BeauchampandFridovich (1973) tarafından tanımlanan poliakrilamid jel elektroforezi ile belirlenir. Elektroforez işleminden sonra çıkarılan jel 0,24 mM NBT, 33,2 µM riboflavin, % 0,2 TEMED ve 1 mM EDTA ihtiva eden 0,05 M potasyum fosfat tamponunda (pH 7,8) 37°C'ye ayarlı etüvde karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakılır. Daha sonra jel, 1 mM EDTA ihtiva eden 0,05 M potasyum fosfat tamponuna (pH 7,8) alınır. Sonra ışıklı bir ortamda izoenzimlerin görülebilmesi için 10-30 dakika bekletilir. İzoenzimler belirlendikten sonra jel saf su ile yıkandıktan sonra % 30'luk etil alkolde muhafaza edilir.

3.11.2. Guaiakol peroksidaz (GPX) izoenzimlerinin belirlenmesi

GPX izoenzimleri Liu (1973) tarafından tanımlanan yöntemle belirlenir. Elektroforez işleminin sonucunda çıkarılan jel dikkatli bir şekilde 30 mM H₂O₂, 0,2 M sodyum asetat (pH 5,0) ve 10 mM guaiakol içeren çözeltiye alınarak yarım saat inkübe edilir. Daha sonra % 30'luk etil alkolde muhafaza edilir.

3.11.3. Katalaz (CAT) izoenzimlerinin belirlenmesi

Poliakrilamid jel elektroforezi ile katalaz izoenzimleri Woodbury (1971) tarafından tanımlanan yöntemle belirlenir. Elektroforez işleminin ardından jel, 3 kez 10'ar dakika saf suda bekletildikten sonra 10 µl % 30'luk H₂O₂ 100 ml'ye saf su ile seyreltilmiş H₂O₂ çözeltisinde 10 dakika inkübe edilir. İnkübasyon süresi bitince hemen H₂O₂ jelden uzaklaştırılır. Doğal boyama için yeni hazırlanmış % 2'lik FeCl₃, % 2'lik K₃FeCN₆ çözeltilerin karışımı kullanılır. Saf su ile yıkama işlemi Jelde yeşil rengin görüldüğü an yapılır. Katalaz aktivitesi Jelde boyanmayan yerler olarak belirlenir.

3.11.4. Askorbat peroksidaz (APX) izoenzimlerinin belirlenmesi

Askorbat peroksidaz (APX) izoenzimleri poliakrilamid jel elektroforezi ile Amako *et al.* (1994) tarafından tanımlanan yöntemle belirlenir. Ardından jel elektroforezden dikkatli bir şekilde çıkartılıp 2 mM askorbik asit içeren sodyum fosfat tamponuna (pH 7,0) alınarak 30 dakika inkübe edilir. Sonrasında jel, 20 dakika 4 mM askorbik asit ve 2 mM H₂O₂ içeren aynı tampon içerisinde inkübe edilir. Daha sonra, 28 mM TEMED, 2,4 mM NBT içeren 50 mM sodyum-fosfat (pH 7,8) tamponu içerisine alınarak 10-20 dakika bekletilen jel son olarak saf su ile yıkanır ve izoenzim bantlarının yerleri belirlenir.

3.12. Enzimatik Olmayan Antioksidanların İçsel Seviyelerinin Belirlenmesi

Enzimatik olmayan antioksidanların (glutasyon, askorbat) içsel seviyelerindeki değişimler belirlenerek antioksidan savunma sistemindeki çeşitli farklılar açığa çıkarılacaktır.

3.12.1. Glutatyon (GSH) içeriğinin belirlenmesi

Glutatyon içeriği spektrofotometrik olarak Griffith (1980) yöntemine göre belirlenir. Glutatyon içeriğini belirlemek için gerekli reaksiyon karışım: (GSH+GSSG) 250 mM K_2HPO_4/KH_2PO_4 (pH 7,5), 200 μ M NADPH, 600 μ M DTNB, 25 μ l ekstrakt ve 0,3 U GR içerir. Karışımın 412 nm’de absorbanstaki değişimi 3 dakika boyunca ölçülür. GSSG içeriğini belirlemek için 25 μ l ekstrakt 2-vinylpyridine ile 25°C’de 1,5 saat boyunca inkübasyona bırakılır. Glutatyon konsantrasyonu 0-5 μ M konsantrasyonlarda GSH’ın kullanılmasıyla elde edilen standart grafik üzerinden hesaplanır.

3.12.2. Askorbik asit (ASC) içeriğinin belirlenmesi

Askorbik asit (ASC) içeriğinin belirlenmesi için hazırlanacak karışım için: 250 mg yaprak dokusu 10 ml %6 TCA içerisinde homojenize edilir. Homojenatın 4 ml’ lik kısmı 2 ml %2’ likdinitrofenilhidrazin (asit ortam) ile karıştırılır. Ardından üzerine 1 damla %10’ lukthioüre (%70 lik etil alkolde çözülmüş) katılır. Karışım ısıtma ve soğuma işlemlerine tabi tutulur. Bunun için karışım 15 dakika su banyosunda kaynatıldıktan ve oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra örnek üzerine, 0 °C’ deki 5 ml % 80 (v/v) H_2SO_4 ilave edilir. Son olarak karışımın 530 nm’ daki absorbans değeri belirlenir. Askorbik asitin konsantrasyonu standart grafikten hesaplanır (Mukherjee and Choudhuri 1983).

3.13. Oksidatif stress parametrelerinin belirlenmesi

Araştırmamızda, oksidatif stres parametreleri üzerine taurin uygulamasının ne gibi etkileri olduğu da araştırılmıştır. Bunun için, hücre zarı hasarı (lipid peroksidasyon), reaktif oksijen türü miktarları tespit edilerek, elde edilen diğer veriler ile ilişkilendirilmiştir.

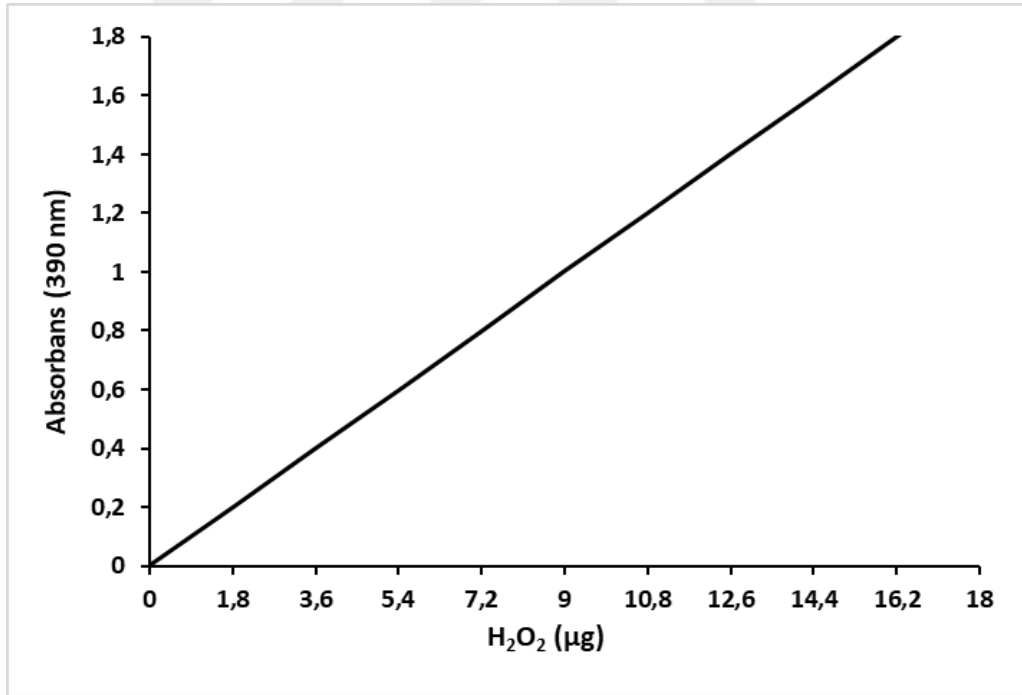
3.13.1. Lipid peroksidasyon miktarının belirlenmesi

Bitkiden 0.5 g doku alınır ve 10 mL % 0.1 lik TCA (trikloro asetik asit) içinde homojenize edilir, ardından homojenat 15.000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilir. İşlem sonucunda elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 250 μ l %0.5 lik TBA çözeltisi ilave edilir. Reaksiyon karışımı 30 dakika kaynar suda inkübe edilir. Tüplerin buz banyosuna alınmasıyla reaksiyon durdurulur. Sonra örnekler

10000 rpm‘ de 10 dakika santrifüj edilir ve süpernatant kısmı alınır. Bu süpernatant 532 nm absorbans değeri ve 600 nm deki non-spesifik absorpsiyon için absorbans değeri kaydedilir. Lipid peroksidasyonun hesaplanması için; 532 nm’de ölçülen absorbans değerinden 600 nm’de belirlenen değeri çıkarılır ve 1 ml çözeltideki MDA (nmol/μl): $[(A_{532}-A_{600})/155000] \times 106$ formülüyle hesaplanır. Sonuçlar MDA (nmol/gram doku) şeklinde verilir (Heath and Packer 1968).

3.13.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Bitkiden 0.5 gram doku alınarak 5 mL soğuk % 0,1 TCA homojenize edilir, ardından homojenat 12 000 x g’de 15 dakika santrifüj edilir. İşlem sonucunda elde edilen süpernatantın 0.5 mL’sine 0.5 mL 10 mM KH₂PO₄ (pH: 7.0) tamponundan ve 1mL KI eklenir. Absorbans değerleri 390 nm’de ölçülüp kaydedilir. Sonuçlar H₂O₂ ile hazırlanan standart grafik (Şekil 3.3) oranlanarak gram doku başına düşen H₂O₂ miktarı (μmol/g yaprak) olarak hesaplanır (Velikova *et al.* 2000).



Şekil 3.3. H₂O₂ içeriği hesaplama standart grafiği

3.13.3. Süperoksit (O₂⁻) içeriğinin belirlenmesi

Bitki yapraklarından 0,4 gram doku alınır, 2 ml 50 mM potasyum fosfat tamponunda (pH: 7,8) homojenize edilir. Homojenat 10000 rm’ de 10 dakika santifüj

edilir, ardından süpernatanttan 0,5 ml alınarak üzerine 0,5 ml 50 mM potasyum fosfat (pH: 7,8) tamponundan eklenir. Sonrasında karışıma 0,1 ml 10 mMhidroksilaminhidroklorid eklenir ve karıştırılır. Karışım 1 saat 25 °C’ de inkübe edilir, sonra üzerine 1 ml 17 mM sülfonamid ve 1 ml 7 mM α -naftilamin eklenip oda sıcaklığında tekrar 20 dakika inkübasyona bırakılır. Ardından 530 nm’ de spesifik absorbans değerleri belirlendikten sonra süperoksit anyonu içeriğini hesaplamak için sodyum nitrit kullanılarak standart grafik hazırlanır. Sonuçlar nmol.min⁻¹.g-1 doku olarak belirlenir (Eltner and Heupel 1976).

3.14. Bitki Element İçeriğinin Belirlenmesi

Bitkilerin kök ve gövdelerindeki Cd alımı ve taşınımının uygulamalara göre nasıl değiştiğini belirlemek amacı ile kurutulmuştur. Bitki örnekleri her grup ayrı olacak şekilde HPLS cihazında analiz edilmiştir.

3.15. İstatistik analiz

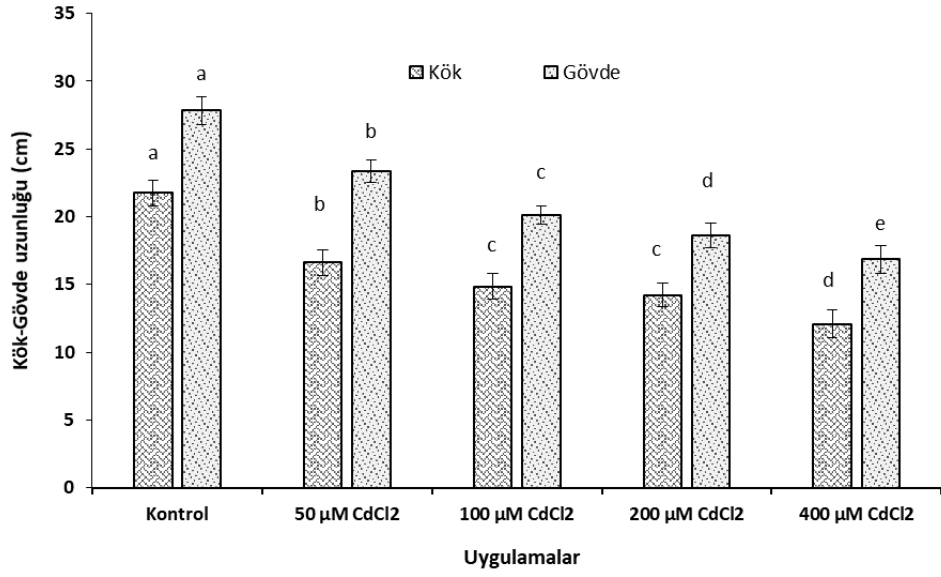
Bu araştırmada her uygulamadan üç tekrar ve her bir tekrarın 2 tekerrürü yapılmıştır. Bu denemelerden elde edilen verilerin ortalaması alınması ile ortalama değerler elde edilmiştir. Çalışma verilerinin varyans analizi (ANOVA), SPSS 20 istatistik programı ile yapılmıştır. Uygulama grupları arasındaki farklıların belirlenmesinde de aynı istatistik programında Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ($P<0.05$) kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmamızda kadmiyum ve taurin en uygun konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla literatür verileri dikkate alınarak ön deneyler yapılmıştır. Uygulanacak uygun kadmiyum konsantrasyonunu belirlemek için; 50, 100, 200, 400 μM CdCl_2 konsantrasyonlarına karar verilirken, uygulanacak uygun taurinkonsantrasyonunu belirlemek için; 2,4,8,16 mM taurin konsantrasyonlarına karar verilmiştir. Yapılan ön deneyde kadmiyum için en uygun konsantrasyonun 100 μM CdCl_2 konsantrasyonuna karar verilmiştir. Uygun taurin konsantrasyonu için yapılan deneyde en iyi sonuçları aldığımız minimum konsantrasyonun 2 mM taurin olmuştur, bunun yanı sıra ana deneyde 1 mM eklemeye karar verilmiştir.



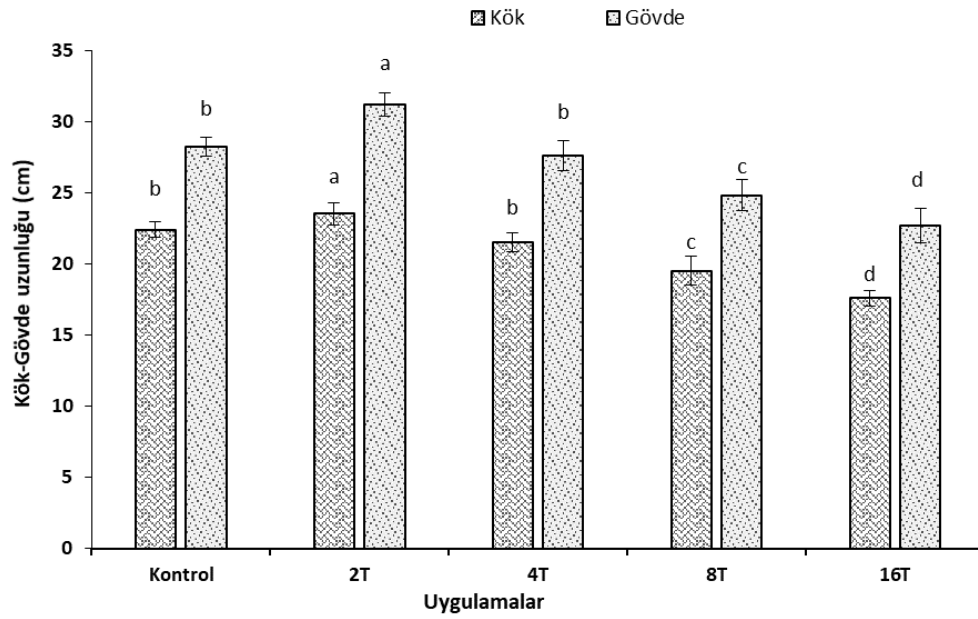
Şekil 4.1. Uygun kadmiyum konsantrasyonlarının belirlenmesi için ön çalışma



Şekil 4.2. Uygun kadmiyum konsantrasyonlarının belirlenmesi için ön çalışma



Şekil 4.3. Uygun taurin konsantrasyonlarının belirlenmesi için ön çalışma



Şekil 4.4. Uygun taurin konsantrasyonlarının belirlenmesi için ön çalışma

4.1. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Kök Gövde Büyümesi Üzerine Etkisi

Kadmiyum uygulaması bitkilerde gerek kendisi stres yaratarak gerekse oksidatif strese neden olarak büyüme inhibisyonuna sebep olmaktadır. Mevcut çalışmamızda bu bilgiye paralel olarak; kontrol grubuna kıyasla yalnız kadmiyum uygulaması köklerde yaklaşık % 31, gövdede ise yaklaşık %27 gibi ciddi bir azalma kaydedilmiştir. Kadmiyum stresine karşı iyileştirme etkisini incelemek için kadmiyumla birlikte uygulanan taurin: yalnız kadmiyum uygulanan stres grubuna oranla köklerde Cd+1T grubunda yaklaşık %22, Cd+2T grubunda ise yaklaşık %25; gövdede Cd+1T grubunda yaklaşık %22, Cd+2T grubunda ise %17'lik bir artış görülmüştür. Bunlara ek olarak stessiz koşullarda taurin uygulaması bitkilerde kontrol grubuna kıyasla köklerde: 1T (1 mM Taurin) grubunda %11, 2T (2 mM Taurin) grubunda ise %21, gövdede ise 1T grubunda %5, 2T grubunda %15'lik bir artış kaydedilmiştir.



Şekil 4.5. Hasat günü bitkilerin genel görünümü

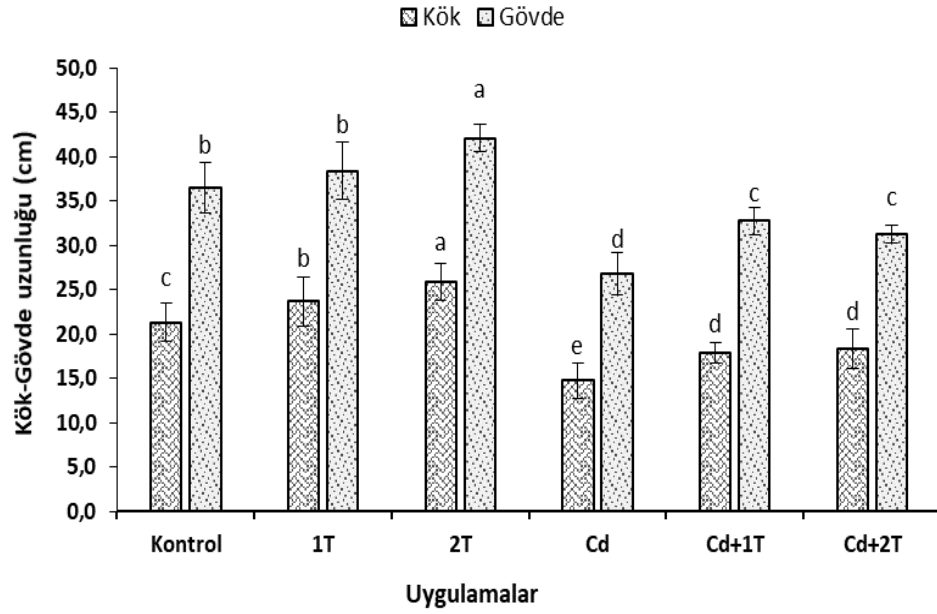


Şekil 4.6. Hasat edilen mısır bitkilerinin genel görünümü.

Çizelge 4.1. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fideleri kök ve gövde uzunluklarına etkisi

Uygulamalar	Kök uzunluğu (cm)	Gövde uzunluğu (cm)
Kontrol	21,3 ± 2,1c*	36,5 ± 2,8b*
1T	23,6 ± 2,8b	38,4 ± 3,3b
2T	25,8 ± 2,1a	42,1 ± 1,6a
Cd	14,7 ± 2,0e	26,8 ± 2,4d
Cd+1T	17,9 ± 1,1d	32,7 ± 1,6c
Cd+2T	18,4 ± 2,2d	31,3 ± 1,0c

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.7. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fideleri kök-gövde uzunluklarına etkisi

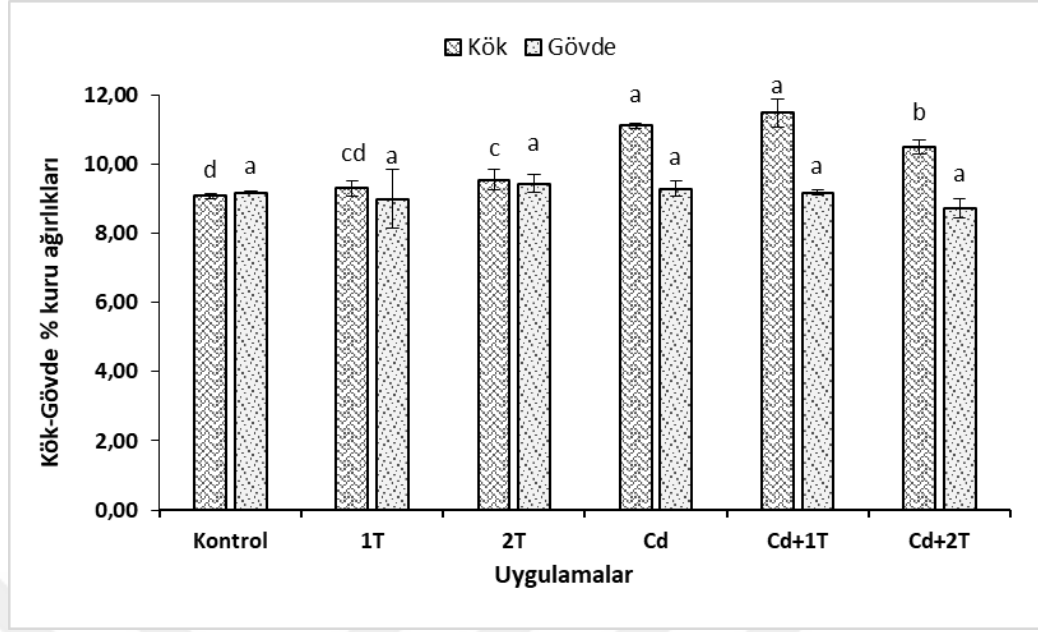
4.2. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Kuru Ağırlığı Üzerine Etkisi

Kontrol grubuna göre yalnız kadmiyum uygulaması kök kuru ağırlığında yaklaşık %22 artış gösterirken gövdede istatistiksel olarak önemli bir artış kaydedilmemiştir. Bitki köklerinde Cd+2T uygulaması yalnız Cd uygulamasına kıyasla yaklaşık %6'lık bir artış görülmüşken gövdede ise istatistiksel olarak önemli bir artış kaydedilmemiştir. Kontrol grubuna kıyasla kökte 1T ve 2T grubunda yaklaşık %5, 'lık bir artış kaydedilmiştir. Gövdede kontrole kıyasla Cd grubu artış göstermiş olsada bu artış istatistiksel olarak önemli değildir.

