

**BAZI ARPA VE BUĞDAY VARYETELERİNDE
MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL
YANITLAR ÜZERİNE TOKSİK
METALLERİN ETKİSİ**

Ceyhan HACIOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Ocak-2015

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ceyhan Hacıoğlu'nun "Bazı arpa ve buğday varyetelerinde morfolojik ve biyokimyasal yanıtlar üzerine toksik metallerin etkisi" başlıklı Biyoloji Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 12.01.2015 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Elif ÖZTETİK
Üye : Doç. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN
Üye : Doç. Dr. Hasan TÜRKEZ

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI ARPA VE BUĞDAY VARYETELERİNDE MORFOLOJİK VE BİYOKİMYASAL YANITLAR ÜZERİNE TOKSİK METALLERİN ETKİSİ

Ceyhan HACIOĞLU

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Elif ÖZTETİK

2015, 121 sayfa

Toprakta ağır metallerin (HM) birikimi besin zinciri yoluyla hayvan ve insan sağlığı üzerinde önemli etkilere sahiptirler. Ayrıca, hücreler enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmalarının yardımıyla ağır metallerin oluşturduğu serbest oksijen radikallerinin (ROS) zararlı etkilerini detoksifiye edebilirler. Glutasyon S-transferaz (GST), tripeptit glutasyon (GSH) ile elektrofilik ksenobiyotik substratların konjugasyonunu katalizleyen bir enzim grubudur. Öte yandan GSH, ROS kaynaklı oksidatif hasara karşı hücrel savunmada için en önemli metabolitlerden biri olarak kabul edilir. Bu çalışmada *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001, *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001, *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 ve *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türlerinin radikula ve hipokotillerinde GST aktivitesi, protein ve GSH içerikleri, çimlenme yüzdeleri, radikula ve hipokotillerin uzunlukları ile su içeriği üzerindeki kadmiyum klorür ($CdCl_2$) ve kurşun klorürün ($PbCl_2$) farklı konsantrasyonlarının etkisi değerlendirilmiştir. Uygulanan ağır metaller GSH içeriğinde kontrol gruplarına göre farklılıklar göstermiştir. GST aktivite ölçümlerinin sonucunda, ağır metal uygulamalarının 1,5 mM Pb konsantrasyonunda Bilgi-91 ve Kalaycı-97 türlerinin hipokotillerinin kontrol gruplarına göre önemli bir artışa olmuş ve bu artış sırasıyla %502 ve %308 iken, 1,5 mM Cd konsantrasyonunda bu türlerin radikulalarındaki aktivite artışı kontrol grubuna göre sırasıyla %558 ve %478 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının bitki türlerinde fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri olumsuz etkilediği ve ağır metal stresine daha dayanıklı buğday ve arpa türünün Alpu-2001 ve Bilgi-91 olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ağır Metaller, Buğday, Arpa, Glutasyon S-Transferaz.

ABSTRACT

Master of Science Thesis

IMPACT OF TOXIC METALS ON RESPONSES MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL SOME OF BARLEY AND WHEAT VARIETIES

Ceyhan HACIOĞLU

Anadolu University

Graduate School of Sciences

Biology Department

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Elif ÖZTETİK

2015, 121 pages

Heavy metals (HM) effect on the health of animals and humans via food chains. Either directly or indirectly, HM cause oxidative damage in plants through reactive oxygen species (ROS) formation. However, cells can detoxify the harmful effects of ROS with the help of enzymatic or nonenzymatic antioxidant defense mechanisms. Of those, glutathione S-transferases (GST) are a diverse group of enzymes catalyzing the conjugation of electrophilic xenobiotic substrates with the tripeptide glutathione (GSH). On the other hand, GSH is considered as one of the most important metabolite for intracellular defense against ROS induced oxidative damage. In this study, toxic effects of lead chloride (PbCl₂) and cadmium chloride (CdCl₂) on germination, length of hypocotyl and radicle, water content, GSH contents, GST activities of wheat (*Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 and *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001) and barley genotypes (*Hordeum vulgare* L. Kalaycı-97 and *Hordeum vulgare* L. Bilgi-91) were investigated. The application of HMs to plants caused differences in GSH contents as compared to their control groups. As a result of GST activity measurements, the highest activities were observed in Bilgi-91 and Kalaycı-97 shoots with 3 mM Pb treatment (502 and 308% of control for Bilgi-91 and Kalaycı-97, respectively) and in roots with 1,5 mM Cd treatment (558 and 478% of control, respectively). In conclusion heavy metals affects physiological and biochemical mechanisms of wheat and barley genotypes Alpu-2001 and Bilgi-91 have more tolerated to heavy metals.

Keywords: Barley, Wheat, Glutathione S-Transferases, Heavy metals.

TEŞEKKÜR

Öncelikle, tez çalışma konumun belirlenmesi ve tez çalıŐmam boyunca değerli bilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif ÖZTETİK'e teŐekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecimde verdikleri manevi desteklerinden dolayı tüm laboratuvar arkadaşlarıma;

Tüm yaşamım ve eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Ceyhan HACIOğLU

Ocak 2015

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Ağır Metaller.....	2
1.1.1. Ağır metallerin genel özellikleri	2
1.1.2. Ağır metaller ve bitki metabolizması üzerine etkileri.....	3
1.1.2.1. Kadmiyum (Cd).....	3
1.1.2.2. Kurşun (Pb).....	4
1.2. Serbest Radikaller	6
1.2.1. Serbest radikallerin lipidlere etkileri.....	8