Çizelge 4.2. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin kök-gövde kuru ağırlıklarına etkisi

Uygulamalar	Kök kuru ağırlık (%)	Gövde kuru ağırlık (%)
Kontrol	9,07 ± 0,07d*	9,17 ± 0,04a*
1T	9,30 ± 0,23cd	8,99 ± 0,84a
2T	9,54 ± 0,30c	9,43 ± 0,25a
Cd	11,10 ± 0,07a	9,28 ± 0,22a
Cd+1T	11,48 ± 0,41a	9,17 ± 0,07a
Cd+2T	10,49 ± 0,21b	8,71 ± 0,28a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.8. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin kök-gövde kuru ağırlıklarına etkisi

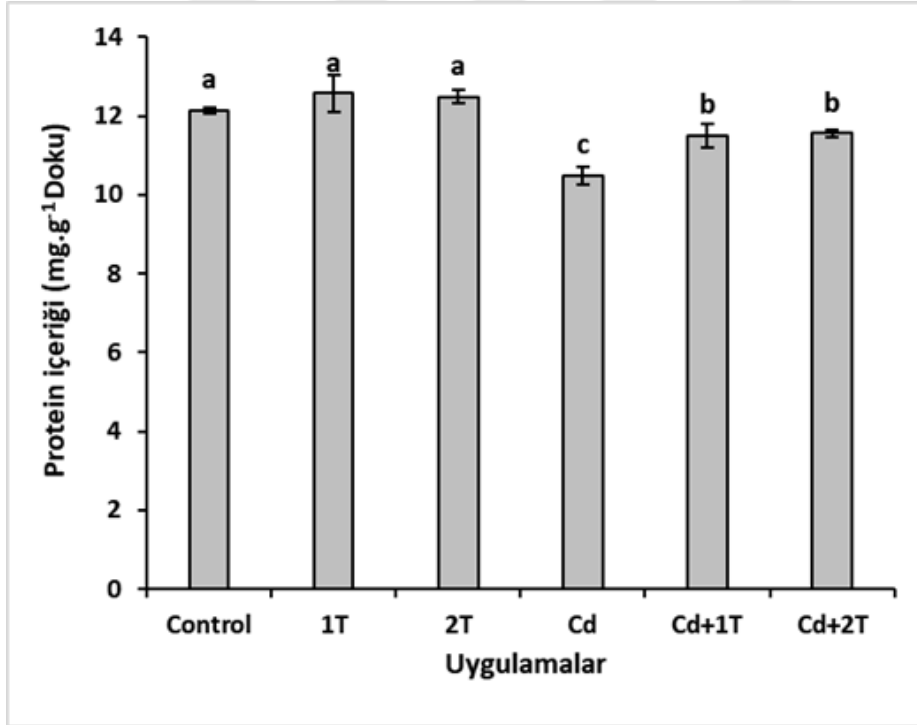
4.3. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Çözünabilir Protein Üzerine Etkisi

Kontrol bitkisine kıyasla Cd uygulaması mısır fidelerinde çözünabilir protein içeriğinde %14'lik bir düşüş kaydedilmiştir. Bunun yanında Cd+1T ve Cd+2T gruplarında yalnız Cd uygulanan gruba göre yaklaşık olarak %10'luk bir artış kaydedilmiştir. Yalnız taurin uygulaması kontrol grubuna göre çözünabilir içeriğinde bir artış yapmıştır fakat bu artış istatistiksel olarak önemli değildir.

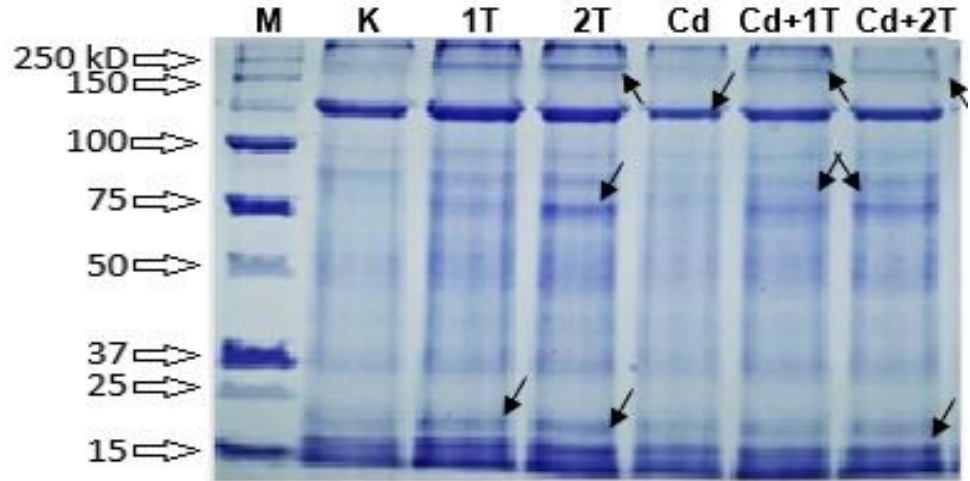
Çizelge 4.3. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde çözünebilir protein içeriğine etkisi

Uygulamalar	Çözünebilir Protein İçeriği (mg.g ⁻¹ Doku)
Kontrol	12,15 ± 0,07a*
1T	12,57 ± 0,47a
2T	12,48 ± 0,16a
Cd	10,49 ± 0,23c
Cd+1T	11,51 ± 0,30b
Cd+2T	11,55 ± 0,10b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $p < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.9. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde çözünebilir protein içeriğine etkisi



Şekil 4.10. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde toplam protein içeriği

4.4. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Klorofil *a*, *b*, Karoteoid ve Toplam Klorofil İçeriği

Kontrol grubuna göre Cd uygulaması klorofil *a* içeriğinde %17'lik düşüş görülürken, yalnız taurin uygulaması 1T grubunda %6'lık ve 2T grubunda %23'lük artışlar kaydedilmiştir. Stres grubu olan yalnız Cd uygulanan gruba göre Cd+1T grubunda %25, Cd+2T grubunda ise %30'luk artışlar görülmektedir.

Kontrol grubuna göre Cd uygulaması klorofil *b* içeriğinde %5'lik düşüş görülmüştür. Sadece taurin uygulaması kontrol grubuna göre 1T grubunda %5'lik ve 2T grubunda %38'lik artışlar kaydedilmiştir. Yalnız Cd uygulanan gruba göre Cd+1T grubunda %18, Cd+2T grubunda ise %26'lik artışlar kaydedilmiştir.

Toplam klorofil içeriği kontrol grubuna göre Cd grubunda %13'lük bir düşüş görülmüştür. Taurin uygulaması bitkilerde kontrole kıyasla 1T grubunda %18, 2T grubunda %32'lik artış göstermiştir. Kadmiyumun sebep olduğu düşüşler taurin uygulamasıyla belli oranda hafifletilmiştir. Cd grubuna kıyasla total klorofil içeriğinde Cd+1T grubunda %22, Cd+2T grubunda %22 artış kaydedilmiştir.

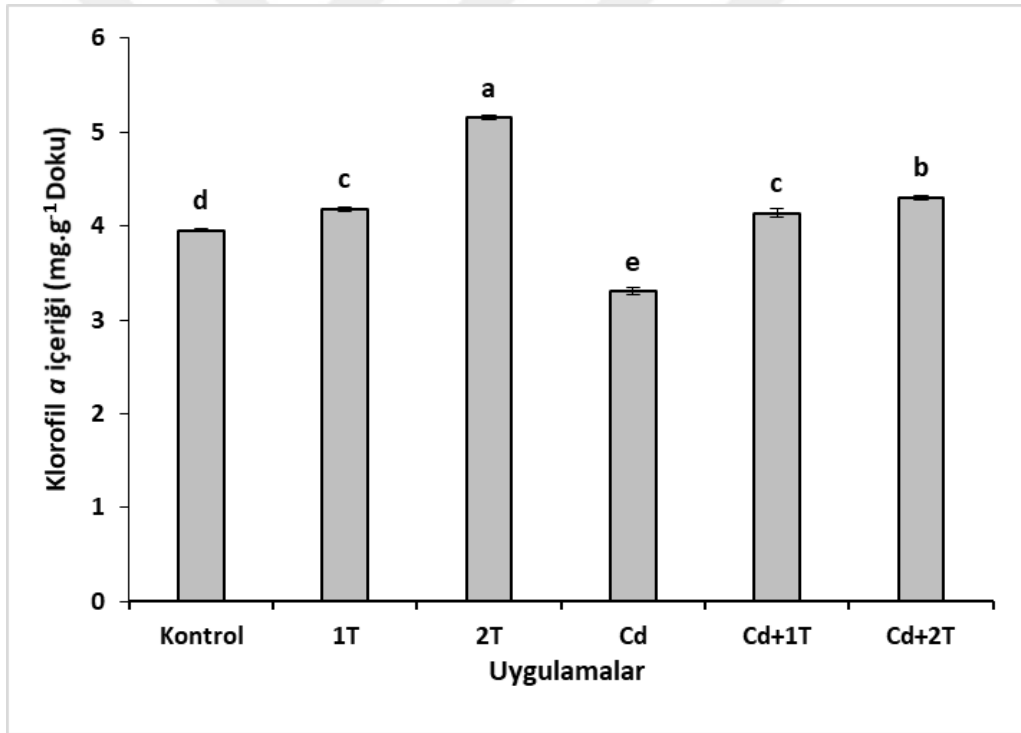
Kadmiyum uygulaması mısır bitkisinde karotenoid içeriğinde %11'lik düşüşe neden olmuştur. Kadmiyuma ilave olarak taurin uygulanması Cd+1T grubunda %21, Cd+2T grubunda ise %32'lik artış sağlamıştır. Stressiz durumda da taurin uygulaması

kontrole kıyasla bitkide karotenoid içeriğinde 1T grubu %3, 2T grubu ise %33 gibi önemli bir artışa sebep olmuştur.

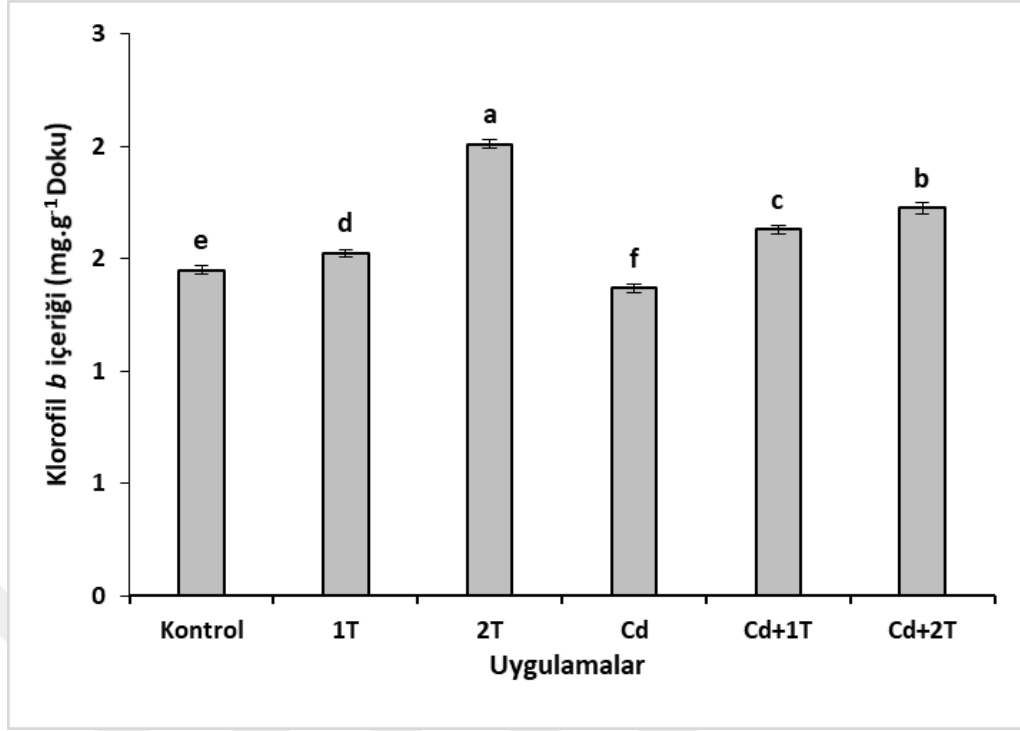
Çizelge 4.4.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin pigment içerikleri üzerine etkisi

Uygulamalar	Klorofil <i>a</i> İçeriği mg. g ⁻¹ doku	Klorofil <i>b</i> İçeriği mg. g ⁻¹ doku	Toplam Klorofil İçeriği mg. g ⁻¹ doku	Karotenoid İçeriği mg. g ⁻¹ doku
Kontrol	3,96 ± 0,02d*	1,45 ± 0,02e*	5,42 ± 0,04e*	0,84 ± 0,01e*
1T	4,18 ± 0,03c	1,52 ± 0,02d	6,40 ± 0,08b	0,87 ± 0,01d
2T	5,15 ± 0,03a	2,01 ± 0,02a	7,16 ± 0,05a	1,13 ± 0,01a
Cd	3,30 ± 0,04e	1,37 ± 0,02f	4,71 ± 0,02f	0,75 ± 0,01f
Cd+1T	4,14 ± 0,05c	1,63 ± 0,02c	5,77 ± 0,07d	0,91 ± 0,02c
Cd+2T	4,31 ± 0,02b	1,73 ± 0,03b	6,05 ± 0,03c	0,99 ± 0,01b

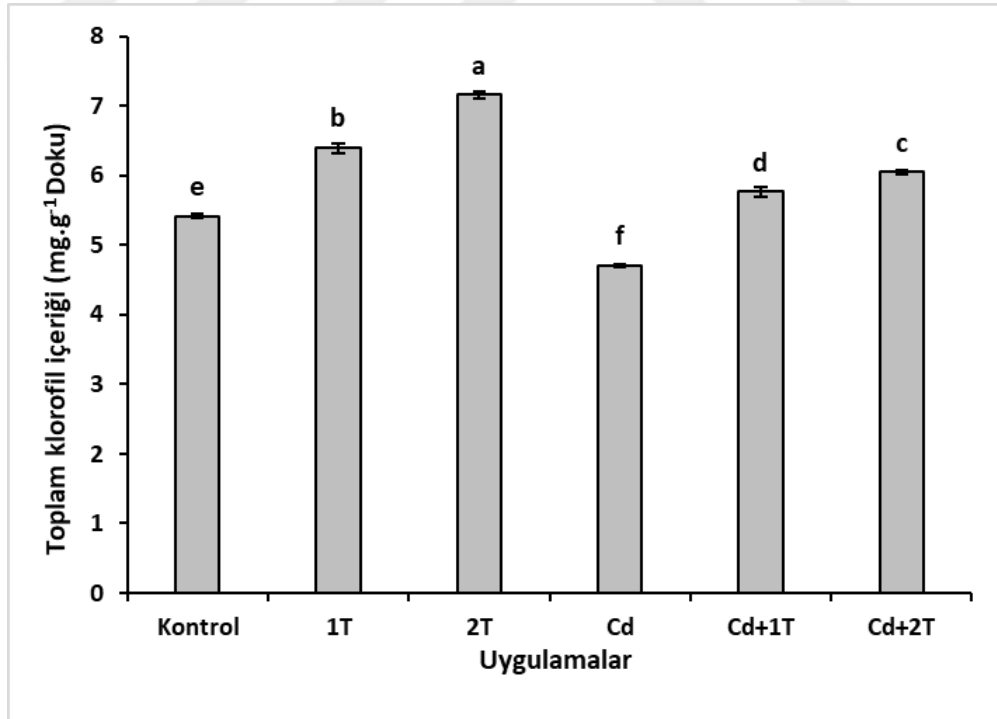
* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



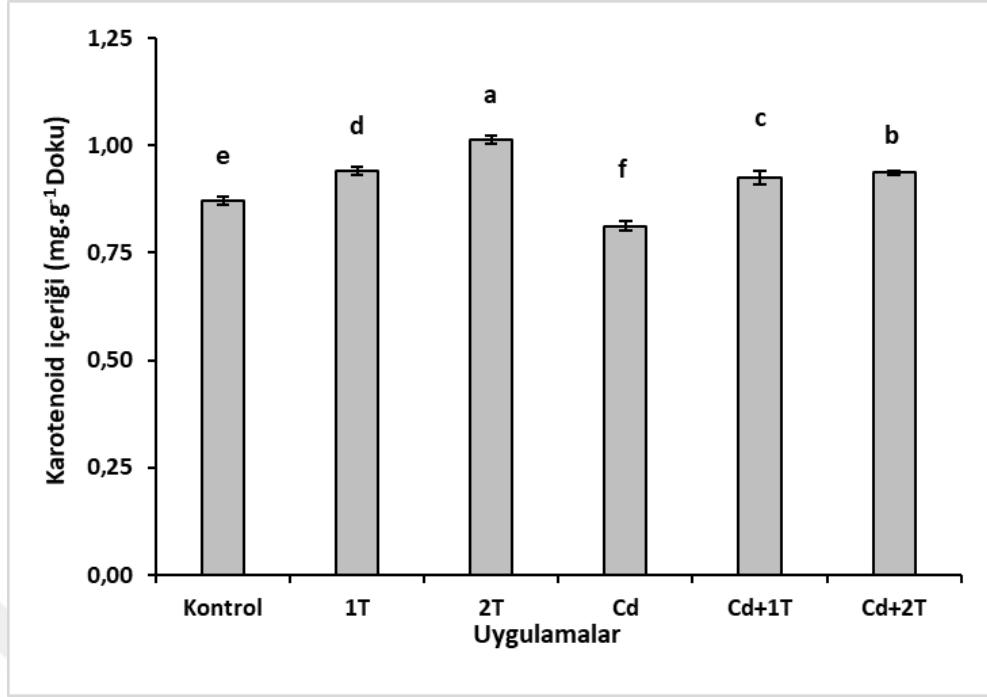
Şekil 4.11.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin klorofil *a* içeriği üzerine etkisi



Şekil 4.12.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin klorofil *b* içeriği üzerine etkisi



Şekil 4.13.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin toplam klorofil içeriği üzerine etkisi



Şekil 4.14. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinin karotenoid içeriği üzerine etkisi

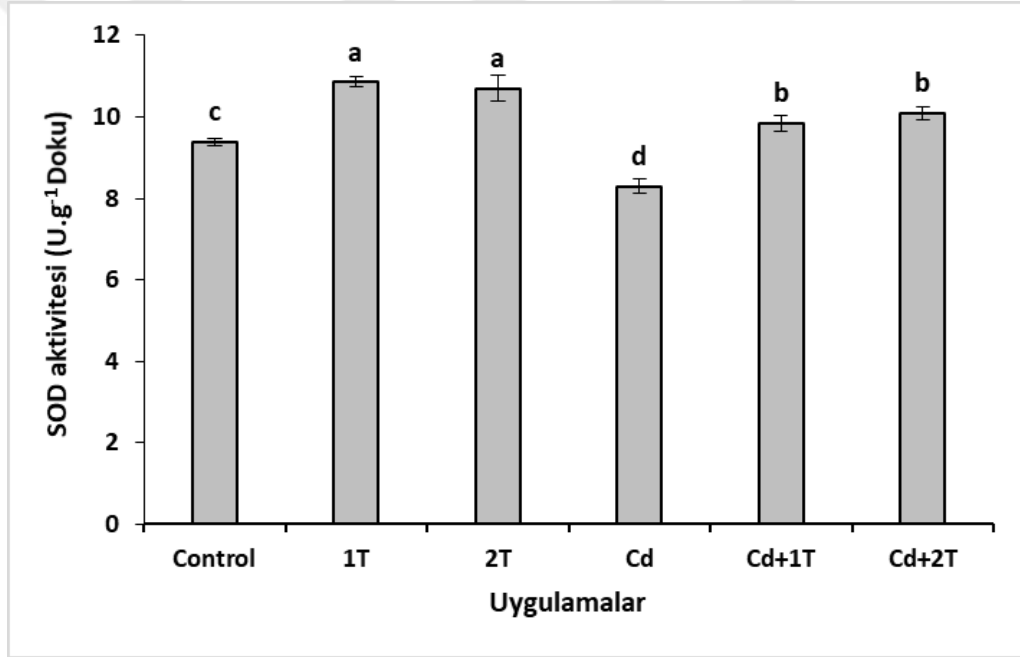
4.5. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin SOD Aktivitesi Üzerine Etkisi

Kadmiyum uygulaması SOD aktivitesinde kontrol grubuna göre %11’lik düşüş yapmıştır. Uygulanan taurin kadmiyumun bu etkisini hafifleterek; Cd grubuna göre Cd+1T grubunda %19, Cd+ 2T grubunda ise %21’lik artış göstererek etki etmiştir. Ek olarak yalnız taurin uygulaması SDO aktivitesini, kontrol bitkisine kıyasla 1T grubunda %16, 2T grubunda ise %14 artırmıştır.

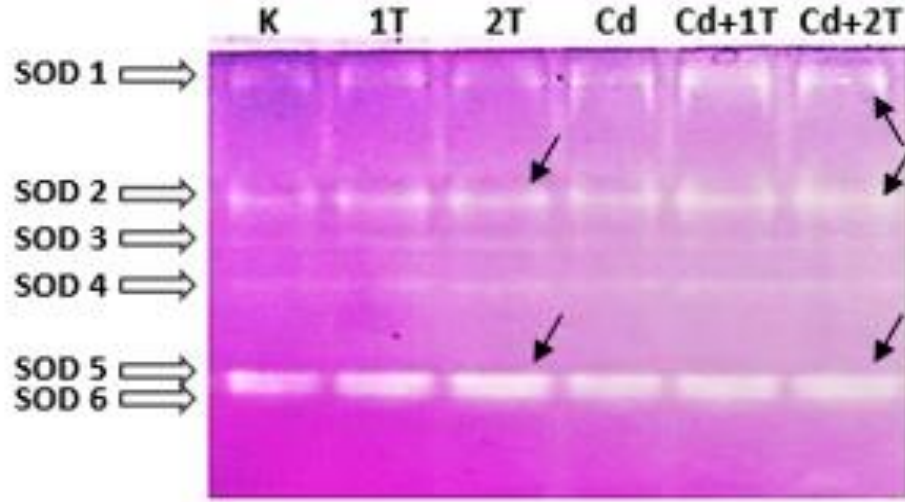
Çizelge 4.5. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde SOD aktivitesi üzerine etkisi

Uygulamalar	SOD aktivitesi (U.mg protein ⁻¹)
Kontrol	9,38 ± 0,08c*
1T	10,85 ± 0,13a
2T	10,70 ± 0,32a
Cd	8,30 ± 0,19d
Cd+1T	9,85 ± 0,19b
Cd+2T	10,08 ± 0,17b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.15. Taurin uygulamasının mısır bitkilerinde SOD aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 4.16. Taurin uygulamasının mısır bitkilerinde SOD aktivitesi üzerine etkisinin izoenzim görüntüsü

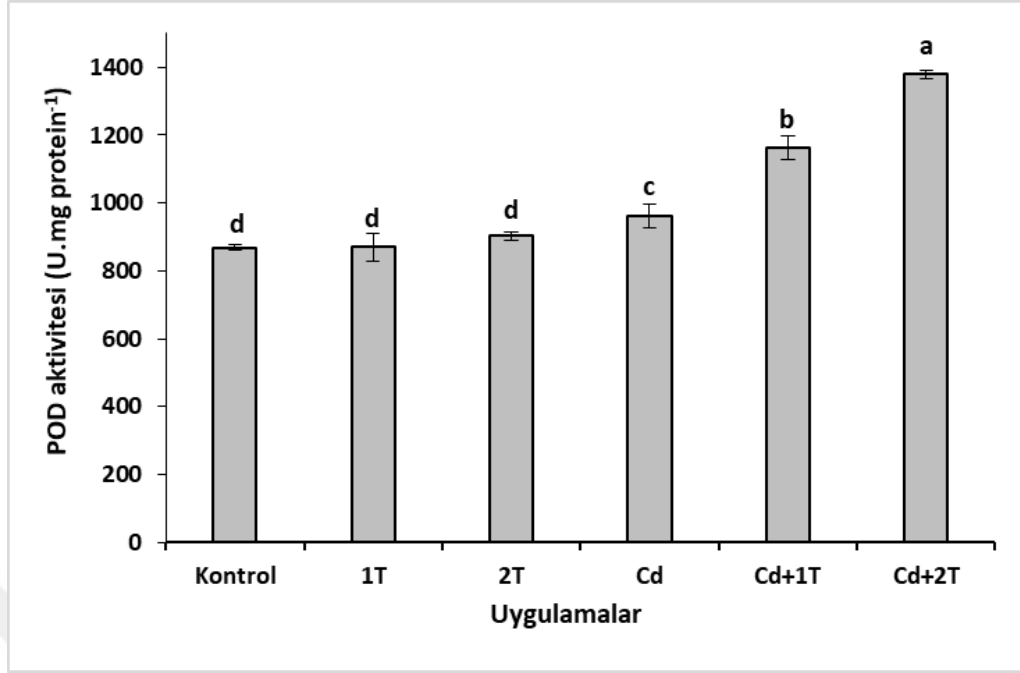
4.6. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin POD Aktivitesi Üzerine Etkisi

Kadmiyum uygulaması mısır bitkisinde kontrol grubuna göre POD aktivitesinde %10'luk bir artış göstermiştir. Buna ek olarak Cd grubuna göre Cd+1T grubunda %21, Cd+2T grubunda da %43'luk artışlar kaydedilmiştir. Taurin uygulaması kontrol grubuna göre artış göstermiştir fakat bu artış istatistiksel olarak önemli değildir.

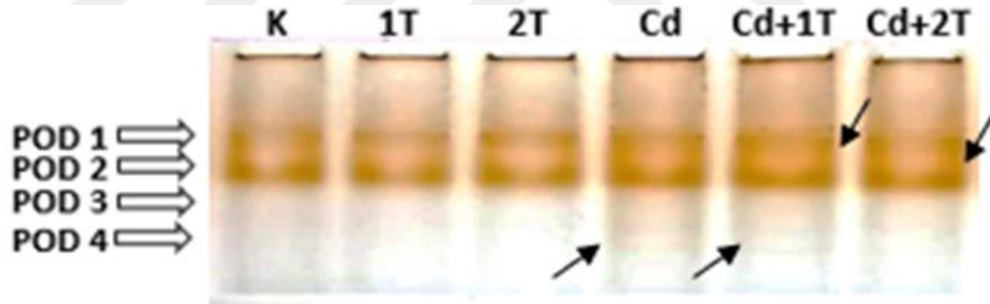
Çizelge 4.6. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde POD aktivitesi üzerine etkisi

Uygulamalar	POD aktivitesi (U.mg protein ⁻¹)
Kontrol	869 ± 9d*
1T	870 ± 40d
2T	902 ± 12d
Cd	963 ± 36c
Cd+1T	1162 ± 35b
Cd+2T	1379 ± 13a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.17. Taurinuygulamasının mısır bitkilerinde POD aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 4.18. Taurinuygulamasının mısır bitkilerinde POD aktivitesi üzerine etkisinin izoenzim görüntüsü

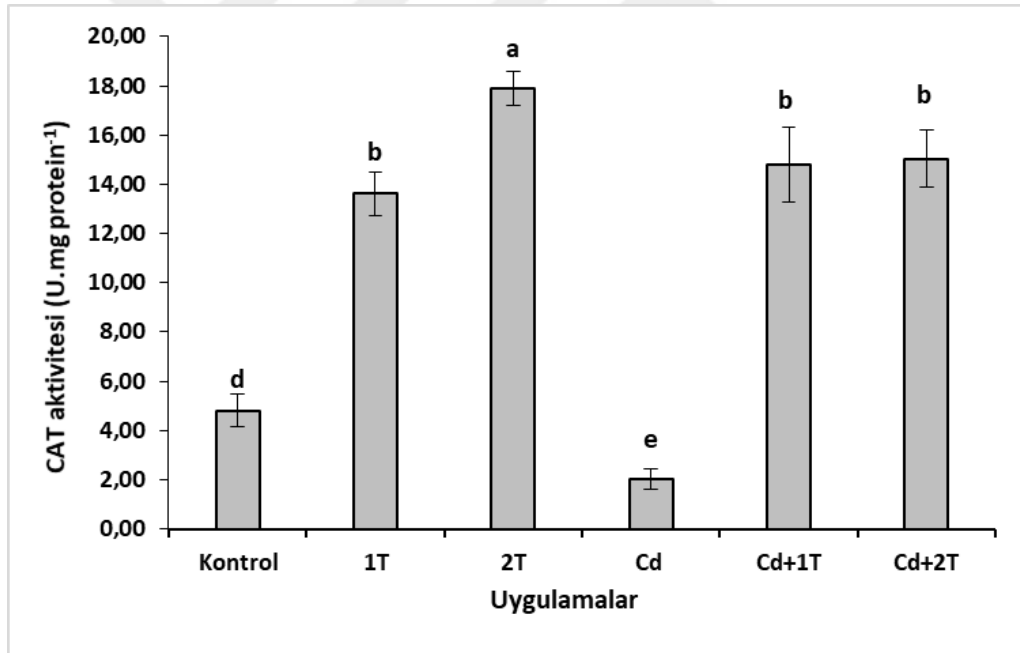
4.7. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin CAT Aktivitesi Üzerine Etkisi

Kadmiyum uygulaması mısır bitkisinde CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre % 58 gibi çok ciddi düşüşe neden olmuştur. Bunu yanında kadmiyum ile birlikte taurin uygulaması Cd grubuna kıyasla CAT aktivitesinde, Cd+1T ve Cd+2T gruplarında 7 kat daha fazla artış göstermiştir. Kontrol grubuna göre yalnız taurin uygulaması CAT aktivitesinde 1T grubunda yaklaşık 3 kat, 2T grubunda ise yaklaşık 4 kat gibi yüksek artışlar göstermiştir.

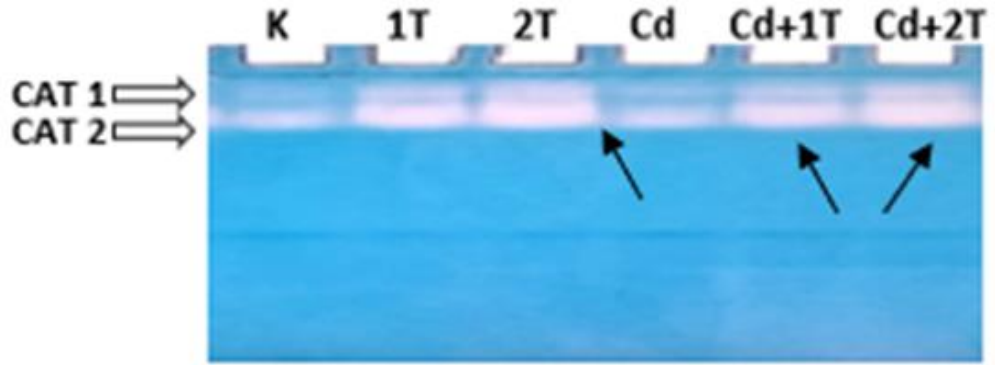
Çizelge 4.7. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisi

Uygulamalar	CAT aktivitesi U.mg protein ⁻¹
Kontrol	4,82 ± 0,65d*
1T	13,61 ± 0,88b
2T	17,90 ± 0,69a
Cd	2,03 ± 0,42e
Cd+1T	14,80 ± 1,50b
Cd+2T	15,05 ± 1,16b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.19. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 4.20. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisinin izoenzim görüntüsü

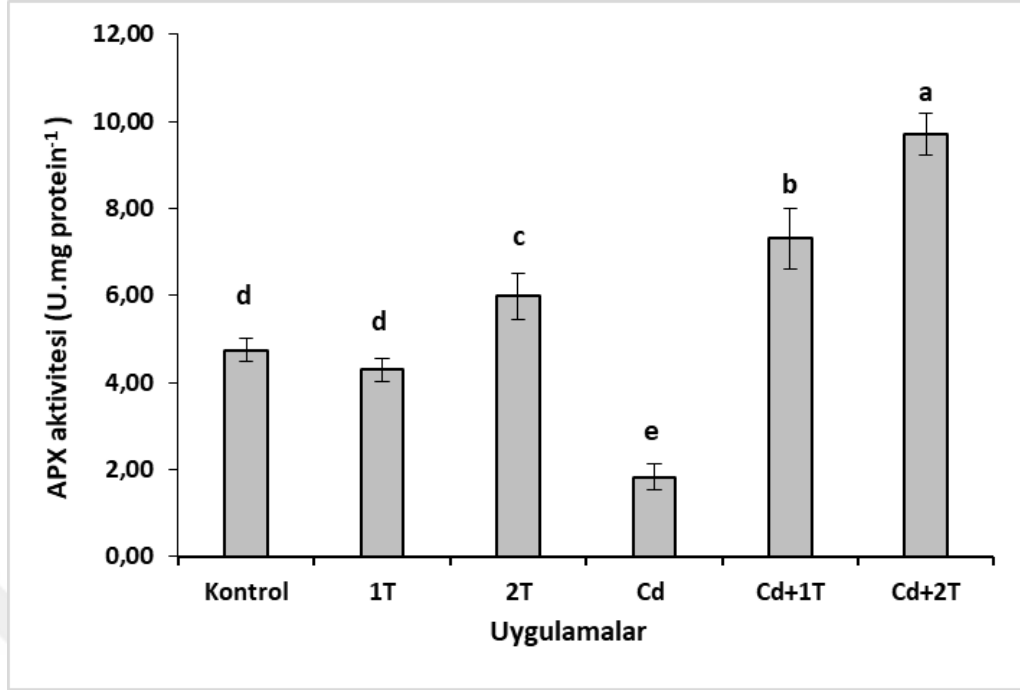
4.8. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin APX Aktivitesi Üzerine Etkisi

Kontrol grubuna göre kadmiyum uygulaması mısır bitkisinde aktivitesinde %61 oranında düşüş kaydedilmiştir. Mısır bitkisinde APX aktivitesinde Cd grubuna kıyasla Cd+1t grubunda yaklaşık 4 katı kadar, Cd+2T grubunda ise yaklaşık 5 katından daha fazla artış kaydedilmiştir. Kontrol grubuna 2T grubunda %26 oranında artış görülmüş olup 1T grubunda düşüş olmuş fakat bu düşüş istatiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

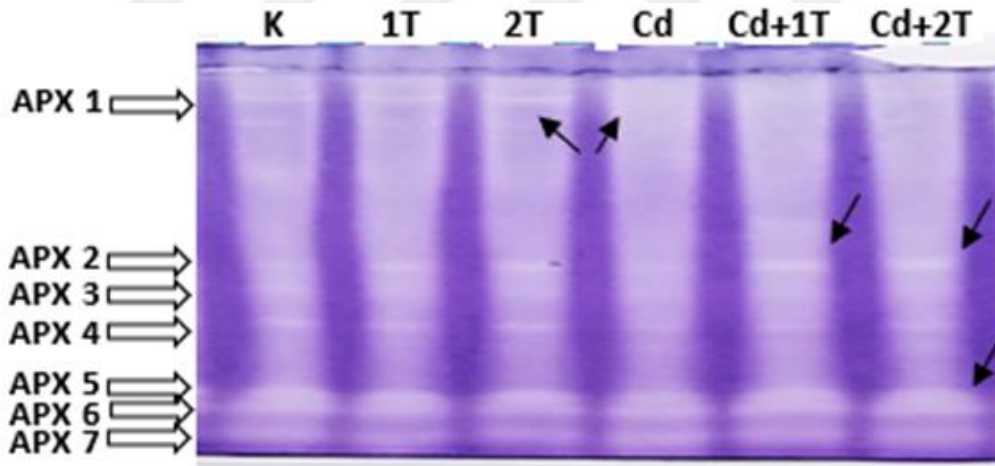
Çizelge 4.8.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde APX aktivitesi üzerine etkisi

Uygulamalar	APX aktivitesi (U.mg protein ⁻¹)
Kontrol	4,74 ± 0,27d*
1T	4,28 ± 0,27d
2T	5,98 ± 0,54c
Cd	1,83 ± 0,31e
Cd+1T	7,31 ± 0,70b
Cd+2T	9,69 ± 0,48a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.21. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 4.22. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde CAT aktivitesi üzerine etkisinin izoenzim görüntüsü

4.9. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin GR Aktivitesi Üzerine Etkisi

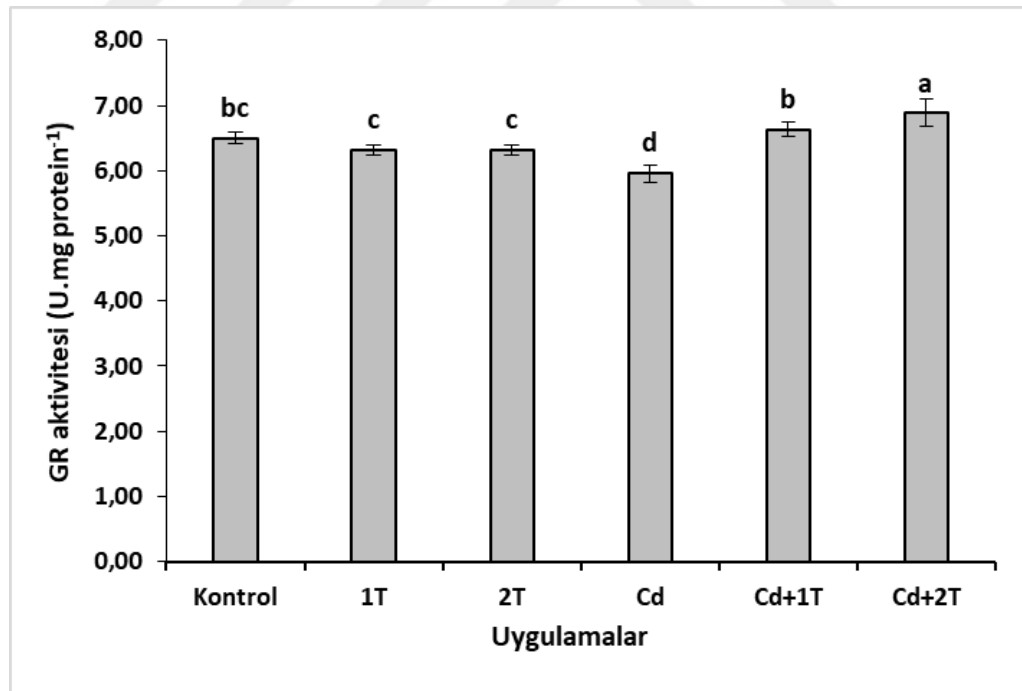
Kadmiyum uygulaması kontrol grubuna göre mısır bitkisinde GR aktivitesinde %8'lik düşüş kaydedilmiştir. Stres grubu olan Cd grubuna göre Cd+1T

grubu GR aktivitesinde %11, Cd+2T grubunda ise %15 artış kaydedilmiştir. Stressiz koşullarda uygulanan taurin GR aktivitesinde bir düşüş göstermiştir fakat bu düşüş istatistiksel olarak önemli değildir.

Çizelge 4.9.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde GR aktivitesi üzerine etkisi

Uygulamalar	GR aktivitesi U.mg protein ⁻¹
Kontrol	6,50 ± 0,09bc*
1T	6,32 ± 0,08c
2T	6,32 ± 0,09c
Cd	5,96 ± 0,13d
Cd+1T	6,64 ± 0,11b
Cd+2T	6,88 ± 0,21a

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.23.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde GR aktivitesi üzerine etkisi

4.10. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Askorbat ve GSH İçeriği Üzerine Etkisi

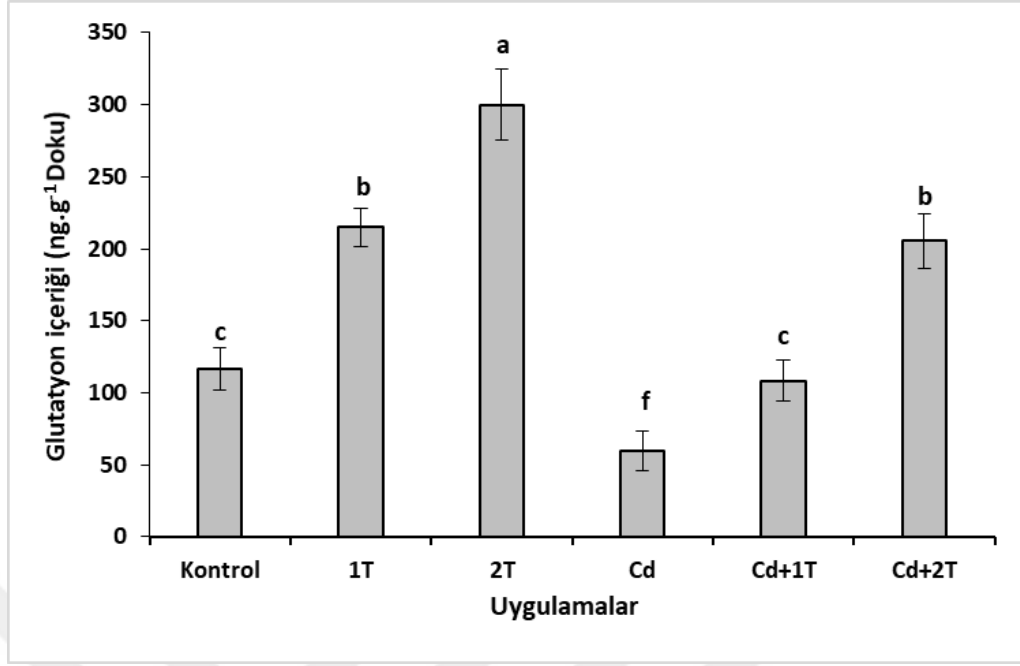
Kadmiyum uygulanan bitkilerde kontrole kıyasla askorbat içeriğinde %8 düşüş kaydedilmiştir. Kadmiyum ile birlikte taurin uygulaması askorbat içeriğinde Cd grubuna göre Cd+1T grubunda %18, Cd+2T grubunda ise %52 artış göstermiştir. Stressiz koşullarda taurin uygulaması askorbat içeriğinde düşüş göstermiş fakat bu düşüş istatistiksel olarak önemsizdir.

GSH içeriği ölçümünde kontrole kıyasla Cd %50 düşüş görülmüştür. Kadmiyumla birlikte taurin uygulamasıyla GSH içeriğinde Cd grubuna göre Cd+1T grubunda %83, Cd+2T grubunda ise üç buçuk katı artış kaydedilmiştir. Stressiz koşullarda kontrol grubuna kıyasla uygulanan 1T grubu iki katı, 2T grubu ise yaklaşık iki buçuk katı artış göstermiştir.

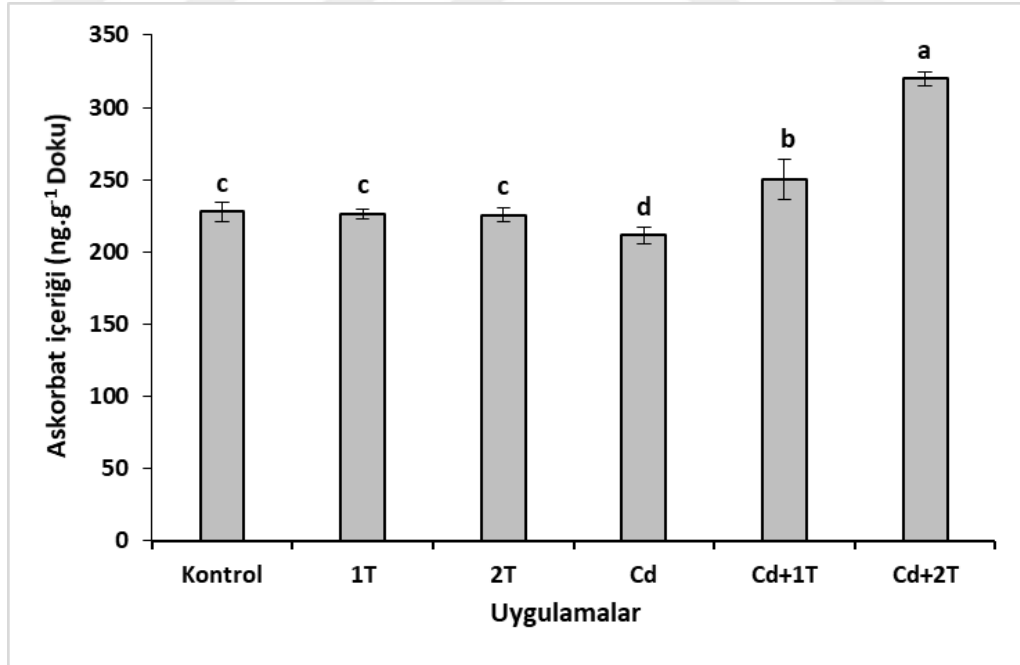
Çizelge 4.10.Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde askorbat ve GSH içeriği üzerine etkisi

Uygulamalar	Askorbat içeriği (ng.g ⁻¹ Doku)	GSH içeriği (ng.g ⁻¹ Doku)
Kontrol	228 ± 7c*	117 ± 14c*
1T	226 ± 3c	215 ± 13b
2T	225 ± 5c	300 ± 25a
Cd	211 ± 6d	59 ± 14f
Cd+1T	250 ± 14b	108 ± 14c
Cd+2T	320 ± 5a	205 ± 19b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.24. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde glutasyon içeriği üzerine etkisi



Şekil 4.25. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde askorbat içeriği üzerine etkisi

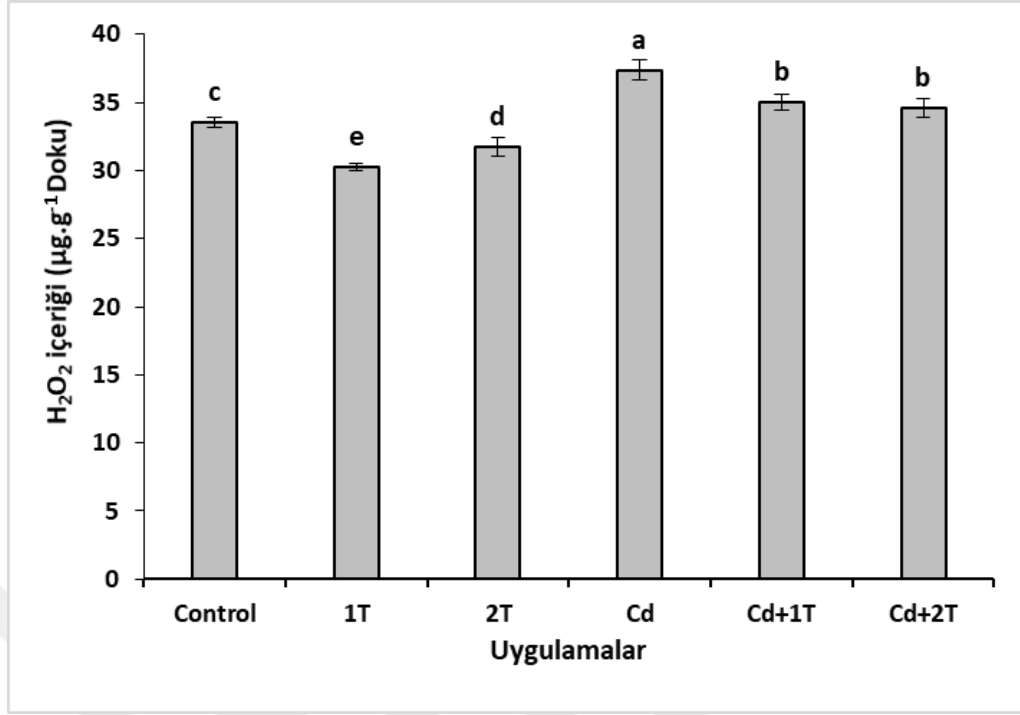
4.11. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin H₂O₂ İçeriği Üzerine Etkisi

Kadmiyum mısır bitkisinde kontrole kıyasla H₂O₂ içeriğinde %12 artışa neden olmuştur. Cd grubuna kıyasla H₂O₂ içeriğinde Cd+1T grubu %6, Cd+2T grubu ise %7 oranında düşüş kaydedilmiştir. Stressiz koşullarda uygulanan taurin 1T grubu kontrole göre %10, 2T grubu ise %5 oranında artış göstermiştir.

Çizelge 4.11. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde H₂O₂ içeriği üzerine etkisi

Uygulamalar	H ₂ O ₂ İçeriği (µg.g ⁻¹ Doku)
Kontrol	33,5 ± 0,38c*
1T	30,3 ± 0,24e
2T	31,7 ± 0,73d
Cd	37,4± 0,74a
Cd+1T	35,0 ± 0,61b
Cd+2T	34,6 ± 0,68b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.26. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde H₂O₂ içeriği üzerine etkisi

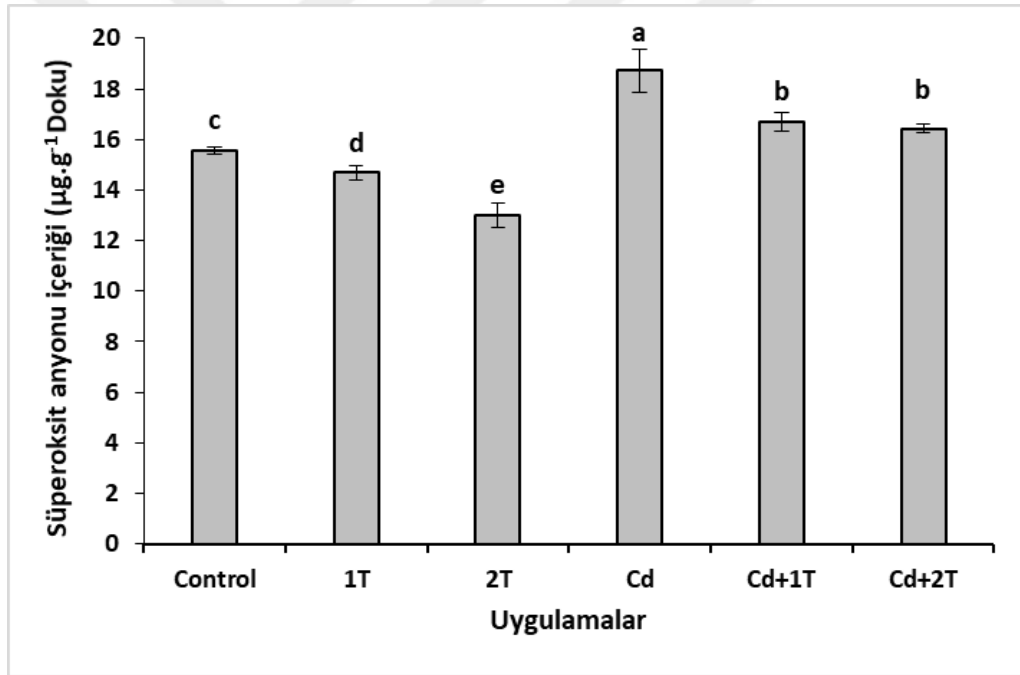
4.12. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Süperoksit Anyonu İçeriğine Etkisi

Süperoksit anyonu içeriği kontrol grubuna göre Cd uygulamasıyla %17 oranında artmıştır. Kadmiyum grubuna göre süperoksit içeriğinde Cd+1T grubu %11, Cd+2T grubu %12 oranında düşüş kaydedilmiştir. Stressiz koşullarda taurin uygulaması kontrole göre süperoksit içeriği 1T grubunda %6, 2T grubunda %16 oranında düşüş göstermiştir.

Çizelge 4.12. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde süperoksit anyonu içeriğine etkisi

Uygulamalar	Süperoksit anyonu içeriği ($\mu\text{g.g}^{-1}$ Doku)
Kontrol	$15,56 \pm 0,13\text{c}^*$
1T	$14,68 \pm 0,27\text{d}$
2T	$13,00 \pm 0,49\text{e}$
Cd	$18,72 \pm 0,84\text{a}$
Cd+1T	$16,68 \pm 0,36\text{b}$
Cd+2T	$16,44 \pm 0,15\text{b}$

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.27. Kadmiyum ve taurin uygulamasının mısır fidelerinde süperoksit anyonu içeriğine etkisi

4.13. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin MDA Miktarı Üzerine Etkisi

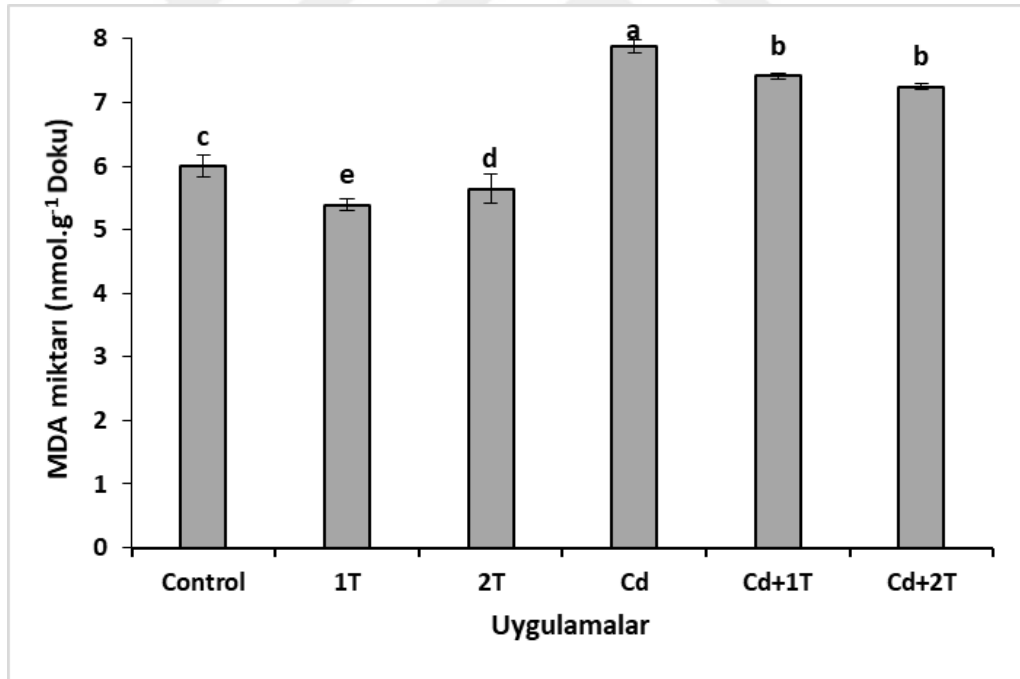
Kontrole göre kadmiyum uygulaması mısır bitkisinde MDA miktarını %32 oranında artırmıştır. Kadmiyuma kıyasla MDA miktarı Cd+1T uygulaması %6, Cd+2T uygulaması %8 oranında düşüş göstermiştir. Stressiz koşullarda taurin

uygulaması MDA miktarında 1T grubunda %10, 2T grubunda ise %6'lık düşüş göstermiştir.

Çizelge 4.13.Taurin uygulamasının mısır fidelerinde MDA miktarı üzerine etkisi

Uygulamalar	MDA miktarı (nmol.g ⁻¹ Doku)
Kontrol	5,99 ± 0,17c*
1T	5,39 ± 0,09e
2T	5,64 ± 0,24d
Cd	7,89 ± 0,11a
Cd+1T	7,41 ± 0,05b
Cd+2T	7,25 ± 0,04b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar P < 0.05 önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.28. Taurin uygulamasının mısır fidelerinde MDA miktarı üzerine etkisi

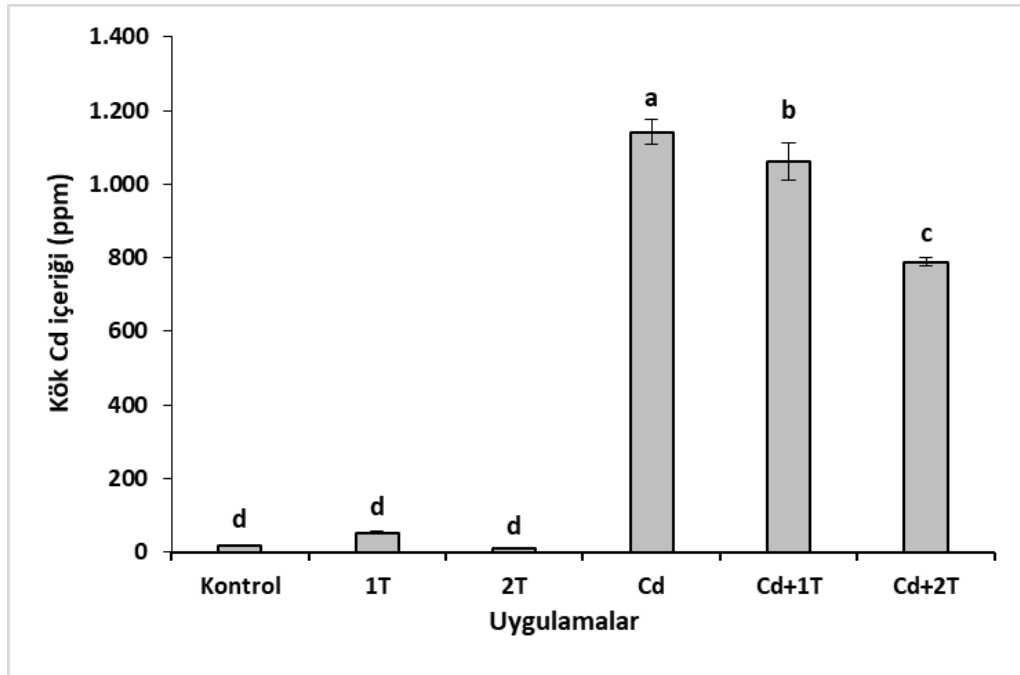
4.14. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Element İçeriği Üzerine Etkisi

Mısır bitkisi köklerinde Cd element içeriği kontrol grubunda 18 ppm iken kadmiyum uygulamasıyla bu miktar 1142 ppm seviyesine çıkmıştır. Cd grubuna kıyasla Cd+2T grubunda bu miktar 788 ppm'e gerileterek yaklaşık %31 oranında köklerde kadmiyum alımını azaltmıştır. Cd grubuna kıyasla Cd+1T grubunda Cd miktarı 1062 ppm seviyesiyle %7 oranında düşüş göstermiştir.

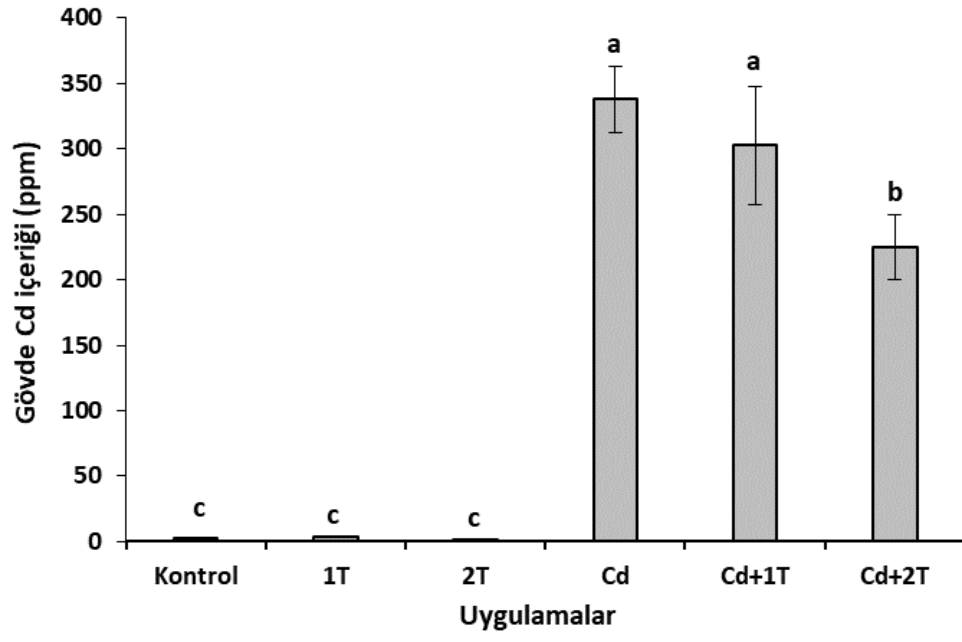
Çizelge 4.14. Mısır fidelerinde Cd birikimi ve taurinin Cd birikimine etkisi

Uygulamalar	Kökte Cd miktarı	Gövdede Cd miktarı
Kontrol	18±0,4d*	3±0,2c
1T	52±3d	4±0,05c
2T	9±0,2d	1±0,06c
Cd	1142±34a	338±24a
Cd+1T	1062±51b	303±44a
Cd+2T	788±11c	225±24b

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.29. Mısır fidelerinde Cd birikimi ve taurinin Cd birikimine etkisi (köklerde)



Şekil 4.30. Mısır fidelerinde Cd birikimi ve taurinin Cd birikimine etkisi (gövdede)

5. TARTIŞMA

Kültür bitkilerinde çeşitli stres faktörlerinden dolayı ciddi verim kayıpları meydana gelebilir. Şu anda dünya çapında yaygın olarak yetiştirilmekte ve küresel gıda sistemi için çok önemli bir ürün olan mısır bitkisinde verim kaybı istenmeyen bir durumdur. Mısır bitkisinde verim kayıplarının önemli bir nedeni de kadmiyum toksisitesidir. Pirinç ve buğdaydan sonra en önemli üçüncü tahıl mahsulü olan mısır (*Zea mays* L.), başta Çin ve Amerika olmak üzere dünya çapında yaygın olarak yetiştirilmektedir (Anjumet *al.* 2016; Zhang *et al.* 2019). Tüm dünyada önemli bir gıda, şeker, yemeklik yağ, hayvan yemi ve endüstriyel hammaddelerin vazgeçilmez kaynağı haline gelmiş olan mısır, zengin bir besin kaynağıdır (Dowswellet *al.* 1996; Baggianiet *al.* 2009). Bu çalışmada kadmiyum stresine maruz bırakılan mısır bitkisine iki farklı konsantrasyonda taurin uygulanması yapılarak bitkinin morfolojik (kök-gövde uzunluğu, kuru ağırlık), fizyolojik (çözünebilir protein ve pigment içerikleri) ve biyokimyasal (stres parametreleri, antioksidan sistem ve inorganik element içerikleri) parametreleri üzerindeki değişimler araştırılmıştır. Sentez reaksiyonların değişimleri göstermek amacıyla SDS-PAGE ile fidelerin protein profilleri belirlenmiştir. Ayrıca NATİVE-PAGE ile antioksidan enzimlerin izoenzimlerindeki değişimleri belirlenmiştir. Mevcut çalışmamızda; stressiz koşullarda da taurin uygulamaları yapılmış olup taurinin bitki gelişimi üzerine olası etkisini de açıklayabilmek için bu koşullarda da bitkilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri değerlendirilmiştir.

Araştırmalarımız sonucunda kadmiyumun bitkilerdeki toksisitesine karşı taurinin etkisi ile ilgili literatürde yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bakımdan mevcut çalışmadan elde edilen bulguların literatüre öncülük edeceğini düşünmekteyiz.

5.1. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Büyümesi Üzerine Etkileri

Bitkilerin maruz kaldığı stresin morfolojik etkilerini kök ve gövde uzunluklarını ölçmek suretiyle tespit etmek mümkündür. Kadmiyumtoksisitesi bitkilerde büyüme anormalliklerine ve inhibisyona neden olur (Polleet *al.* 2013;

Tranand Popova 2013; Zhang *et al.* 2019). Kadmiyum bitkiler için gerekli bir element olarak kabul edilmez. Ayrıca kadmiyum, bitkide fizyolojik süreçleri; solunum, fotosentez, su hareketi ve gaz değişimi vb. metabolik olayları doğrudan veya dolaylı yoldan aksatarak bitki metabolizmasında bozulmaya yol açar (Tang *et al.*2018). Cd stresi, bitkilerin besin alımında dengesizliğe neden olarak fotosentez hızında ve biyokütlede düşüşe neden olur (Rizwanet *al.* 2016; Zhou, *et al.*2017). Kadmiyum kaynaklı stoma iletkenliğinin engellenmesi, beyaz yonca (*Trifoliumrepens*), yaprak dökmeyen meşe (*Quercus ilex*), pirinç ve soya fasulyesi dahil olmak üzere pek çok bitkide rapor edilmiştir (Yinget *al.* 2010; Domínguezet *al.* 2011).

Mevcut çalışmada kadmiyumun mısır fidelerinin kök-gövde uzunluklarında ciddi azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Mevcut bulguları destekler nitelikte yapılmış çalışmalarda, kadmiyuma maruz kalan mısır bitkisinin kök ve gövde gelişiminde önemli inhibisyonlar tespit edilmiştir (Pa'ove-Balanget *al.* 2006; Zhang *et al.* 2019). Bu inhibisyonların kadmiyumun bitki metabolik olayları üzerindeki yıkıcı etkilerinden kaynaklandığı düşünülebilir (Tang *et al.*2018).

Ek olarak mevcut çalışmada stressiz koşullardaki bitkilere uygulanan her iki taurin konsantrasyonunun (1 mM ve 2 mM) kök ve gövde uzunluklarında kontrole göre anlamlı bir artış sağlayarak bitkinin büyümesini arttırdığı görülmüştür. Literatürde mısıra taurin uygulanması şeklinde bir çalışma olmadığından, diğer bitkilerde yapılan çalışmalar dikkate alınmıştır. Hao *et al.* (2004) taurin'in buğday bitkisi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmasında da benzer şekilde taurinin buğday bitkisinin kök ve gövde uzunluğunu arttırdığını tespit etmiştir. Mevcut çalışmanın kök gövde uzunluk verileri literatürdeki bu çalışma ile birlikte değerlendirildiğinde taurinin bitkilerin morfolojik parametrelerinde olumlu yönde katkılar sağladığı açıktır. Bitki kök ve gövde normal olarak büyümesi sağlıklı gelişimin göstergesi olarak kabul edilir (Taizand Zeiger 2002). Bundan dolayı taurinin normal koşullarda da bitkinin büyümesine katkı sağladığı söylemek mümkün olabilir.

Kadmiyum içeren ortama taurin eklenmesiyle mısırın hem kök hem de gövde uzunluğunda anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Bundan dolayı taurinin, kadmiyum stresinin mısır bitkisinin büyümesi üzerindeki inhibisyonuna karşı hafifletici etkisi olduğu belirlenmiştir. Taurinin bu etkisi bitki savunma mekanizmalarındaki

optimizasyonu, sentez reaksiyonlarındaki olumlu etkisi ve/veya iyon alınımının-taşınmının regülasyonu ile açıklanabilir. Bu ihtimaller mevcut çalışmada bitki antoksidan mekanizmasındaki değişimler ve Cd elementinin miktarındaki değişim ve sentez reaksiyonlarındaki değişimlerin belirlendiği verilerle daha sonra ilişkilendirilmiştir.

5.2. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Kuru Ağırlığı Üzerine Etkileri

Yapılan uygulamaların biyokütleği nasıl etkilediğini saptamak için bitki dokularının kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda bitki kök kuru ağırlığı kontrole kıyasla Cd ve Cd+1T uygulaması istatistiki olarak önemli bir artış göstermiştir. Fakat Cd grubuna göre Cd+2T uygulaması ile bitki kök kuru ağırlığında önemli bir düşüş tespit edilmiştir.

Kontrol grubuna göre Cd ve Cd+1T gruplarının ağırlığındaki artışı; yapılan element analizleri sonucunda Cd elementinin, Cd ve Cd+1T gruplarında kontrole kıyasla yüksek olması ve dolayısıyla Cd'nin ağır metal özelliğinden dolayı bitki dokusunda ekstra ağırlık oluşturmamasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Mevcut çalışmada Cd uygulaması ile mısır fidelerinin kök-gövde uzunluklarında ve fotosentetik pigment içeriğindeki azalma bu olasılığı desteklemektedir. Gövdede kontrol grubuna kıyasla kadmiyum grubunda bir artış olmuş fakat bu artış istatistiki olarak önemli değildir.

Mevcut çalışmada elde edilen bulgular, literatür verilerinde mısır bitkisine kadmiyum uygulamasının bitki kök kuru ağırlığı üzerine etkisinden farklılıklar arz etmektedir. Vaculík *et al.* (2012) mısır bitkisine 50 µM Cd uygulaması sonucu kontrole kıyasla kök kuru ağırlığında düşüş tespit etmiştir. Mevcut çalışma verilerinin farklılığı çalışılan Cd konsantrasyonunun farklı olmasından kaynaklı olabilir.

5.3. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Çözünabilir Protein İçeriği Üzerine Etkisi

Kadmiyum stresi bitkilerde birçok fizyolojik işlevi ve biyokimyasal olayları aksatarak bitkide yüksek verim kaybına, daha ilerisi bitki ölümüne neden açabilir.

Bitkiler kadmiyumun toksik etkilerine karşı direnç oluşturmak için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirirler. Fakat Cd'nin çok düşük miktarda bile yüksek hareketlilik ve aşırı toksisite göstermesi bitki savunmasının yetersiz kalmasına neden olabilir (Krzesłowska 2011; Liu *et al.* 2014; Adhikari *et al.* 2018). Kadmiyumun hücre duvarı proteinleri ve stres proteinleri üzerinde inhibisyon etkisinin yanı sıra (Gutsch *et al.* 2018), bitkilerde çözünür protein içeriğinde azalmaya neden olduğu da rapor edilmiştir (Zhang *et al.* 2019). Bu inhibisyonlara doğrudan protein oksidasyonuna neden olarak (Sharma *et al.* 2012) ve/veya protein kinazları, fosfatazları ve tiyolat kalıntıları içeren transkripsiyon faktörlerini de okside ederek yol açtığı bildirilmiştir (Stohs *et al.* 1995; Datet *et al.* 2000). Bunlara ek olarak Cd'nin fotosentez sürecinin en önemli enzimlerinden biri olan ribulobisfosfat karboksilaz/oksijenaz (RuBisCO) enzimin tamamen inhibe edilmesine neden olduğu (Stiborová 1988; Malik *et al.* 1992) veya ROT üretimini teşvik ederek fotosentezde görevli enzimlere (Hasan *et al.* 2009) zarar verdiği bilinmektedir.

Mevcut çalışmada kontrol bitkisine kıyasla kadmiyum uygulaması çözünür protein içeriğinde ciddi azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Bu bulguya benzer şekilde Shen *et al.* (2017) *Brassicacampestris* L. ssp.'de yaptıkları bir çalışmada 100 µM Cd muamelesinin bitkideki çözünebilir protein içeriğinde ciddi bir düşüşe neden olduğunu tespit etmişler. Ayrıca Singh *et al.* (2019) mısır fidelerinde yaptığı çalışmasında 100 µM Cd muamelesinin bitkideki çözünebilir protein içeriğinde kontrole kıyasla ciddi oranda düşüş rapor etmiştir.

Yalnız kadmiyum stresine maruz kalan bitkiye kıyasla kadmiyum ile birlikte uygulanan taurin gruplarında çözünebilir protein içeriğinin önemli oranda arttığı belirlenmiştir. Bu bulgular, taurinin kadmiyumun protein sentezi üzerindeki inhibe edici etkisini hafiflettiğini ortaya koymaktadır. Bitkilerde kadmiyum toksisitesine karşı taurinin etkisini araştıran çalışma olmadığından kıyaslama yapmak için hayvanlarda yapılan çalışmalar dikkate alınmıştır. Sinha *et al.* (2009), yaptıkları çalışmada hayvan hücrelerinde kadmiyum kaynaklı protein inhibisyonunu taurinin hafiflettiğini bildirmişlerdir.

Taurinin bu etkisi, kadmiyumun neden olduğu oksidatif hasarı azaltmasından kaynaklı olabilir. Daha sonra açıklanacağı üzere taurinin kadmiyum kaynaklı

oksidatif hasarı hafiflettiği mevcut çalışmada ortaya konmuştur. Ayrıca taurinin kadmiyum alım mekanizmasına engel olarak veya kadmiyum alımın-taşıma yollarına regüle etmesinden kaynaklanmış olabilir. Bu varsayımı element analizi sonuçları desteklemektedir. Bu analizlere göre Cd toksisitesi altındaki bitkilere taurin ilavesinin bitki kök ve gövdesinde kadmiyumun miktarında önemli bir düşüşe neden olduğu gösterilmiştir.

5.4. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Klorofil ve Karotenoid İçeriği Üzerine Etkileri

Kadmiyum stresinin bitkilerde klorofil bozunması yoluyla stoma kapanmasını arttırdığı ve fotosentezi engellediği rapor edilmiştir (Hasan *et al.* 2009). Benzer şekilde, kadmiyumun mısır (*Zeamays*) nohut (*Cicerarietinum* L.)ve sorgumdaki klorofil *a*, *b* sentezini ve dolayısıyla toplam klorofil içeriğini azalttığı rapor edilmiştir (Tantrey and Agnihotri 2010; Da-linet *al.* 2011; Hussain *et al.* 2013).

Mevcut çalışmada da kontrole kıyasla Cd uygulamasının klorofil *a*, *b* ve karotenoid içeriğinde ciddi azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Bunlara bağlı olarak toplam klorofil içeriğinde de azalma olmuştur. Bitkideki klorofil azalmasının nedeni Cd varlığında klorofil molekülün yapısını bozulmasından kaynaklanmaktadır. Bu olayın mekanizması; Cd'un, Mg iyonlarının protoporfirin molekülü ile şelatlanmasını önleyerek klorofil sentez reaksiyonunu engellemesi ve tetrapirel halkasında Mg atomunu ile yer değiştirerek klorofil molekülünü doğrudan bozmasıdır (Dhirand 2009; Xin *et al.* 2020). Ayrıca kadmiyum toksisitesi fotosentetik aparatlara, özellikle ışık toplama kompleksine, fotosistem I ve II (PSI ve PSII)'ye zarar verir (Hasan *et al.* 2009).

PSII'de elektron taşınımı ve özellikle oksijen üreten kompleksin kadmiyum stresine çok duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Clijsters and Assche 1985; Noor *et al.* 2018). PSII'nin su oksitleyici kompleksinin, oksijen üretim merkezlerini oluşturan Ca/Mn kümelerindeki Ca^{2+} 'nın Cd ile değiştirilmesiyle (Sigfridsson *et al.* 2004; Dinakar *et al.* 2009) ve/veya Qb bağlanma sahasındaki bazı modifikasyonlarla kadmiyumdan etkilendiği bilinmektedir (Geiken *et al.* 1998; Hayat *et al.* 2011).

Kadmiyum ile birlikte taurin gruplarında yalnız Cd uygulamasına kıyasla klorofil *a* ve *b* içeriğinde önemli artışlar sağlamıştır. Taurinin bu olumlu etkisi, kadmiyum kaynaklı oksidatif stresi azaltarak ve antioksidan sistemin etkinliğini artırarak sentez reaksiyonlarını optimize etmesinden kaynaklanmış olabilir. Mevcut çalışmada taurinin stressiz koşullarda ve kadmiyum stresi durumunda bitkide hem oksidatif stres parametreleri olan lipid peroksidasyonu seviyesi, H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ içeriklerinde düşüş sağlaması hem de antioksidan savunma sistemi parametrelerinin (antioksidan enzim aktiviteleri ve antioksidan maddelerin içerikleri) seviyesindeki yükselme bu olasılığı destekler niteliktedir. Klorofillerin sentezinde de proteinlerin görevli olduğu dikkate alındığında; taurinin pigment miktarını artırıcı etkisinin diğer bir nedenin de taurinin protein içeriği ve dolayısıyla sentez reaksiyonları üzerine olumlu etkisinden kaynaklanmış olabileceğini söylemek mümkündür.

Buğday bitkisinde yapılan çalışmada taurin uygulamasıyla yapraktaki fotosentez veriminde artış tespit edilmiştir (Hao *et al.* 2004). Mevcut çalışmanın pigment içerikleri hakkındaki verileri bu literatüre uyumlu olarak stressiz koşullarda taurinin söz konusu pigmentlerin miktarında artış sağladığı tespit edilmiştir. Bunun nedeni taurinin stressiz ortamda bile antioksidan enzim-moleküllere olumlu etkisinden ve/veya bitki için yararlı elementlerin alımını, taşınım yolları üzerinde olumlu etkisinden kaynaklandığını düşünülebilir.

Karotenoidler bitkilerde antoksidan bileşikler olarak ROT'un süpürülmesinden sorumludur (Wu *et al.* 2007; Gill and Tuteja 2010). Bu etkinin mekanizması; tekli okseijenin enerjisi karotenoid molekülüne aktarılacak nötr duruma dönmesidir. Tekli oksijenden aldığı enerji ile uyarılmış olan karotenoid çevresindeki çözücü ile etkileşime girerek enerjisini dağıtır ve temel duruma döner. Ayrıca anten pigmentleri olan karotenoidler pigment sistemlerindeki reaksiyon merkezlerinin aşırı ışıktan korunmasında da önemli rol oynayarak antioksidan özellik gösterirler (Stahl and Sies 2003). Karotenoidler lipid peroksidasyonu sürecinde etkin şekilde peroksil radikalleriyle reaksiyona girerek bu radikalın süpürülmesi ile lipid peroksidasyon zincir reaksiyon dizisinin kesintiye uğramasını sağlarlar (Stahl 2003). Böylece karotenoidler tilakoid membranların lipid fazını stabilizasyonuna katkı sağlarlar (Havaux 1998).

Mevcut çalışmada kadmiyum uygulaması mısır fidelerinde karotenoid içeriğini ciddi oranda azaltmıştır. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada 150 ve 300 µM kadmiyum konsantrasyonlarında karotenoid içeriğinde Cd konsantrasyonuna bağlı olarak azalma tespit edilmiştir (Ulus et al.2017). Yine benzer bir çalışmada mısır fidelerine 100 µM kadmiyum uygulamasının karotenoid içeriğini ciddi oranda düşürdüğü bildirilmiştir (Singh et al. 2019).

Mısır fidelerine kadmiyum ile birlikte taurin uygulamaları yalnız Cd uygulamasına göre karotenoid içeriğinde önemli derecede artış sağlamıştır. Taurinin bu olumlu etkisi bitkide karotenoidlerle birlikte membran stabilitesine destek vermesinin yanı sıra kadmiyum kaynaklı oksidatif stresi azaltarak ve antioksidan sistemin etkinliğini arttırarak yapmış olabilir. Taurinin de karotenoidler gibi hücre membran stabilizasyona destek olması (Karafakıoğlu 2010), elektron transfer zincirini stabilize ederek mitokondriyal fonksiyonları güçlendirmesi (Jong et al.2012) stres karşısında karotenoidlerle sinerjik etki göstermiş olabilir. Ayrıca taurinin stressiz koşullarda ve kadmiyum stresi durumunda bitkide, hem oksidatif stres parametreleri olan seviyesinde düşüş sağlaması hem de antioksidan savunma sisteminin kapasitesindeki artış tespit edilmesi taurinin karotenoidlerle sinerjik etki göstermiş olabileceği ihtimalini güçlendirmektedir. Buna ek olarak mevcut çalışmada taurinin protein içeriği ve toplam klorofil içeriği üzerine olumlu etki sağladığından bitkide sentez reaksiyonlarına olumlu etkilediği ve dolayısıyla karotenoid sentezini de arttırmış olabileceği söylenebilir. Bu olasılığı destekler nitelikte stressiz koşullarda taurin uygulaması özellikle 2T grubunda karotenoid içeriğini önemli oranda arttırmıştır.

5.5. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Antioksidan Sistem Üzerine Etkileri

Kadmiyum, yüksek hareketliliği ve suda çözünürlüğü nedeniyle nispeten düşük Cd konsantrasyonunda bile bitki metabolik süreçlerini aksatarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini hızlandırır (Ga et al. 2018). Ayrıca kadmiyum, süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen ($^1O_2$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri($OH^{\cdot}$) gibi lipid reaktiflerin oluşumunu tetikleyerek lipid peroksidasyonu seviyesini arttırmasının yanı sıra, proteinlerin oksidasyonuna ve DNA'ya kadar tüm hücre bileşenlerine zarar verebilir (Gichner et al. 2004; Kim et al. 2009). Kadmiyum

tarafından indüklenen ROT'lar SOD, POD, CAT, APX ve GR gibi antioksidan savunma sisteminin enzimleri ile birlikte askorbat, tokoferol, glutatyon ve karotenoidler gibi bazı enzimatik olmayan ROT süpürücülerinin etkisiyle temizlenir (Wu *et al.* 2007; Gill and Tuteja 2010).

Mevcut çalışmada, kadmiyum stresine maruz kalan mısır bitkisinde POD hariç SOD, CAT, APX ve GR aktivitelerinde ciddi düşüşler tespit edilmiştir. Bilindiği gibi CAT, POD, APX ve GR enzimleri, canlılar için oldukça toksik olan hidroksil (OH[•]) radikalinin öncülü olan H₂O₂'nin suya detoksifikasyonunda görevli olan enzimlerdir (Fridovich 1989). Mevcut araştırmanın bulguları literatürlerde bildirilen; kadmiyumun, antioksidan savunma sisteminde yer alan antioksidan enzimlerinin (SOD, POD, CAT, APX ve GR) aktivitelerini olumsuz etkilediği bilgisiyle paralellik arz etmektedir (Chaoui and Ferjani 2004; Gill *et al.* 2012). Daha önce yapılan çalışmalar ve mevcut araştırmanın bulguları doğrultusunda kadmiyumun mısır fidelerinde oksidatif hasara neden olması yanında antioksidan enzimlerin aktivitesini baskıladığı söylenebilir.

Kadmiyum kaynaklı stres ortamına taurin uygulamasıyla SOD, CAT, APX, POD ve GR aktivitesinde önemli artışlar görülmüştür. Bitkilerde taurinin antioksidan sistemler üzerindeki etkinliği araştırılan literatür olmadığından, bitkiler üzerinde bir kıyaslama yapamıyoruz. Fakat taurinin hayvan hücrelerinde yapılan çalışmalarda antioksidan enzimler üzerinde stümüle edici etkisi olduğu ortaya konmuştur (Aydoğdu *vd.* 2006).

Zhang *et al.* (2019), mısır bitkisine kadmiyum uygulaması ile oksidatif hasarın ilk savunma hattı olan SOD enziminin aktivitesinde azalma tespit etmiştir. Mevcut çalışmada bu bilgiye paralellik göstererek kadmiyum stresine maruz bırakılan mısır bitkisinde kontrole kıyasla SOD enzimin aktivitesinde ciddi düşüş olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın kadmiyum ile birlikte taurin uygulanan mısır bitkilerinde ise SOD enziminin aktivitesinde önemli bir artış kaydedilmiştir. Taurinin bu etkisi; taurinin antioksidan etkisi ile SOD enzim aktivitesine destek olarak kadmiyumun indüklediği O₂^{•-} içeriğini azaltmasından ileri gelmiş olabilir. Bu fikre destek mahiyetinde mevcut çalışmada stressiz koşullarda uygulanan taurinin bitkide SOD enzim aktivitesinde önemli derecede artış sağladığı, O₂^{•-} içeriğinde de ciddi

düşüş saptanmıştır. Mevcut araştırmada SOD enzim aktivitesindeki artış izoenzim bantlarının yoğunluklarındaki artışlarla da doğrulanmıştır. Bitkilerde SOD enzim aktivitesinin artışı, stres toleransının artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Gupta *et al.* 1993). Bu durum ve taurinin SOD aktivitesini arttırması dikkate alındığında; taurinin mısır fidelerinin strese karşı direncini arttırdığı söylenebilir.

CAT ve APX, H_2O_2 molekülünün H_2O ve O_2 molekülüne dismutasyonunu katalize ederler (sharma *et al.* 2012). Çalışmamızda kontrole kıyasla yalnız kadmiyum uygulanan bitkilerde bu enzimlerin aktivitelerinde ciddi azalmalar görülmektedir. Kadmiyumun enzimlerin yapısına zarar verdiği ve hücrenin başlıca antioksidanlarını, özellikle tiyol içeren antioksidanları tükettiği bildirilmiştir (Sharma *et al.* 2012). Bu çalışmada yalnız Cd uygulanan grupta H_2O_2 içeriğinde artış görülmesi Cd'nin oksidatif stresi indüklemesi yanında antioksidan enzimleri aktivitesinin azaltmasından kaynaklanmaktadır. CAT ve APX ile ilgili elde edilen izoenzim bantlarının yoğunluğunda yalnız Cd uygulanan gruptaki azalış bu olguyu desteklemektedir. Mısır fidelerinde kadmiyum ile birlikte taurin uygulaması yalnız kadmiyum uygulanan stres grubuna göre, CAT ve APX enzim aktivitelerinde önemli artışlar görülmüştür. Bu enzimlerin aktivitesindeki artış aynı enzimlerin izoenzim bantlarındaki yoğunluk artışlarıyla da doğrulanmıştır.

Yapılan analiz sonucunda kadmiyum stresi altındaki mısır bitkisinde POD aktivitesinde artış gözlenmiştir. Metwally *et al.* (2005) bezelye bitkisinde yaptıkları bir çalışmada Cd stresinin bitkinin dayanıklı genotiplerinde POD aktivitesinde artış görmüştür. Yapılan başka çalışmalarda da uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cd'nin, POD aktivitesini değişik şekilde etkilediğini, düşük konsantrasyonda POD aktivitesinin yüksek olduğu yüksek konsantrasyonlarda ise POD aktivitesinde düşüş olduğu bildirilmiştir (Chaoui *et al.* 1997; Metwally *et al.* 2003). Bilindiği üzere POD enzim de H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda rol oynar.

Mevcut araştırmada Cd'nin POD aktivitesinin artırması, bitkinin H_2O_2 detoksifikasyonu için POD enzimini aktive etmeyi başardığı fakat oksidatif hasar göstergelerinin açıklandığı kısımda da net bir şekilde görülebileceği gibi sadece POD enzim aktivasyonunun hasarı hafifletmede yeterli olmadığı ortadadır. Mısır fidelerinde yalnız Cd grubuna kıyasla Cd ile birlikte taurin uygulaması POD aktivitesinde

önemli artış sağlamıştır. Cd ile birlikte taurin kombinasyonlarının uygulaması POD ile birlikte diğer antioksidan enzimlerin aktivitelerinde de artış sağladığı tespit edilmiştir. POD izoenzim bantları da taurinin bu etkisini desteklemektedir.

Ayrıca stressiz koşullarda yetiştirilen mısır bitkilerine taurin uygulamasıyla SOD, CAT, APX ve GR yani antioksidan sistem aktivitesinde belirgin bir artış izlenmiştir. Bu bulgular ışığında taurinin hem kadmiyum kaynaklı ROT'a karşı antioksidan sistem aktivitesinde belirgin bir artış sağladığını hemde stressiz bitkilerde antioksidan sistemi güçlendirerek reaktif oksijen türlerine karşı bitki direncini artırdığı söylenebilir.

Mevcut çalışmadan elde edilen bulgular göstermiştir ki; yalnız kadmiyum uygulanan bitkilerde, kontrol bitkisine kıyasla $O_2^{\cdot-}$ içeriği artmıştır. Bu radikaldeki artış yalnız Cd uygulanan bitkilerdeki SOD'un düşüyle ilişkili olması kuvvetle muhtemeldir. Çünkü SOD enziminin $O_2^{\cdot-}$ 'nin O_2 ve H_2O_2 'ye dismutasyonunu katalize ettiği bilinmektedir (Sharma *et al.* 2012). Bunun yanı sıra kadmiyum uygulamasına ek olarak taurin uygulaması, yalnız Cd grubuna göre SOD enziminin aktivitesini artırması ve bunun aksine $O_2^{\cdot-}$ içeriğinin ise ciddi derece azalması bu olguyu desteklemektedir. Kontrol bitkisine kıyasla stressiz koşullarda taurin uygulaması, $O_2^{\cdot-}$ içeriğinde ciddi azalma meydana yol açmıştır. Bu bulgu, taurinin oksidatif strese sebep olan $O_2^{\cdot-}$ içeriğini azalması neticesinde, taurinin tek başına bir antioksidan olarak değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Temel disülfid grubu içeren bir flavo-protein oksidoredüktaz olan glutatyon redüktaz (GR) (Romero-Puertas *et al.* 2006), CAT ve APX gibi H_2O_2 molekülünün H_2O ve O_2 molekülüne dismutasyonunu katalize eder (Sharma *et al.* 2012). Ayrıca GR, enzimatik ve enzimatik olmayan oksidasyon-indirgeme döngülerine katılarak GSH, GSSG'ye oksitler ve GSH'nin indirgenmiş durumunu sürdürerek ROT'lara karşı savunma sisteminde önemli bir rol oynar (Reddy *and* Raghavendra 2006; Rao *and* Reddy 2008). Mevcut çalışmada elde edilen diğer bulgularla paralel olarak kontrol bitkisine kıyasla yalnız Cd uygulanan mısır fidelerinde GR aktivitesinde ciddi düşüş görülmüştür. Cd'nin özellikle tiyol içeren antioksidanları tükettiği bildirilmiştir (Sharma *et al.* 2012). Bunun yanında mısır fidelerinde yalnız Cd uygulanan Cd ile birlikte taurin uygulamasında GR aktivitesinde önemli artış

kaydedilmiştir. Benzer sonuç kadmiyum toksisitesine maruz kalan farelerle yapılan bir çalışmada taurinin GR aktivitesinde önemli artış sağladığı bildirilmiştir (Mannası *et al.* 2008). Buna ek olarak, kadmiyumla birlikte taurin uygulaması APX ve GR enzimlerinin aktivitelerindeki artış; askorbat-glutasyon (AsA-GSH) çemberinin aktifleştğini göstermektedir (Sharma *et al.*2012).

Tiyol bazlı hücre içi antioksidan sistem, serbest radikallere ve diğer oksidan türlerinin aracılık ettiğı oksidatif hasarlara karşı hücrel savunmanın ikinci hattı olarak kabul edilir. Disülfid değişim reaksiyonunda, glutasyon (GSH) serbest radikalleri temizlemek koşuluyla çeşitli ksenobiyotikleri detoksifiye ederek işlev görür ve kendisi GSSG'ye oksitlenir (Jones 2002). Bu çalışmada kontrole kıyasla yalnız Cd uygulaması sonucu mısır fidelerinde GSH içeriğı çok ciddi oranda düşmüş olup, muhtemelen Cd-SH oluşumuna bağılı olarak GSH/GSSG oranını ve toplam tiyol içeriğini azaltmasından kaynaklanmış olabilir. Kadmiyum ile birlikte taurin uygulaması ile GSH içeriğı yalnız Cd grubuna göre önemli oranda artmıştır. Stressiz koşullarda taurin uygulaması ile stres parametlerinde ciddi oranda düşüş kaydedilmesi ve GSH içeriğinin önemli artış kaydedilmesi, taurinin bitkinin toleransının artırılmasında GSH miktarının teşvik edilmesi yolağından da faydalandığını göstermektedir.

Askorbik asit (AsA), H₂O₂'nin enzimatik detoksifikasyonu için birincil substrat görevi görür ve ayrıca O₂^{•-} ve ¹O₂'yi nötralize etmek için doğrudan hareket ederek önemli bir antioksidan etki gösterir (Akram *et al.* 2017). Bu çalışmada kadmiyum uygulaması mısır fidelerinde AsA içeriğini ciddi oranda düşürmüştür. Literatürde de kadmiyumun hücrenin başlıca antioksidanlarını tükettiğı bildirilmiştir (Sharma *et al.* 2012). Stres ortamına taurin eklenmesi ile AsA içeriğinde önemli artış kaydedilmiştir. Taurinin bu etkisi membran stabilitesini koruması yoluyla iyon sızıntısını önleyerek ve/veya kadmiyum alım-taşıyım yollarına müdahale ederek AsA içeriğini artmasına katkı sağlamış olabilir.

Antioksidan madde olan AsA ve GSH, ROT'ların süpürülmesinde rol almalarının yanı sıra H₂O₂ nin detoksifiye edilmesinde de görev alırlar. Taurin uygulamasıyla stresli ortamda her iki bileşikteki kaydedilen artışların yanı sıra H₂O₂ içeriğininin düşüşü, H₂O₂ nin verimli bir şekilde detoksifiye edildiğini, yani hem

H₂O₂ kaynaklı oksidatif hasarı hem de hidroksil (OH[•]) oluşumunu azalttığını kanıtlamaktadır.

5.6. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinin Mısır Bitkisinde MDA Üzerine Etkisi

Lipid peroksidasyonu (LPO); membranların yapısını membranlardaki fosfolipidlerin çoklu doymamış yağ asitlerini okside ederek hücre yapısını ve fonksiyonlarını aksatan bir olaydır. MDA çoklu doymamış yağ asitlerinden hem kimyasal hem de enzimler tarafından katalize edilen reaksiyonlarla üretilen son ürün olduğundan LPO'nun en sık ölçülen biyobelirteçlerinden biridir (Tsikas 2017). Yapılan bir çalışmada Cd'ye maruz kalma nedeniyle, mısır fidelerinde MDA içeriğinde önemli oranında arttığını rapor etmiştir (Singh *et al.* 2019)

Hücre zarlarındaki hasar, MDA üretimini tetikleyen reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimiyle de ilişkilidir (Hossain *et al.* 2012). Mevcut çalışmada mısır fidelerinde kontrole kıyasla yalnız Cd uygulamasıyla MDA düzeyinde ciddi artış kaydedilmiştir. Ayrıca MDA içeriğindeki artışa paralel olarak oksidatif stres parametreleri olan O₂^{•-} ve H₂O₂ nin miktarlarında artış tespit edilmesinin yanı sıra antioksidan enzim aktivitesinde ve antioksidan maddelerin içeriğinde, kadmiyum uygulamasıyla düşüş kaydedilmiştir. Mevcut çalışmada antioksidan enzim ve maddelerin kadmiyum uygulamasıyla düşüş göstermesi kadmiyumun antioksidan sistemi baskıladığını göstermektedir. Literatürde de kadmiyumun antioksidan sistem üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu bildirilmektedir (Gill *et al.* 2012). Literatürde benzer şekilde mısır ve domates bitkilerinde de Cd'nin hücre ve organel membranlarına zarar vererek MDA içeriğini artırdığı, oksidatif stresi indüklediği ve böylece bitkilerde iyonik sızıntıyı artırdığı bilinmektedir (Cui and Wang 2006; Nasraoui-Hajaji *et al.* 2012; Hussain *et al.* 2013).

Mevcut çalışmada mısır fidelerine stressiz koşullarda taurin uygulaması MDA, H₂O₂ ve O₂^{•-} miktarında önemli düşüş tespit edilmiştir. Bu bulgulara ek olarak mısır fidelerine stressiz koşullarda taurin uygulaması antioksidan sistemde önemli derecede artış kaydedilmiştir. Yalnız taurin uygulanan mısır fidelerinde MDA, H₂O₂ ve O₂^{•-} gibi oksidatif stres parametrelerinde düşüş göstermesi ve antioksidan enzim aktivitelerinde ve antioksidan bileşiklerin miktarlarını arttırması, taurinin bitkilerde

oksidatif strese karşı hücre bütünlüğünü koruyabilmek için anioksidan savunma sistemi kapasitesini artırdığını düşündürmektedir.

Kadmiyumla birlikte taurin uygulaması yalnız kadmiyum uygulamasına kıyasla hem MDA hem de H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ içeriğinde önemli düşüş tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara paralel olarak, Hao *et al.* (2004) tuz stresi altındaki buğday bitkisinde yaptığı çalışmada taurin uygulaması ile MDA içeriğinde düşüş kaydetmiştir. Lee (2015) tarafından bitki doku kültüründe domates bitkisiyle yapılan bir çalışmada taurinin antistres ajanı olabileceğini bildirmiştir. Ayrıca mısır bitkisinde kadmiyumla birlikte taurin uygulaması MDA, H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ içeriğinde düşüşün yanı sıra bitki büyümesinde olumlu etkiler sağlamıştır. Elde edilen bulgulara paralel olarak Ashraf *et al.* (2010) MDA içeriği ile bitki büyümesi arasında negatif bir bağlantının olduğunu belirtmiştir.

Bu bulgular doğrultusunda; yalnız taurin uygulaması, oluşabilecek abiyotik stres durumunda bitkinin savunma sistemini destekleyerek toleransını artırabileceğini ve dolayısıyla bitkilerin verim kaybını azaltacağı söylenebilir. Ayrıca kadmiyumla birlikte taurin uygulaması sonucu elde edilen bulgular açıkça göstermektedir ki; taurin, kadmiyumun baskıladığı antioksidan savunma sistemini destekleyerek, kadmiyumun indüklediği oksidatif stres ürünleri olan MDA, H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ miktarlarında önemli düşüşler sağlayarak kadmiyum kaynaklı büyüme ve gelişim geriliğini azalttığı ortaya konulmuştur.

5.7. Kadmiyum ve Taurin Uygulamasının Mısır Fidelerinde Kadmiyum Birikmesi üzerine Etkisi

Kadmiyum bitkiler tarafından kolaylıkla alındığından (Hussain *et al.* 2021a) kadmiyumla kirlenmiş topraklarda yetişen bitkilerin bünyesinde kadmiyum oranı yüksek çıkmaktadır. Mevcut çalışmadan elde edilen bulgulara göre kadmiyumun çok ciddi bir oranda bitkinin kök ve gövdesinde akümüle edildiği tespit edilmiştir. Elde edilen bulgulara paralel olarak yapılan çalışmalarda, Cd ile kirlenmiş topraklarda mısır fidelerinin köklerinden ciddi şekilde Cd alındığını ve daha sonra sürgünlere ve tohumlara taşındığı belirlenmiştir (Vaculík *et al.* 2015; Rizwan *et al.* 2017).

Kadmiyumun; kadmiyum bakımından kontamine olmuş topraklarda yetişen bitkilerin yenilebilir kısımlarında geniş ölçüde biriktiriliyor olması bu ağır metalin besin zincirine katılmasına neden oluyor (Monteiro *et al.* 2009). Bu insan sağlığı açısından da dikkate alınması gereken bir durumdur. Mevcut çalışmada kadmiyum ile birlikte taurin uygulamasında; yalnız kadmiyum uygulamasına göre kök ve gövdede Cd içeriğinde önemli oranda düşüş belirlenmiştir. Bu bulgular temel alındığında taurinin kökler vasıtasıyla kadmiyum alınımını azalttığını ortaya koymaktadır.



6. SONUÇLAR

1. Taurin hem stressiz koşullarda hem de kadmiyum toksisitesi altında mısır fidelerinin büyümesini arttırmıştır.
2. Cd stresi mısır bitkisinin çözünebilir protein içeriğinde ciddi düşüşe neden olurken taurin Cd'nin bu etkisini hafifleterek bitkide çözünebilir protein içeriğini önemli seviyede arttırmıştır.
3. Mısır bitkisinde klorofil *a,b*, karotenoid ve toplam klorofil içeriği Cd stresi ile ciddi oranda düşerken taurin uygulaması, stres koşulları altında bu pigmentlerin içeriğini önemli oranda arttırmıştır.
4. Kadmiyum uygulaması mısır bitkisinde antioksidan enzim aktiviteleri ve antioksidan maddelerin içeriklerinde ciddi düşüşe neden olurken taurin uygulaması hem antioksidan enzim aktivitelerini stümüle etmiş hem de antoksidan bileşiklerin miktarlarında önemli bir artış göstererek bitkinin antioksidan savunma kapasitesini arttırmıştır.
5. Stressiz koşullarda uygulanan taurin, mısır bitkisinde MDA içeriğini azaltmıştır. Ayrıca kadmiyum uygulaması ile çok ciddi derecede artan MDA içeriği, taurin uygulaması ile önemli seviyede azalmıştır.
6. Kadmiyum uygulaması mısır bitkisinde H_2O_2 ve $O_2^{\bullet-}$ içeriğinde ciddi bir artışa neden olmuştur. Kadmiyum uygulaması ile birlikte taurin uygulaması bu oksidatif hasar ürünlerinin miktarını önemli oranda azaltmıştır.
7. Cd uygulaması bitki kök ve gövdesinde ciddi oranda Cd birikmesine neden olurken taurin uygulaması kadmiyumun alınımını önemli oranda azaltmıştır.

7. KAYNAKÇA

- Pandey, S. N., Nautiyal, B. D. and Sharma, C. P., 2008. Pollution level in distillery effluent and its phytotoxic effect on seed germination and early growth of maize and rice. *Journal of Environmental Biology*, 29(2), 267.
- Akram, N. A., Shafiq, F. and Ashraf, M., 2017. Ascorbic acid-a potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. *Frontiers in plant science*, 8, 613.
- Aydoğdu, N., Erbař, H. and Kaymak, K., 2007. Taurin, melatonin ve n-asetilsisteinin kadmiyuma bağlı akciğer hasarındaki antioksidan etkileri. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dergisi*.
- Stahl, W. and Sies, H., 2003. Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular aspects of medicine*, 24(6), 345-351.
- Xin, J., Ma, S., Li, Y., Zhao, C. and Tian, R., 2020. Pontederiacordata, ağır metallerle kontamine sulak alanların fitoremediasyonunda büyük potansiyele sahip bir süs su makrofitidir. *Ekotoksikoloji ve Çevre Güvenliği*, 203, 111024.
- Dhir, B., Sharmila, P., Saradhi, P. P., and Nasim, S. A., 2009. Physiological and antioxidant responses of *Salvinia* natan exposed to chromium-rich wastewater. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(6), 1790-1797.
- Sinha, M., Manna, P. and Sil, P. C., 2009. Induction of necrosis in cadmium-induced hepatic oxidative stress and its prevention by the prophylactic properties of taurine. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 23(4), 300-313.
- Taiz, L. and Zeiger, E., 2002. Photosynthesis: physiological and ecological considerations. *Plant Physiology*, 9, 172-174.
- Paľove-Balang, P., Kisová, A., Pavlovkin, J. and Mistrík, I., 2006. Effect of manganese on cadmium toxicity in maize seedlings. *Plant Soil Environ*, 52, 143-149.
- Kataoka, H. and Ohnishi, N., 1986. Occurrence of taurine in plants. *Agricultural and biological chemistry*, 50(7), 1887-1888.
- Trachtman, H., Barbour, R., Sturman, J. A. and Finberg, L., 1988. Taurine and osmoregulation: taurine is a cerebral osmoprotective molecule in chronic hypernatremic dehydration. *Pediatric research*, 23(1), 35-39.
- Dowswell, C. R., Paliwal, R. L. and Cantrell, R. P., 2019. *Maize in the third world*. CRC press.
- Heath, R. L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: II. Role of electron transfer. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(3), 850-857.
- Chaudière, J. and Ferrari-Iliou, R., 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food and chemical toxicology*, 37(9-10), 949-962.
- Romero-Puertas, M. C., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Leterrier, M., Rodríguez-Serrano, M., Del Río, L. A. and Palma, J. M., 2006. Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. *New phytologist*, 170(1), 43-52.
- Abbas, T., Rizwan, M., Ali, S., Zia-ur-Rehman, M., Qayyum, M. F., Abbas, F. ... and Ok, Y. S., 2017. Effect of biochar on cadmium bioavailability and uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in a soil with aged contamination. *Ecotoxicology and environmental safety*, 140, 37-47.

- Acero, P., Mandado, J., Gomez, J., Gimeno, M., Auque, L. and Torrijo, F., 2003. Environmental impact of heavy-metal dispersion in the Huerva River (Iberian Range, NE Spain). *Environmental Geology*, 43(8), 950-956.
- Adhikari, S., Ghosh, S., Azahar, I., Adhikari, A., Shaw, A. K., Konar, S. ... and Hossain, Z., 2018. Sulfate improves cadmium tolerance by limiting cadmium accumulation, modulation of sulfur metabolism and antioxidant defense system in maize. *Environmental and experimental botany*, 153, 143-162.
- Agarwal, S. and Pandey, V., 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48(4), 555-560.
- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., Wijaya, L. and Alam, P., 2018. Exogenous application of nitric oxide modulates osmolyte metabolism, antioxidants, enzymes of ascorbate-glutathione cycle and promotes growth under cadmium stress in tomato. *Protoplasma*, 255(1), 79-93.
- Akinola, M. O. and Ekiyoyo, T. A., 2006. Accumulation of lead, cadmium and chromium in some plants cultivated along the bank of river Ribila at Odo-nla area of Ikorodu, Lagos state, Nigeria. *Journal of Environmental Biology*, 27(3), 597-599.
- Aksu G. 2019. Kadmiyum ile kirli alanlarda bitki besin elementlerinin alınımı üzerine indol asetik asitin etkisi. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 7(2), 80-85.
- Ali, A. and Alqurainy, F., 2006. Activities of antioxidants in plants under environmental stress. The lutein-prevention and treatment for diseases, 187-256.
- Ali, B., Gill, R. A., Yang, S., Gill, M. B., Farooq, M. A., Liu, D. ... and Zhou, W., 2015. Regulation of cadmium-induced proteomic and metabolic changes by 5-aminolevulinic acid in leaves of *Brassica napus* L. *PLoS One*, 10(4), e0123328.
- Ali, H. and Khan, E., 2017. Environmental chemistry in the twenty-first century. *Environmental Chemistry Letters*, 15(2), 329-346.
- Ali, H., Khan, E. and Illahi, I., 2019. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal of chemistry*, 2019.
- Ali, H., Khan, E. and Sajad, M. A., 2013. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881.
- Alloway, B. J. 2013. Sources of heavy metals and metalloids in soils. In *Heavy metals in soils* (pp. 11-50). Springer, Dordrecht.
- Alsberg, CL and Schwartz, EW., 1919. Pharmacological action of cadmium. *Journal of Pharmacology* 13: 504–505.
- Amako, K., Chen, G. X. and Asada, K., 1994. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isoforms of ascorbate peroxidase in plants. *Plant and Cell Physiology*, 35(3), 497-504.
- Andresen, E. and Küpper, H., 2013. Cadmium toxicity in plants. *Met Ions Life Sci* 11: 395–413.
- Andresen, E., Peiter, E. and Küpper, H., 2018. Trace metal metabolism in plants. *Journal of Experimental Botany*, 69(5), 909-954.

- Anjum, S. A., Tanveer, M., Hussain, S., Ullah, E., Wang, L., Khan, I. ... and Shahzad, B., 2016. Morpho-physiological growth and yield responses of two contrasting maize cultivars to cadmium exposure. *CLEAN—Soil, Air, Water*, 44(1), 29-36.
- Anyanwu, B. O., Ezejiofor, A. N., Igweze, Z. N. and Orisakwe, O. E., 2018. Heavy metal mixture exposure and effects in developing nations: an update. *Toxics*, 6(4), 65.
- Aono, M., Kubo, A., Saji, H., Tanaka, K. and Kondo, N., 1993. Enhanced tolerance to photooxidative stress of transgenic *Nicotiana tabacum* with high chloroplastic glutathione reductase activity. *Plant and Cell Physiology*, 34(1), 129-135.
- Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia plantarum*, 85(2), 235-241.
- Asgher, M., Khan, M. I. R., Anjum, N. A. and Khan, N. A., 2015. Minimising toxicity of cadmium in plants—role of plant growth regulators. *Protoplasma*, 252(2), 399-413.
- Ashraf, M. A., Ashraf, M. and Ali, Q., 2010. Response of two genetically diverse wheat cultivars to salt stress at different growth stages: leaf lipid peroxidation and phenolic contents. *Pak J Bot*, 42(1), 559-565.
- Astolfi, S., Zuchi, S. and Passera, C., 2005. Effect of cadmium on H⁺ ATPase activity of plasma membrane vesicles isolated from roots of different S-supplied maize (*Zea mays* L.) plants. *Plant Science*, 169(2), 361-368.
- ATSDR, 2019 = Agency for Toxic Substances and Disease Registry
- Baggiani, C., Anfossi, L. and Giovannoli, C., 2009. Artificial systems for molecular recognition of mycotoxins. In *Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons* (pp. 3-20). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Baldantoni, D., Morra, L., Zaccardelli, M. and Alfani, A., 2016. Cadmium accumulation in leaves of leafy vegetables. *Ecotoxicology and environmental safety*, 123, 89-94.
- Baruah, N., Mondal, S. C., Farooq, M. and Gogoi, N., 2019. Influence of heavy metals on seed germination and seedling growth of wheat, pea, and tomato. *Water, Air, and Soil Pollution*, 230(12), 1-15.
- Baryla, A., Carrier, P., Franck, F., Coulomb, C., Sahut, C. and Havaux, M., 2001. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta*, 212(5), 696-709.
- Bashir, S., Shaaban, M., Hussain, Q., Mehmood, S., Zhu, J., Fu, Q. ... and Hu, H., 2018. Influence of organic and inorganic passivators on Cd and Pb stabilization and microbial biomass in a contaminated paddy soil. *Journal of Soils and Sediments*, 18(9), 2948-2959.
- Bast, A., Haenen, G. R. and Doelman, C. J., 1991. Oxidants and antioxidants: state of the art. *The American journal of medicine*, 91(3), S2-S13.
- Bayçu, G. 1997. "*Picea abies*'te Kadmiyum Toksisitesi ve Köklerde Kadmiyum Birikimi" XIII. Ulusal Biyoloji Kongresi 17-20 Eylül 1996, İstanbul. Kongre Kitapçığı, Cilt: III, s: 433-442.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1), 276-287.

- Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1973. Isozymes of superoxide dismutase from wheat germ. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 317(1), 50-64.
- Belkadi, A., De Haro, A., Obregon, S., Chaïbi, W. and Djebali, W., 2015. Exogenous salicylic acid protects phospholipids against cadmium stress in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 120, 102-109.
- Belyaeva, E. A., Sokolova, T. V., Emelyanova, L. V. and Zakharova, I. O., 2012. Mitochondrial electron transport chain in heavy metal-induced neurotoxicity: effects of cadmium, mercury, and copper. *The Scientific World Journal*, 2012.
- Bergmeyer, J. and Grabl, M., 1983. *Methods of Enzymatic Analysis* (3rd ed.), Germany.
- Bertoli, A. C., Cannata, M. G., Carvalho, R., Bastos, A. R. R., Freitas, M. P. and dos Santos Augusto, A., 2012. *Lycopersicon esculentum* submitted to Cd-stressful conditions in nutrient solution: nutrient contents and translocation. *Ecotoxicology and environmental safety*, 86, 176-181.
- Betteridge DJ. 2000. What is oxidative stress?. *Metabolism*. 49(2 Suppl 1): 3-8.
- Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science*, 1113-1121.
- Bigalke, M., Ulrich, A., Rehmus, A. and Keller, A., 2017. Accumulation of cadmium and uranium in arable soils in Switzerland. *Environmental pollution*, 221, 85-93.
- Bowler, C., Montagu, M. V. and Inze, D., 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual review of plant biology*, 43(1), 83-116.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bright, J., Desikan, R., Hancock, J. T., Weir, I. S. and Neill, S. J., 2006. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H₂O₂ synthesis. *The Plant Journal*, 45(1), 113-122.
- Bu-Olayan, A. H., Al-Hassan, R., Thomas, B. V. and Subrahmanyam, M. N. V., 2001. Impact of trace metals and nutrients levels on phytoplankton from the Kuwait Coast. *Environment International*, 26(4), 199-203.
- Büyük, İ., Aydın, S. S. and Sümer, A., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(2), 97-110.
- Cadenas, E. and Sies, H., 1998. The lag phase. *Free radical research*, 28(6), 601-609.
- Cadenas, E. 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annual review of biochemistry*, 58(1), 79-110.
- Chang, Y. S., Chang, Y. J., Lin, C. T., Lee, M. C., Wu, C. W. and Lai, Y. H., 2013. Nitrogen fertilization promotes the phytoremediation of cadmium in *Pentstemon lanceolatus*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 85, 709-714.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M. N., El-Ferjani, E., 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science* 127, 139-147.

- Chen, C., Zhou, Q. and Cai, Z., 2014. Effect of soil HHCB on cadmium accumulation and phytotoxicity in wheat seedlings. *Ecotoxicology*, 23(10), 1996-2004.
- Chesney, R. 1985. Taurine: its biological role and clinical implications. *Advances in Pediatrics*, 32, 1-42.
- Chiraz, C., Houda, G. and Habib, G. M., 2003. Nitrogen metabolism in tomato plants under cadmium stress. *Journal of plant nutrition*, 26(8), 1617-1634.
- Chunhabundit, R. (2016). Cadmium exposure and potential health risk from foods in contaminated area, Thailand. *Toxicological research*, 32(1), 65-72.
- Clijsters, H. and Van Assche, F., 1985. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. *Photosynthesis Research*, 7(1), 31-40.
- Cotté-Krief, M. H., Guieu, C., Thomas, A. J. and Martin, J. M., 2000. Sources of Cd, Cu, Ni and Zn in Portuguese coastal waters. *Marine Chemistry*, 71(3-4), 199-214.
- Cui, Y. and Wang, Q., 2006. Physiological responses of maize to elemental sulphur and cadmium stress. *Plant Soil and Environment*, 52(11), 523.
- Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., Le Jean, M. ... and Mari, S., 2009. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. *Annals of botany*, 103(1), 1-11.
- Cuypers, A., Karen, S., Jos, R., Kelly, O., Els, K., Tony, R. ... and Jaco, V., 2011. The cellular redox state as a modulator in cadmium and copper responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Journal of plant physiology*, 168(4), 309-316.
- Cuypers, S. S., Khan, N. A., Anjum, N. A. and Tuteja, N., 2011. Amelioration of cadmium stress in crop plants by nutrient management: morphological, physiological and biochemical aspects. *Plant Stress*, 5(1), 1-23.
- Da-lin, L., Kai-qi, H., Jing-jing, M., Wei-wei, Q., Xiu-ping, W. and Shu-pan, Z. (2011). Effects of cadmium on the growth and physiological characteristics of sorghum plants. *African journal of biotechnology*, 10(70), 15770-15776.
- Das, J. and Sil, P. C., 2012. Taurine ameliorates alloxan-induced diabetic renal injury, oxidative stress-related signaling pathways and apoptosis in rats. *Amino acids*, 43(4), 1509-1523.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E. V. M. M., Van Montagu, M. and Van Breusegem, F., 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 57(5), 779-795.
- Daud, M. K., Sun, Y., Dawood, M., Hayat, Y., Variath, M. T., Wu, Y. X. ... and Zhu, S., 2009. Cadmium-induced functional and ultrastructural alterations in roots of two transgenic cotton cultivars. *Journal of Hazardous Materials*, 161(1), 463-473.
- del Río, L. A., Pastori, G. M., Palma, J. M., Sandalio, L. M., Sevilla, F., Corpas, F. J. ... and Hernández, J. A., 1998. The activated oxygen role of peroxisomes in senescence. *Plant Physiology*, 116(4), 1195-1200.
- Demarcay, H. 1838. Ueber die Natur der Galle. *Journal für Praktische Chemie*, 15(1), 193-212.
- Demirevska-Kepova, K., Simova-Stoilova, L., Stoyanova, Z. P. and Feller, U., 2006. Cadmium stress in barley: growth, leaf pigment, and protein

- composition and detoxification of reactive oxygen species. *Journal of plant nutrition*, 29(3), 451-468.
- Dietz, K.-J., Turkan, I. and Krieger-Liszkay, A., 2016. Redox- and reactive oxygen species-dependent signaling into and out of the photosynthesizing chloroplast. *Plant physiology*, 171(3), 1541-1550.
- Dinakar, N., Nagajyothi, P. C., Suresh, S., Damodharam, T. and Suresh, C., 2009. Cadmium induced changes on proline, antioxidant enzymes, nitrate and nitrite reductases in *Arachis hypogaea* L. *J Environ Biol*, 30(2), 289-294.
- Doğaroğlu, Z. G. 2018. Kadmiyum, Kurşun ve Çinko Metallerinin Marul (*Lactuca sativa*) Tohumlarının Çimlenme Özellikleri Üzerine Etkisi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 23(2), 299-308.
- Domínguez, M. T., Marañón, T., Murillo, J. M. and Redondo-Gómez, S., 2011. Response of Holmoak (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) and mastic shrub (*Pistacia lentiscus* L.) seedling to high concentrations of Cd and Tl in the rhizosphere. *Chemosphere*, 83(8), 1166-1174.
- Durmuş, N. 2003. Büyümeyi düzenleyici maddelerin oksidatif stres üzerine etkileri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Edwards, E. A., Rawsthorne, S. and Mullineaux, P. M., 1990. Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.). *Planta*, 180(2), 278-284.
- Ehsan, M., Barakat, M. A., Husein, D. Z. and Ismail, S. M., 2014. Immobilization of Ni and Cd in soil by biochar derived from unfertilized dates. *Water, Air, and Soil Pollution*, 225(11), 1-10.
- Ekmekçi, Y., Tanyolac, D. and Ayhan, B., 2008. Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. *Journal of plant physiology*, 165(6), 600-611.
- Elobeid, M., Göbel, C., Feussner, I. and Polle, A., 2012. Cadmium interferes with auxin physiology and lignification in poplar. *Journal of Experimental Botany*, 63(3), 1413-1421.
- Elstner, E. F. and Heupel, A., 1976. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammonium chloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Analytical biochemistry*, 70(2), 616-620.
- Elstner, E. F. 1987. Metabolism of activated oxygen species. *Biochemistry of metabolism*, Elsevier, 253-315.
- Elstner, E. 1991. Oxygen radicals—biochemical basis for their efficacy. *Klinische Wochenschrift*, 69(21-23), 949-956.
- Eppler, B. and Dawson, R., 1998. The effects of aging on taurine content and biosynthesis in different strains of rats. *Taurine 3*, Ed: S. Schaffer, J. B. Lombardini and R. J. Huxtable. Springer, Boston, 55-61.
- Erdal, S. 2010. Memeli Cinsiyet Hormonlarının Arpa ve Nohut Bitkilerinin Büyüme ve Gelişmeleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Ertani, A., Mietto, A., Borin, M. and Nardi, S., 2017. Chromium in agricultural soils and crops: a review. *Water, Air, and Soil Pollution*, 228(5), 1-12.
- Esser, B. K. and Volpe, A., 2002. At-sea high-resolution trace element mapping: San Diego Bay and its plume in the adjacent coastal ocean. *Environmental science and technology*, 36(13), 2826-2832.

- Fahad, S., Hussain, S., Khan, F., Wu, C., Saud, S., Hassan, S. ... and Huang, J., 2015. Effects of tire rubber ash and zinc sulfate on crop productivity and cadmium accumulation in five rice cultivars under field conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(16), 12424-12434.
- Falhof, J., Pedersen, J. T., Fuglsang, A. T. and Palmgren, M., 2016. Plasma membrane H⁺-ATPase regulation in the center of plant physiology. *Molecular Plant*, 9(3), 323-337.
- Fam, S. S. and Morrow, J. D., 2003. The isoprostanes: unique products of arachidonic acid oxidation—a review. *Current medicinal chemistry*, 10(17), 1723-1740.
- Farooq, M., Ullah, A., Usman, M. and Siddique, K. H., 2020. Application of zinc and biochar help to mitigate cadmium stress in bread wheat raised from seeds with high intrinsic zinc. *Chemosphere*, 260, 127652.
- Feng, S., Yue, R., Tao, S., Yang, Y., Zhang, L., Xu, M. ... and Shen, C., 2015. Genome-wide identification, expression analysis of auxin-responsive GH3 family genes in maize (*Zea mays* L.) under abiotic stresses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 57(9), 783-795.
- Fernández, R., Bertrand, A., Reis, R., Mourato, M. P., Martins, L. L. and González, A., 2013. Growth and physiological responses to cadmium stress of two populations of *Dittrichia viscosa* (L.) Greuter. *Journal of Hazardous Materials*, 244, 555-562.
- Foreman, J., Demidchik, V., Bothwell, J. H., Mylona, P., Miedema, H., Torres, M. A., Linstead, P., Costa, S., Brownlee, C. and Jones, J. D., 2003. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. *Nature*, 422(6930), 442-446.
- Foyer, C. H. and Halliwell, B., 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133(1), 21-25.
- Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F. and Scott, I. M., 1997. Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiologia plantarum*, 100(2), 241-254.
- Fridovich, I. 1989. Superoxide dismutases: an adaptation to a paramagnetic gas. *Journal of Biological Chemistry*, 264(14), 7761-7764.
- Gao, M., Zhou, J., Liu, H., Zhang, W., Hu, Y., Liang, J. and Zhou, J., 2018. Foliar spraying with silicon and selenium reduces cadmium uptake and mitigates cadmium toxicity in rice. *Science of the Total Environment*, 631, 1100-1108.
- Garg, N. and Manchanda, G., 2009. ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosystems*, 143(1), 81-96.
- Gechev, T., Gadjiev, I., Van Breusegem, F., Inzé, D., Dukiandjiev, S., Toneva, V. and Minkov, I., 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59(4), 708-714.
- Geiken, B., Masojidek, J., Rizzuto, M., Pompili, M. L. and Giardi, M. T., 1998. Incorporation of [35S] methionine in higher plants reveals that stimulation of

- the D1 reaction centre II protein turnover accompanies tolerance to heavy metal stress. *Plant, Cell and Environment*, 21(12), 1265-1273.
- Ghisla, S. and Massey, V., 1989. Mechanisms of flavoprotein-catalyzed reactions. *EJB Reviews* 1989, 29-45.
- Gichner, T., Patková, Z., Száková, J. and Demnerová, K., 2004. Cadmium induces DNA damage in tobacco roots, but no DNA damage, somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 559(1-2), 49-57.
- Gill, S. S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Gill, S. S., Khan, N. A. and Tuteja, N., 2012. Cadmium at high dose perturbs growth, photosynthesis and nitrogen metabolism while at low dose it upregulates sulfur assimilation and antioxidant machinery in garden cress (*Lepidium sativum* L.). *Plant Science*, 182, 112-120.
- Gonçalves, J. F., Becker, A. G., Cargnelutti, D., Tabaldi, L. A., Pereira, L. B., Battisti, V. ... and Schetinger, M. R., 2007. Cadmium toxicity causes oxidative stress and induces response of the antioxidant system in cucumber seedlings. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19, 223-232.
- Gondor, O. K., Pál, M., Darkó, É., Janda, T. and Szalai, G., 2016. Salicylic acid and sodium salicylate alleviate cadmium toxicity to different extents in maize (*Zea mays* L.). *PLoS One*, 11(8), e0160157.
- Gong, Y., Toivonen, P. M., Lau, O. and Wiersma, P. A., 2001. Antioxidant system level in 'Braeburn' apple is related to its browning disorder. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 42(4), 259-264.
- Gouia, H., Suzuki, A., Brulfert, J. and Ghorbal, M. H., 2003. Effects of cadmium on the co-ordination of nitrogen and carbon metabolism in bean seedlings. *Journal of plant physiology*, 160(4), 367-376.
- Goyer, R. A. 1991. Toxic effects of metals. In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. Amdur MO, Doull J and Klaassen CD, eds.
- Gratão, P. L., Monteiro, C. C., Tezotto, T., Carvalho, R. F., Alves, L. R., Peters, L. P. and Azevedo, R. A., 2015. Cadmium stress antioxidant responses and root-to-shoot communication in grafted tomato plants. *Biometals*, 28(5), 803-816.
- Griffith, O. W. 1980. Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Analytical biochemistry*, 106(1), 207-212.
- Guan, C., Ji, J., Jia, C., Guan, W., Li, X., Jin, C. and Wang, G., 2015. A GSHS-like gene from *Lycium chinense* may be regulated by cadmium-induced endogenous salicylic acid and overexpression of this gene enhances tolerance to cadmium stress in *Arabidopsis*. *Plant cell reports*, 34(5), 871-884.
- Gupta, A. S., Heinen, J. L., Holaday, A. S., Burke, J. J. and Allen, R. D., 1993. Increased resistance to oxidative stress in transgenic plants that overexpress chloroplastic Cu/Zn superoxide dismutase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(4), 1629-1633.
- Gupta, N., Yadav, K. K., Kumar, V., Kumar, S., Chadd, R. P. and Kumar, A., 2019. Trace elements in soil-vegetable interface: translocation, bioaccumulation,

- toxicity and amelioration-a review. *Science of the Total Environment*, 651, 2927-2942.
- Gutsch, A., Sergeant, K., Keunen, E., Prinsen, E., Guerriero, G., Renaut, J. ... and Cuypers, A., 2019. Does long-term cadmium exposure influence the composition of pectic polysaccharides in the cell wall of *Medicago sativa* stems?. *BMC plant biology*, 19(1), 1-17.
- Güler, N. S. 2008. *Ctenanthesetosa*'da yaprak kıvrılması sırasında apoplastik ve simplastik alanlarda antioksidan sistemde meydana gelendeğişmeler. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Haider, F. U., Liqun, C., Coulter, J. A., Cheema, S. A., Wu, J., Zhang, R., Ma Wenjun, a.b., and Farooq, M., 2021. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111887.
- Halliwell B. 1987. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* 1(5), 358-364.
- Halliwell, B. and Gutteridge, M. C., 1999. *Free Radical and Other Reactive Species and Disease* (3rd ed.). Oxford University Press, Oxford.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M., 1985. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Molecular aspects of medicine*, 8(2), 89-193.
- Halliwell, B. 1984. Toxic effect of oxygen on plant tissues. *Chloroplast metabolism*, 180-206.
- Halliwell, B. 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant physiology*, 141(2), 312-322.
- Han, Y., Wu, M., Hao, L. and Yi, H., 2018. Sulfur dioxide derivatives alleviate cadmium toxicity by enhancing antioxidant defence and reducing Cd²⁺ uptake and translocation in foxtail millet seedlings. *Ecotoxicology and environmental safety*, 157, 207-215.
- Hao, L. H., He, P. Q., Liu, C. Y., Chen, K. S. and Li, G. Y., 2004. Physiological effects of Taurine on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Zhiwu Shengliyu fen zi Sheng wuxue xue bao*= Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 30(5), 595-598.
- Hasan, S. A., Fariduddin, Q., Ali, B., Hayat, S. and Ahmad, A., 2009. Cadmium: toxicity and tolerance in plants. *J Environ Biol*, 30(2), 165-174.
- Hasan, S. A., Hayat, S., Ali, B. and Ahmad, A. (2008). 28-Homobrassinolide protects chickpea (*Cicer arietinum*) from cadmium toxicity by stimulating antioxidants. *Environmental pollution*, 151(1), 60-66.
- Havaux, M. 1998. Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends in plant science*, 3(4), 147-151.
- Hayat, S., Hasan, S. A. and Ahmad, A., 2011. Growth, nitrate reductase activity and antioxidant system in cadmium stressed tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars. *BASE*.
- Hayes, K. 1976. A review on the biological function of Taurine. *Nutrition Reviews*, 34(6), 161-165.
- He, J. Y., Ren, Y. F., Cheng, Z. H. U. and Jiang, D. A., 2008. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and seed amylase activities in rice (*Oryza sativa*). *Rice Science*, 15(4), 319-325.

- Heath, R. L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1), 189-198.
- Hegedüs, A., Erdei, S. and Horváth, G. (2001). Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant science*, 160(6), 1085-1093.
- Hernandez, L. E., Carpena-Ruiz, R. and Garate, A., 1996. Alterations in the mineral nutrition of pea seedling exposed to cadmium. *Journal of Plant Nutrition*, 19(12), 1581-1598.
- Heyno, E., Klose, C. and Krieger-Liszkay, A., 2008. Origin of cadmium-induced reactive oxygen species production: mitochondrial electron transfer versus plasma membrane NADPH oxidase. *New Phytologist*, 179(3), 687-699.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California agricultural experiment station*, 347(2nd edit).
- Hofmann, A. F. and Small, D. M., 1967. Detergent properties of bile salts: correlation with physiological function. *Annual review of medicine*, 18(1), 333-376.
- Holländer-Czytko, H., Grabowski, J., Sandorf, I., Weckermann, K. and Weiler, E. W., 2005. Tocopherol content and activities of tyrosine aminotransferase and cystine lyase in *Arabidopsis* under stress conditions. *Journal of Plant Physiology*, 162(7), 767-770.
- Hossain, M. A., Piyatida, P., da Silva, J. A. T. and Fujita, M., 2012. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. *Journal of botany*, 2012.
- Hsu, Y. T. and Kao, C. H., 2007. Heat shock-mediated H₂O₂ accumulation and protection against Cd toxicity in rice seedlings. *Plant and soil*, 300(1-2), 137-147.
- Huang, B., Li, Z., Li, D., Yuan, Z., Nie, X., Huang, J. and Zhou, Y., 2018. Effect of moisture condition on the immobilization of Cd in red paddy soil using passivators. *Environmental technology*.
- Huang, S., Van Aken, O., Schwarzländer, M., Belt, K. and Millar, A. H., 2016. The roles of mitochondrial reactive oxygen species in cellular signaling and stress response in plants. *Plant physiology*, 171(3), 1551-1559.
- Hussain, A., Ali, S., Rizwan, M., ur Rehman, M. Z., Qayyum, M. F., Wang, H. and Rinklebe, J., 2019. Responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants grown in a Cd contaminated soil to the application of iron oxide nanoparticles. *Ecotoxicology and environmental safety*, 173, 156-164.
- Hussain, B., Ashraf, M. N., Rahman, S. U., Abbas, A., Li, J. and Farooq, M., 2021a. Cadmium stress in paddy fields: effects of soil conditions and remediation strategies. *Science of The Total Environment*, 754, 142188.

- Hussain, B., Umer, M. J., Li, J., Ma, Y., Abbas, Y., Ashraf, M. N. ... and Farooq, M., 2021b. Strategies for reducing cadmium accumulation in rice grains. *Journal of Cleaner Production*, 286, 125557.
- Hussain, I., Akhtar, S., Ashraf, M. A., Rasheed, R., Siddiqi, E. H. and Ibrahim, M., 2013. Response of maize seedling to cadmium application after different time intervals. *International Scholarly Research Notices*, 2013.
- Hussain, M. M., Saeed, A., Khan, A. A., Javid, S. and Fatima, B., 2015. Differential responses of one hundred tomato genotypes grown under cadmium stress. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 13162-71.
- Huxtable, R. J. 1992. Physiological actions of Taurine. *Physiol Rev*, 72(1), 101-163.
- Hwang, D. F. and Wang, L. C., 2001. Effect of Taurine on toxicity of cadmium in rats. *Toxicology*, 167(3), 173-180.
- Ismael, M. A., Elyamine, A. M., Moussa, M. G., Cai, M., Zhao, X. and Hu, C., 2019. Cadmium in plants: uptake, toxicity, and its interactions with selenium fertilizers. *Metallomics*, 11(2), 255-277.
- Jackson, C., Dench, J., Moore, A. L., Halliwell, B., Foyer, C. H. and Hall, D. O., 1978. Subcellular localisation and identification of superoxide dismutase in the leaves of higher plants. *European Journal of Biochemistry*, 91(2), 339-344.
- Jacobsen, J. G. and Smith, L., 1968. Biochemistry and physiology of Taurine and Taurine derivatives. *Physiological Reviews*, 48(2), 424-511.
- Jiménez, A., Hernández, J. A., Pastori, G., del Río, L. A. and Sevilla, F., 1998. Role of the ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves. *Plant Physiology*, 118(4), 1327-1335.
- Jin, X., Yang, X., Islam, E., Liu, D. and Mahmood, Q., 2008. Effects of cadmium on ultrastructure and antioxidative defense system in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. *Journal of Hazardous Materials*, 156(1-3), 387-397.
- Jinadasa, N., Collins, D., Holford, P., Milham, P. J. and Conroy, J. P., 2016. Reaction to cadmium stress in a cadmium-tolerant variety of cabbage (*Brassica oleracea* L.): is cadmium tolerance necessarily desirable in food crops?. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(6), 5296-5306.
- Jones, D. P. 2002. [11] Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. In *Methods in enzymology* (Vol. 348, pp. 93-112). Academic Press.
- Jong, C. J., Ito, T., Mozaffari, M., Azuma, J. and Schaffer, S., 2010. Effect of β -alanine treatment on mitochondrial Taurine level and 5-Taurinomethyluridine content. *Journal of Biomedical Science*, 17(1), S25.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 2011. *Trace Elements in Soils and Plants*, 4th edn. CRC Press, Boca Raton.
- Kabata-Pendias, A. and Sadurski, W., 2004. Trace elements and compounds in soil. *Elements and their compounds in the environment: Occurrence, analysis and biological relevance*, 79-99.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A. and Timur, S., 2003. Metallerin çevresel etkileri-I. *Metallurji dergisi*, 136, 47-53.
- Kalai, T., Khamassi, K., Teixeira da Silva, J. A., Gouia, H. and Bettaieb Ben-Kaab, L., 2014. Cadmium and copper stress affect seedling growth and enzymatic activities in germinating barley seeds. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(6), 765-783.

- Kanematsu, S. and Asada, K., 1989. CuZn-superoxidedismutases in rice: occurrence of an active, monomeric enzyme and two types of isozyme in leaf and non-photosynthetic tissues. *Plant and cell physiology*, 30(3), 381-391.
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş., 2016. Serbest radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1).
- Karafakıoğlu, Y. S. 2010. Antioksidanlar ve Bir Antioksidan Olarak Taurin. Kocatepe Veteriner Dergisi, 3(1), 55-61.
- Keha, E. E. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2000. Biyokimya. Safak Yayınları, Erzurum.
- Kendler, B. S. 1989. Taurine: an overview of its role in preventive medicine. *Preventive Medicine*, 18(1), 79-100.
- Kennedy, C. D. and Gonsalves, F. A. N., 1987. The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and H^+ , efflux of excised roots. *Journal of Experimental Botany*, 38(5), 800-817.
- Keunen, E., Remans, T., Bohler, S., Vangronsveld, J. and Cuypers, A., 2011. Metal-induced oxidative stress and plant mitochondria. *International journal of molecular sciences*, 12(10), 6894-6918.
- Khaliq, A., Zia-ul-Haq, M., Ali, F., Aslam, F., Matloob, A., Navab, A. and Hussain, S., 2015. Salinity tolerance in wheat cultivars is related to enhanced activities of enzymatic antioxidants and reduced lipid peroxidation. *CLEAN–Soil, Air, Water*, 43(8), 1248-1258.
- Khan, A. and Ashraf, M., 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environmental and experimental botany*, 63(1-3), 224-231.
- Khan, A., Khan, S., Alam, M., Khan, M. A., Aamir, M., Qamar, Z. ... and Perveen, S., 2016. Toxic metal interactions affect the bioaccumulation and dietary intake of macro- and micro-nutrients. *Chemosphere*, 146, 121-128.
- Khan, M. A., Khan, S., Khan, A. and Alam, M., 2017. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of the total environment*, 601, 1591-1605.
- Khan, N., Samiullah, Singh, S. and Nazar, R., 2007. Activities of antioxidative enzymes, sulphur assimilation, photosynthetic activity and growth of wheat (*Triticum aestivum*) cultivars differing in yield potential under cadmium stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193(6), 435-444.
- Kim, K. R., Owens, G. and Naidu, R., 2009. Heavy metal distribution, bioaccessibility, and phytoavailability in long-term contaminated soils from Lake Macquarie, Australia. *Soil Research*, 47(2), 166-176.
- Kováčik, J., Tomko, J., Bačkor, M. and Repčák, M., 2006. *Matricaria chamomilla* is not a hyperaccumulator, but tolerant to cadmium stress. *Plant Growth Regulation*, 50(2), 239-247.
- Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G. and Popova, L., 2008. Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of plant physiology*, 165(9), 920-931.
- Krieger-Liszkay, A., Fufezan, C. and Trebst, A., 2008. Single oxygen production in photosystem II and related protection mechanism. *Photosynthesis Research*, 98(1-3), 551-564.

- Krzesłowska, M. 2011. The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. *Acta physiologiae plantarum*, 33(1), 35-51.
- Kubier, A., Wilkin, R. T. and Pichler, T., 2019. Cadmium in soils and groundwater: a review. *Applied Geochemistry*, 108, 104388.
- Kumar, R., Goswami, S., Kumar, N., Pandey, S., Pandey, V., Sharma, S., Pathak, H. and Rai, R., 2011. Expression of novel ascorbate peroxidase isoenzymes of wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to heat stress. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3(11), 188-194.
- Kurochkin, I. O., Etzkorn, M., Buchwalter, D., Leamy, L. and Sokolova, I. M., 2011. Top-down control analysis of the cadmium effects on molluscan mitochondria and the mechanisms of cadmium-induced mitochondrial dysfunction. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 300(1), R21-R31.
- Kuru, H. İ. 2007. Arseniğin insan ve bazı canlılarda oksidatif enzimler üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- Kuzmina, V. V., Gavrovskaya, L. K. and Ryzhova, O. V., 2010. Taurine. Effect on exotrophia and metabolism in mammals and fish. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 46(1), 19-27.
- Küpper, H., Parameswaran, A., Leitenmaier, B., Trtílek, M. and Šetlík, I., 2007. Cadmium-induced inhibition of photosynthesis and long-term acclimation to cadmium stress in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist*, 175(4), 655-674.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lauwerys, R. R. 1986. Health Maintenance of Workers Exposed to Cadmium: A Guide for Physicians.
- Lee, D. H. 2015. In vitro analysis of Taurine as anti-stress agent in tomato (*Solanum lycopersicum*)-Preliminary study. In *Taurine 9* (pp. 75-85). Springer, Cham.
- Lee, K., Bae, D. W., Kim, S. H., Han, H. J., Liu, X., Park, H. C. ... and Chung, W. S., 2010. Comparative proteomic analysis of the short-term responses of rice roots and leaves to cadmium. *Journal of Plant Physiology*, 167(3), 161-168.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses (No. Ed. 2). Academic Press.
- Li, X., Zhou, Q., Sun, X. and Ren, W., 2016. Effects of cadmium on uptake and translocation of nutrient elements in different Welsh onion (*Allium fistulosum* L.) cultivars. *Food chemistry*, 194, 101-110.
- Lichtenthaler, H. K. 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *Journal of plant physiology*, 148(1-2), 4-14.
- Liptáková, L., Huttová, J., Mistrík, I. and Tamás, L., 2013. Enhanced lipoxygenase activity is involved in the stress response but not in the harmful lipid peroxidation and cell death of short-term cadmium-treated barley root tip. *Journal of plant physiology*, 170(7), 646-652.
- Liu, E. H. 1973. A simple method for determining the relative activities of individual peroxidase isozymes in a tissue extract. *Analytical biochemistry*, 56(1), 149-154.

- Liu, H., Hussain, S., Peng, S., Huang, J., Cui, K. and Nie, L., 2014. Potentially toxic elements concentration in milled rice differ among various planting patterns. *Field Crops Research*, 168, 19-26.
- Liu, J., Cao, C., Wong, M., Zhang, Z. and Chai, Y., 2010. Variations between rice cultivars in iron and manganese plaque on roots and the relation with plant cadmium uptake. *Journal of Environmental Sciences*, 22(7), 1067-1072.
- Lourenco, R. and Camilo, M. E., 2002. Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutr Hosp*, 17(6), 262-270.
- Lu, Q., Zhang, T., Zhang, W., Su, C., Yang, Y., Hu, D. and Xu, Q., 2018. Alleviation of cadmium toxicity in *Lemna minor* by exogenous salicylic acid. *Ecotoxicology and environmental safety*, 147, 500-508.
- Lushchak, V. I. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, 101(1), 13-30.
- Lyons-Alcantara, M., Tarazona, J. V. and Mothersill, C., 1996. The differential effects of cadmium exposure on the growth and survival of primary and established cells from fish and mammals. *Cell biology and toxicology*, 12(1), 29-38.
- Mahmood, T., Gupta, K. J. and Kaiser, W. M., 2009. Cadmium stress stimulates nitric oxide production by wheat roots. *Pak J Bot*, 41(3), 6.
- Małacka, A., Piechalak, A., Morkunas, I. and Tomaszewska, B., 2008. Accumulation of lead in root cells of *Pisum sativum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(5), 629-637.
- Malik, D., Sheoran, I. S. and Singh, R., 1992. Carbon metabolism in leaves of cadmium treated wheat seedlings. *Plant physiology and biochemistry (Paris)*, 30(2), 223-229.
- Marcinkiewicz, J. and Kontny, E., 2014. Taurine and inflammatory diseases. *Amino acids*, 46(1), 7-20.
- McCarthy, I., Romero-Puertas, M. C., Palma, J. M., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Gómez, M. and Del Río, L. A., 2001. Cadmium induces senescence symptoms in leaf peroxisomes of pea plants. *Plant, Cell and Environment*, 24(10), 1065-1073.
- Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H. and Foyer, C., 1996. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases. *FEBS letters*, 378(3), 203-206.
- Metwally, A., Safronova, V. I., Belimov, A. A. and Dietz, K. J., 2005. Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. *Journal of Experimental Botany*, 56(409), 167-178.
- Migocka, M. and Klobus, G., 2007. The properties of the Mn, Ni and Pb transport operating at plasma membranes of cucumber roots. *Physiologia Plantarum*, 129(3), 578-587.
- Mikolajczak, D. J., Heier, J. L., Schade, B. and Kocsch, B., 2017. Catalytic Activity of Peptide-Nanoparticle Conjugates Regulated by a Conformational Change. *Biomacromolecules*, 18(11), 3557-3562.
- Miller, D. M., Buettner, G. R. and Aust, S. D., 1990. Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1), 95-108.

- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. and Mittler, R., 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell and environment*, 33(4), 453-467.
- Minibaeva, F. and Gordon, L. K., 2003. Superoxide production and the activity of extracellular peroxidase in plant tissues under stress conditions. *Russian journal of plant physiology*, 50(3), 411-416.
- Mishra, S., Jha, A. B. and Dubey, R. S., 2011. Arsenite treatment induces oxidative stress, upregulates antioxidant system, and causes phytochelatin synthesis in rice seedlings. *Protoplasma*, 248(3), 565-577.
- Mitani-Ueno, N., Yamaji, N. and Ma, J. F., 2018. Transport system of mineral elements in rice. In *Rice genomics, genetics and breeding* (pp. 223-240). Springer, Singapore.
- Mittler, R. and Zilinskas, B., 1992. Molecular cloning and characterization of a gene encoding peroxisomal ascorbate peroxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 267(30), 21802-21807.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Van Breusegem, F., 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, 9(10), 490-498.
- Miyadate, H., Adachi, S., Hiraizumi, A., Tezuka, K., Nakazawa, N., Kawamoto, T. ... and Akagi, H., 2011. OsHMA3, a P1B-type of ATPase affects root-to-shoot cadmium translocation in rice by mediating efflux into vacuoles. *New phytologist*, 189(1), 190-199.
- Mobin, M. and Khan, N. A., 2007. Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidant response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 601-610.
- Mohamed, I., Ahamadou, B., Li, M., Gong, C., Cai, P., Liang, W. and Huang, Q., 2010. Fractionation of copper and cadmium and their binding with soil organic matter in a contaminated soil amended with organic materials. *Journal of Soils and Sediments*, 10(6), 973-982.
- Monteiro, M. S., Santos, C., Soares, A. M. V. M. and Mann, R. M., 2009. Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce. *Ecotoxicology and Environmental safety*, 72(3), 811-818.
- Montillet, J.-L., Chamnongpol, S., Rustérucci, C., Dat, J., Van De Cotte, B., Agnel, J.-P., Battesti, C., Inzé, D., Van Breusegem, F. and Triantaphylidès, C., 2005. Fatty acid hydroperoxides and H₂O₂ in the execution of hypersensitive cell death in tobacco leaves. *Plant physiology*, 138(3), 1516-1526.
- Moradi, A., Abbaspour, K. C. and Afyuni, M., 2005. Modelling field-scale cadmium transport below the root zone of a sewage sludge amended soil in an arid region in Central Iran. *Journal of Contaminant Hydrology*, 79(3-4), 187-206.
- Mourato, M., Pinto, F., Moreira, I., Sales, J., Leitão, I. and Martins, L. L., 2019. The effect of Cd stress in mineral nutrient uptake in plants. In *Cadmium toxicity and tolerance in plants* (pp. 327-348). Academic Press.
- Moyer, M. S., Goodrich, A. L., Rolfes, M. M. and Suchy, F. J., 1988. Ontogenesis of intestinal taurine transport: evidence for a beta-carrier in developing rat jejunum. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 254(6), G870-G877.

- Mukherjee, S. P. and Choudhuri, M. A., 1983. Implications of water stress-induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in Vigna seedlings. *Physiologia plantarum*, 58(2), 166-170.
- Mullineaux, P. M. and Rausch, T., 2005. Glutathione, photosynthesis and the redox regulation of stress-responsive gene expression. *Photosynthesis Research*, 86(3), 459-474.
- Mutlu, S. 2009. Salisilik asidin arpada (*Hordeum vulgare* L.) soğuk toleransını sağlama ve apoplastik ile simplastik proteinler üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Naeem, A., Zafar, M., Khalid, H., Zia-ur-Rehman, M., Ahmad, Z., Ayub, M. A. and Qayyum, M. F., 2019. Cadmium-induced imbalance in nutrient and water uptake by plants. In *Cadmium toxicity and tolerance in plants* (pp. 299-326). Academic Press.
- Nakagawa, K. and Kuriyama, K., 1975. Effect of Taurine on alteration in adrenal functions induced by stress. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 25(6), 737-746.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28(1), 131-140.
- Nasraoui-Hajaji, A., Gouia, H., Carrayol, E. and Haouari-Chaffei, C., 2012. Ammonium alleviates redox state in solanum seedlings under cadmium stress conditions. *J. Environ. Anal. Toxicol*, 2, 116-120.
- Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A., Khan, M. I. R., Syeed, S. and Khan, N. A., 2012. Cadmium toxicity in plants and role of mineral nutrients in its alleviation.
- Nishiyama, Y., Ikeda, H., Haramaki, N., Yoshida, N. and Imaizumi, T., 1998. Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. *American heart journal*, 135(1), 115-120.
- Noctor, G. and Foyer, C. H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, 49(1), 249-279.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Driscoll, S., Novitskaya, L. and Foyer, C. H., 2002. Drought and oxidative load in the leaves of C3 plants: a predominant role for photorespiration?. *Annals of Botany*, 89(7), 841-850.
- Noor, W., Umar, S., Mir, M. Y., Shah, D., Majeed, G., Hafeez, S. ... and Kamali, A. N., 2018. Effect of cadmium on growth, photosynthesis and nitrogen metabolism of crop plants. *IBM J Res Dev*, 18, 100-06.
- O'Flaherty, L., Stapleton, P. P., Redmond, H. P. and Bouchier-Hayes, D. J., 1997. Intestinal Taurine transport: a review. *European Journal of Clinical Investigation*, 27(11), 873-880.
- Oliveira, M. W., Minotto, J. B., De Oliveira, M. R., Zanotto-Filho, A., Behr, G. A., Rocha, R. F. ... and Klamt, F., 2010. Scavenging and antioxidant potential of

- physiological Taurine concentrations against different reactive oxygen/nitrogen species. *Pharmacological Reports*, 62(1), 185-193.
- Ouariti, O., Gouia, H. and GHORBAL, M. H., 1997. Responses of bean and tomato plants to cadmium: growth, mineral nutrition, and nitrate reduction. *Plant physiology and biochemistry* (Paris), 35(5), 347-354.
- Padh, H. 1990. Cellular functions of ascorbic acid. *Biochemistry and Cell Biology*, 68(10), 1166-1173.
- Parmar, P., Kumari, N. and Sharma, V., 2013. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. *Botanical Studies*, 54(1), 1-6.
- Pasantes-Morales, H., Wright, C. E. and Gaull, G. E., 1985. Taurine protection of lymphoblastoid cells from iron-ascorbate induced damage. *Biochemical Pharmacology*, 34(12), 2205-2207.
- Peng, C., Ou, Z., Liu, N. and Lin, G., 2005. Response to high temperature in flag leaves of super high-yielding rice Pei'ai 64S/E32 and Liangyoupeijiu. *Rice Sci*, 12(3), 179-186.
- Perfeito, R., Cunha-Oliveira, T. and Rego, A. C., 2012. Revisiting oxidative stress and mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of Parkinson disease—resemblance to the effect of amphetamine drugs of abuse. *Free Radical Biology and Medicine*, 53(9), 1791-1806.
- Peterson, P. J., 1993. Plant adaptation to environmental stress: metal pollution tolerance. Fowden, L., Mansfield, T., Stoddart, J., Chapman and Hall, 171-188.
- Petrov, V., Hille, J., Mueller-Roeber, B. and Gechev, T. S., 2015. ROS-mediated abiotic stress-induced programmed cell death in plants. *Frontiers in plant science*, 6, 69.
- Pietrini, F., Iannelli, M. A., Pasqualini, S. and Massacci, A., 2003. Interaction of cadmium with glutathione and photosynthesis in developing leaves and chloroplasts of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. *Plant physiology*, 133(2), 829-837.
- Polidoros, A. N. and Scandalios, J. G., 1999. Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). *Physiologia plantarum*, 106(1), 112-120.
- Polle, A., Klein, T. and Kettner, C., 2013. Impact of cadmium on young plants of *Populus euphratica* and *P. × canescens*, two poplar species that differ in stress tolerance. *New Forests*, 44(1), 13-22.
- Popova, L. P., Maslennikova, L. T., Ivanova, A. and Stoinova, Z., 2012. Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress. In *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change* (pp. 447-466). Springer, New York, NY.
- Pourrut, B., Lopareva-Pohu, A., Pruvot, C., Garçon, G., Verdin, A., Waterlot, C. ... and Douay, F., 2011. Assessment of flyash-aided phytostabilisation of highly contaminated soils after an 8-year field trial: Part 2. Influence on plants. *Science of the total environment*, 409(21), 4504-4510.
- Prodan, L. 1932. Cadmium poisoning: The history of cadmium poisoning and uses of cadmium. *Journal of Industrial Hygiene* 14: 132-155.
- Quan, L. J., Zhang, B., Shi, W. W. and Li, H. Y., 2008. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(1), 2-18.

- Racchi, M. L., Bagnoli, F., Balla, I. and Danti, S., 2001. Differential activity of catalase and superoxide dismutase in seedlings and in vitro micropropagated oak (*Quercus robur* L.). *Plant Cell Reports*, 20(2), 169-174.
- Ranieri, A., Castagna, A., Scebba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., Pagliari, M. and Di Toppi, L. S., 2005. Oxidative stress and phytochelatin characterisation in bread wheat exposed to cadmium excess. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(1), 45-54.
- Rao, A. C. and Reddy, A. R., 2008. Glutathione reductase: a putative redox regulatory system in plant cells. *Sulfur assimilation and abiotic stress in plants*, Springer, 111-147.
- Rascio, N. and Navari-Izzo, F., 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting?. *Plant Science*, 180(2), 169-181.
- Rascio, N., Dalla Vecchia, F., La Rocca, N., Barbato, R., Pagliano, C., Raviolo, M. ... and Gabbriellini, R., 2008. Metal accumulation and damage in rice (cv. Vialone nano) seedlings exposed to cadmium. *Environmental and Experimental Botany*, 62(3), 267-278.
- Rausch, T. and Wachter, A., 2005. Sulfur metabolism: a versatile platform for launching defence operations. *Trends in plant science*, 10(10), 503-509.
- Rebhun, S. and Ben-Amotz, A., 1984. The distribution of cadmium between the marine alga *Chlorella stigmatophora* and seawater medium: Effect on algal growth. *Water research*, 18(2), 173-178.
- Reddy, A. R. and Raghavendra, A. S., 2006. Photooxidative stress. *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*, Ed: K. V. Madhava Rao, A. S. Raghavendra and R. K. J. Springer, The Netherlands, 157-186.
- Rehman, M. Z. U., Rizwan, M., Ghafoor, A., Naeem, A., Ali, S., Sabir, M. and Qayyum, M. F., 2015. Effect of inorganic amendments for in situ stabilization of cadmium in contaminated soils and its phyto-availability to wheat and rice under rotation. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(21), 16897-16906.
- Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Zia-ur-Rehman, M., Hannan, F., Keller, C. ... and Ok, Y. S., 2016. Cadmium minimization in wheat: a critical review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 130, 43-53.
- Rizwan, M., Ali, S., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Zia-ur-Rehman, M., Abbas, Z. and Hannan, F., 2017. Use of maize (*Zea mays* L.) for phyto management of Cd-contaminated soils: a critical review. *Environmental Geochemistry and Health*, 39(2), 259-277.
- Rizwan, M., Ali, S., ur Rehman, M. Z., Rinklebe, J., Tsang, D. C., Bashir, A. ... and Ok, Y. S., 2018. Cadmium phyto remediation potential of Brassica crops species: a review. *Science of the Total Environment*, 631, 1175-1191.
- Rizwan, M., Meunier, J. D., Miche, H. and Keller, C., 2012. Effect of silicon on reducing cadmium toxicity in durum wheat (*Triticum turgidum* L. cv. Claudio W.) grown in a soil with aged contamination. *Journal of hazardous materials*, 209, 326-334.
- Romero-Puertas, M. C., Corpas, F. J., Rodríguez-Serrano, M., Gómez, M., Luis, A. and Sandalio, L. M., 2007. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. *Journal of Plant Physiology*, 164(10), 1346-1357.

- Ron, M. 2017. Rosaregood. Trends in plantscience, 22(1), 11-19.
- Rucińska-Sobkowiak, R. 2016. Waterrelations in plantssubjectedtoheavy metal stresses. ActaPhysiologiaePlantarum, 38(11), 1-13.
- Sadana, U. S., Samal, D. and Claassen, N., 2003. Differences in manganese efficiency of wheat (*Triticum aestivum* L.) and raya (*Brassica juncea* L.) as related to root-shoot relations and manganese influx. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 166(3), 385-389.
- Saether, O. M., Storroe, G., Segar, D. and Krog, R., 1997. Contamination of soil and groundwater at a former industrial site in Trondheim, Norway. Applied Geochemistry, 12(3), 327-332.
- Salas, C. E., Dittz, D. and Torres, M. J., 2018. Plant proteolytic enzymes: Their role as natural pharmacophores. In Biotechnological applications of plant proteolytic enzymes (pp. 107-127). Springer, Cham.
- Sánchez-Pardo, B., Carpena, R. O. and Zornoza, P., 2013. Cadmium in white lupin nodules: impact on nitrogen and carbon metabolism. Journal of plant Physiology, 170(3), 265-271.
- Sandalio, L. and Romero-Puertas, M., 2015. Peroxisomes sense and respond to environmental cues by regulating ROS and RNS signalling networks. Annals of Botany, 116(4), 475-485.
- Sandalio, L. M., Dalurzo, H. C., Gomez, M., Romero-Puertas, M. C. and Del Rio, L. A., 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. Journal of experimental botany, 52(364), 2115-2126.
- Sanderson, S. L. 2006. Taurine and carnitine in canine cardiomyopathy. Veterinary Clinics: Small Animal Practice, 36(6), 1325-1343.
- Sarwar, S., Kim, E. N., Kim, Y. J., Ok, S. H., Kim, K. D., Hwang, B. K. and Shin, J. S., 2005. Overexpression of a pepper ascorbate peroxidase-like 1 gene in tobacco plants enhance tolerance to oxidative stress and pathogens. Plant Science, 169(1), 55-63.
- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M. R., Ishaque, W., Kamran, M. A., Matloob, A. ... and Hussain, S., 2017. Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. Chemosphere, 171, 710-721.
- Scandalios, J. G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant physiology*, 101(1), 7.
- Schaffer, S. W., Azuma, J. and Mozaffari, M., 2009. Role of antioxidant activity of Taurine in diabetes. Canadian journal of physiology and pharmacology, 87(2), 91-99.
- Schellingen, K., Van Der Straeten, D., Vandenbussche, F., Prinsen, E., Remans, T., Vangronsveld, J. and Cuypers, A., 2014. Cadmium-induced ethylene production and responses in Arabidopsis thaliana rely on ACS2 and ACS6 gene expression. BMC plant biology, 14(1), 1-14.
- Schützendübel, A., Nikolova, P., Rudolf, C. and Polle, A., 2002. Cadmium and H₂O₂-induced oxidative stress in *Populus × canescens* roots. Plant Physiology and Biochemistry, 40(6-8), 577-584.
- Sebastian, A. and Prasad, M. N. V., 2014. Cadmium minimization in rice. A review. Agronomy for sustainable development, 34(1), 155-173.
- Shahid, M., Dumat, C., Pourrut, B., Sabir, M. and Pinelli, E., 2014b. Assessing the effect of metal speciation on lead toxicity to *Vicia faba* pigment contents. Journal of Geochemical Exploration, 144, 290-297.

- Shahid, M., Xiong, T., Masood, N., Leveque, T., Quenea, K., Austruy, A. ... and Dumat, C., 2014a. Influence of plant species and phosphorus amendments on metal speciation and bioavailability in a smelter impacted soil: a case study of food-chain contamination. *Journal of soils and sediments*, 14(4), 655-665.
- Sharma, P. and Dubey, R. S., 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant growth regulation*, 46(3), 209-221.
- Sharma, P., Jha, A. B. and Dubey, R. S., 2019. Oxidative stress and antioxidant defense system in plants growing under abiotic stresses. In *Handbook of Plant and Crop Stress, Fourth Edition* (pp. 93-136). CRC press.
- Shen, G., Niu, J. and Deng, Z., 2017. Abscisic acid treatment alleviates cadmium toxicity in purple flowering stalk (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *purpurea* Hort.) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118(3), 471-478.
- Shumyantseva, V. V., Makhova, A. A., Bulko, T. V., Bernhardt, R., Kuzikov, A. V., Shich, E. V., Kukes, V. G., Archakov, A. I., 2015. Taurine modulates catalytic activity of cytochrome P450 3A4. *Biochemistry (Mosc)*, Mar; 80(3): 366-73.
- Siedlecka, A. and Krupa, Z., 1999. Cd/Fe interaction in higher plants - its consequences for the photosynthetic apparatus. *Photosynthetica*, 36(3), 321-331.
- Siedlecka, A., Samuelsson, G., Gardeström, P., Kleczkowski, L. A. and Krupa, Z., 1998. The "activatory model" of plant response to moderate cadmium stress - relationship between carbonic anhydrase and Rubisco. In *Photosynthesis: mechanisms and effects* (pp. 2677-2680). Springer, Dordrecht.
- Sigfridsson, K. G., Bernát, G., Mamedov, F. and Styring, S., 2004. Molecular interference of Cd²⁺ with Photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1659(1), 19-31.
- Singh, S., Anjum, N., Khan, N. and Nazar, R., 2008a. Metal-binding peptides and antioxidant defence system in plants: significance in cadmium tolerance. *Abiotic stress and plant responses*. IK International, New Delhi, 159-189.
- Singh, S., Khan, N. A., Nazar, R. and Anjum, N. A., 2008b. Photosynthetic traits and activities of antioxidant enzymes in black gram (*Vigna mungo* L. Hepper) under cadmium stress. *Am J Plant Physiol*, 3, 25-32.
- Sipos, G., Solti, Á., Czech, V., Vashegyi, I., Tóth, B., Cseh, E. and Fodor, F., 2013. Heavy metal accumulation and tolerance of energy grass (*Elymus elongatus* subsp. *ponticus* cv. Szarvasi-1) grown in hydroponic culture. *Plant physiology and biochemistry*, 68, 96-103.
- Skórzyńska-Polit, E., Dra, M. and Krupa, Z., 2003. The activity of the antioxidant system in cadmium-treated *Arabidopsis thaliana*. *Biologia Plantarum*, 47(1), 71-78.
- Skrebsky, E. C., Tabaldi, L. A., Pereira, L. B., Rauber, R., Maldaner, J., Cargnelutti, D. ... and Nicoloso, F. T., 2008. Effect of cadmium on growth, micronutrient concentration, and δ -aminolevulinic acid dehydratase and acid phosphatase activities in plants of *Pfaffia glomerata*. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20, 285-294.

- Smirnoff, N. 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Current opinion in plant biology*, 3(3), 229-235.
- Smirnoff, N. 2005. Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. *Antioxidants and reactive oxygen species in plants*, 53-86.
- Sneideris, L. C., Gavassi, M. A., Campos, M. L., D'Amico-Damiao, V. and Carvalho, R. F., 2015. Effects of hormonal priming on seed germination of pigeon pea under cadmium stress. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87, 1847-1852.
- Solti, Á., Sárvári, É., Tóth, B., Basa, B., Lévai, L. and Fodor, F., 2011. Cd affects the translocation of some metal cations either Fe-like or Ca-like way in poplar. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(5), 494-498.
- Sonsuz, B., Kargıoğlu, A. F., Şipka, M., Oruç, M. M., Hepşen, Ö., Selvi, E. ... and Karafazlıoğlu, M., 2011. Adapazarı ilçesindeki endüstriyel kaynaklı emisyonların envanterlenmesi. Lisans Bitirme Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya.
- Sovet, A. 1858. Empoisonnement par une poudre à rincer l'argenterie. *Presse Med Belge*, 10, 69-71.
- Stiborová, M. 1988. Cd²⁺ ions affect the quaternary structure of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase from barley leaves. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 183(5), 371-378.
- Stohs, S. J. and Bagchi, D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free radical biology and medicine*, 18(2), 321-336.
- Streb, P., Michael-Knauf, A. and Feierabend, J., 1993. Preferential photoinactivation of catalase and photoinhibition of photosystem II are common early symptoms under various osmotic and chemical stress conditions. *Physiologia plantarum*, 88(4), 590-598.
- Sturman, J. A. 1988. Taurine in development. *The Journal of Nutrition*, 118(10), 1169-1176.
- Sturman, J. A., Hepner, G. W., Hofmann, A. F. and Thomas, P. J., 1975. Metabolism of [35S] Taurine in man. *The Journal of nutrition*, 105(9), 1206-1214.
- Tamas, L., Bočová, B., Huttová, J., Liptáková, L., Mistřík, I., Valentovičová, K. and Zelinová, V., 2012. Impact of the auxin signaling inhibitor p-chlorophenoxyisobutyric acid on short-term Cd-induced hydrogen peroxide production and growth response in barley root tip. *Journal of Plant Physiology*, 169(14), 1375-1381.
- Tang, Y., Xie, Y., Sun, G., Tan, H., Lin, L., Li, H. ... and Tu, L., 2018. Cadmium-accumulator straw application alleviates cadmium stress of lettuce (*Lactuca sativa*) by promoting photosynthetic activity and antioxidant enzyme activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 30671-30679.
- Tantrey, M. S. and Agnihotri, R. K., 2010. Chlorophyll and proline content of gram (*Cicer arietinum* L.) under cadmium and mercury treatments. *Res J Agric Sci*, 1(2), 119-122.
- Tappaz, M. L., 2004. Taurine biosynthetic enzymes and taurine transporter: molecular identification and regulations. *Neurochem. Res.*, 29 (1): 83-96.
- Taşgın, E. 2004. Düşük sıcaklık ve salisilik asidin kışlık buğday yapraklarındaki donma toleransı, oksidatif enzim aktiviteleri ve apoplastik proteinler üzerine etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K. and Sutton, D. J., 2012. Heavy metal toxicity and the environment. *Molecular, clinical and environmental toxicology*, 133-164.
- Thévenod, F. and Lee, W. K., 2013. Cadmium and cellular signaling cascades: interactions between cell death and survival pathways. *Archives of toxicology*, 87(10), 1743-1786.
- Thurston, J. H., Hauhart, R. E. and Dirgo, J. A., 1980. Taurine: a role in osmotic regulation of mammalian brain and possible clinical significance. *Life Sciences*, 26(19), 1561-1568.
- Tran, T. A. and Popova, L. P., 2013. Functions and toxicity of cadmium in plants: recent advances and future prospects. *Turkish journal of Botany*, 37(1), 1-13.
- Tsikas, D. 2017. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical biochemistry*, 524, 13-30.
- Ueno, D., Yamaji, N., Kono, I., Huang, C. F., Ando, T., Yano, M. and Ma, J. F., 2010. Gene limiting cadmium accumulation in rice. *Proceedings of the national academy of sciences*, 107(38), 16500-16505.
- Ulus, Y., Öztürk, L. and Elmastaş, M., 2017. Antioxidant capacity and cadmium accumulation in parsley seedling exposed to cadmium stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 64(6), 883-888.
- Vaculík, M., Pavlovič, A. and Lux, A., 2015. Silicon alleviates cadmium toxicity by enhanced photosynthetic rate and modified bundle sheath cell chloroplast ultrastructure in maize. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 120(9), 66-73.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry and cell biology*, 39(1), 44-84.
- Van Assche, F. J. 1998. A stepwise model to quantify the relative contribution of different environmental sources to human cadmium exposure. *NiCad*, 98, 21-22.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66.
- Wagner, D., Przybyla, D., op den Camp, R., Kim, C., Landgraf, F., Lee, K. P., Wüsch, M., Laloi, C., Nater, M. and Hideg, E., 2004. The genetic basis of single oxygen-induced stress responses of *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 306(5699), 1183-1185.
- Wahid, A., Ghani, A. and Javed, F., 2008. Effect of cadmium on photosynthesis, nutrition and growth of mungbean. *Agronomy for sustainable development*, 28(2), 273-280.
- Wahid, A., Ghani, A., Ali, I. and Ashraf, M. Y., 2007. Effects of cadmium on carbon and nitrogen assimilation in shoots of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] seedlings. *Journal of agronomy and crop science*, 193(5), 357-365.
- Wang, J. and Chen, C., 2009. Biosorbents for heavy metal removal and their future. *Biotechnology advances*, 27(2), 195-226.
- Wang, P., Deng, X., Huang, Y., Fang, X., Zhang, J., Wan, H. and Yang, C., 2016a. Root morphological responses of five soybean [*Glycine max* (L.) Merr]

- cultivarstocadmiumstress at youngseedlings. *EnvironmentalScienceandPollutionResearch*, 23(2), 1860-1872.
- Wang, Q., Chen, L., He, L. Y.andSheng, X. F., 2016b. Increasedbiomassandreducedheavy metal accumulation of edibletissues of vegetablecrops in the presence of plantgrowth-promotingNeorhizobiumhuaatlense T1-17 andbiochar. *Agriculture, Ecosystemsand Environment*, 228, 9-18.
- Wikfors, G. H.andUkeles, R., 1982. Growthand Adaptation of EstuarineUnicellularAlgae in Media WithExcessCopper, CadmiumorZinc, andEffects of Metal-ContaminatedAlgalFood on *Crassostreavirginicalarvae*. *Mar EcolProg Ser*, 7(9), 206.
- Witham, F. H.,Feung, C.-S. and Hamilton, R. H., 1971. Metabolism of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acidbysoybeancotyledoncallustissuecultures. *Journal of AgriculturalandFoodChemistry*, 19(3), 475-479.
- Woodbury, W.,Spencer, A. K.andStahmann, M. A., 1971. An improvedprocedureusingferricyanidefordetectingcatalaseisozymes. *Analytical biochemistry*, 44(1), 301-305.
- Wright, C. E., Tallan, H. H., Lin, Y. Y., Gaull, G. E., 1986. Taurine: biologicalupdate. *AnnuRevBiochem*,; 55: 427-453.
- Wu, F., Zhang, G.,Dominy, P.,Wu, H.andBachir, D. M., 2007. Differences in yieldcomponentsandkernelCdaccumulation in responsetoCdtoxicity in fourbarleygenotypes. *Chemosphere*, 70(1), 83-92.
- Wuana, R. A.andOkieimen, F. E., 2011. Heavymetals in contaminatedsoils: a review of sources, chemistry, risksandbestavailablestrategiesforremediation. *International ScholarlyResearchNotices*, 2011.
- WW, N.,1996. Lipids, Ch. 5. *FoodChemistry*, 3rd ed. OR Fennemaeditor. Marcel Dekker, Inc. New York, NY, 225-319.
- Xiang, C., Werner, B. L.,E'Lise, M. C. and Oliver, D. J., 2001. Thebiologicalfunctions of glutathionerevisited in Arabidopsistransgenicplantswithalteredglutathionelevels. *Plantphysiology*, 126(2), 564-574.
- Xu, X.,Liu, C., Zhao, X.,Li, R.andDeng, W., 2014. Involvement of an antioxidantdefensesystem in theadaptiveverresponsetocadmium in maizeseedlings (*Zeamays* L.). *Bulletin of environmentalcontaminationandtoxicology*, 93(5), 618-624.
- Yadav, S. K. 2010. Heavymetalstoxicity in plants: an overview on the role of glutathioneandphytochelatins in heavy metal stresstolerance of plants. *South Africanjournal of botany*, 76(2), 167-179.
- Yamaguchi, N., Mori, S., Baba, K.,Kaburagi-Yada, S.,Arao, T.,Kitajima, N. ... andTerada, Y., 2011. Cadmiumdistribution in theroottissues of solanaceousplantswithcontrastingroot-to-shootCdtranslocationefficiencies. *EnvironmentalandExperimentalBotany*, 71(2), 198-206.
- Yan, D.,Duermeyer, L.,Leoveanu, C.andNambara, E., 2014. Thefunctions of the endosperm duringseedgermination. *Plantand Cell Physiology*, 55(9), 1521-1533.
- Yang, Y., Han, C.,Liu, Q., Lin, B. and Wang, J., 2008. Effect of droughtandlowlight on growthandenzymaticantioxidantsystem of *Piceasperataseedlings*. *ActaPhysiologiaePlantarum*, 30(4), 433-440.

- Yannarelli, G. G., Fernández-Alvarez, A. J., Santa-Cruz, D. M. and Tomaro, M. L., 2007. Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress. *Phytochemistry*, 68(4), 505-512.
- Ye, Y., Tam, N. F., Wong, Y. and Lu, C., 2003. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguiera gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to water logging. *Environmental and experimental botany*, 49(3), 209-221.
- Yılmaz, S. and Ozan, S., 2003. Meme kanserli hastalarda lipid peroksidasyonu ve bazı enzim aktiviteleri arasındaki ilişki. *Türk Biyokimya Dergisi*, 28(4), 252-256.
- Ying, R. R., Qiu, R. L., Tang, Y. T., Hu, P. J., Qiu, H., Chen, H. R. ... and Morel, J. L., 2010. Cadmium tolerance of carbon assimilation enzymes and chloroplast in Zn/Cd hyperaccumulator *Picris divaricata*. *Journal of plant physiology*, 167(2), 81-87.
- Younis, U., Malik, S. A., Rizwan, M., Qayyum, M. F., Ok, Y. S., Shah, M. H. R. ... and Ahmad, N., 2016. Biochar enhances the cadmium tolerance in spinach (*Spinacia oleracea*) through modification of Cd uptake and physiological and biochemical attributes. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(21), 21385-21394.
- Yuan, Z., Luo, T., Liu, X., Hua, H., Zhuang, Y., Zhang, X. ... and Ren, J., 2019. Tracing anthropogenic cadmium emissions: from source to pollution. *Science of the total environment*, 676, 87-96.
- Zaefy zadeh, M., Quliyev, R. A., Babayeva, S. and Abbasov, M. A., 2009. The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces. *Turkish Journal of biology*, 33(1), 1-7.
- Zhang, C. J., Chen, L., Shi, D. W., Chen, G. X., Lu, C. G., Wang, P. ... and Sun, L., 2007. Characteristics of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase and C4 pathway key enzymes in flag leaves of a super-high-yield hybrid rice and its parents during the reproductive stage. *South African Journal of Botany*, 73(1), 22-28.
- Zhang, F., Shi, W., Jin, Z. and Shen, Z., 2002. Response of antioxidative enzymes in cucumber chloroplasts to cadmium toxicity. *Journal of plant nutrition*, 26(9), 1779-1788.
- Zhang, K., Wang, G., Bao, M., Wang, L. and Xie, X., 2019. Exogenous application of ascorbic acid mitigates cadmium toxicity and uptake in Maize (*Zea mays* L.). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(19), 19261-19271.
- Zhao, F. Y., Han, M. M., Zhang, S. Y., Wang, K., Zhang, C. R., Liu, T. and Liu, W., 2012. Hydrogen peroxide-mediated growth of the root system occurs via auxin signaling modification and variations in the expression of cell-cycle genes in rice seedlings exposed to cadmium stress. *Journal of integrative plant biology*, 54(12), 991-1006.
- Zhou, J., Wan, H., He, J., Lyu, D. and Li, H., 2017. Integration of cadmium accumulation, subcellular distribution, and physiological responses to understand cadmium tolerance in apple rootstocks. *Frontiers in Plant Science*, 8, 966.
- Zhou, W. and Qiu, B., 2005. Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (Crassulaceae). *Plant Science*, 169(4), 737-745.

- Zhu, X. F., Jiang, T., Wang, Z. W., Lei, G. J., Shi, Y. Z., Li, G. X. and Zheng, S. J., 2012. Gibberellic acid alleviates cadmium toxicity by reducing nitric oxide accumulation and expression of IRT1 in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Hazardous Materials*, 239, 302-307.
- Zlatev, Z., Lidon, F., Ramalho, J. and Yordanov, I., 2006. Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biologia Plantarum*, 50(3), 389-394.
- Zulfiqar, U., Ayub, A., Hussain, S., Waraich, E. A., El-Esawi, M. A., Ishfaq, M. ... and Maqsood, M. F., 2021. Cadmium toxicity in plants: Recent progress on morpho-physiological effects and remediation strategies. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-58.
- Zulfiqar, U., Farooq, M., Hussain, S., Maqsood, M., Hussain, M., Ishfaq, M., Ahmad M., and Anjum, M. Z., 2019. Lead toxicity in plants: Impacts and remediation. *Journal of environmental management*, 250, 109557.

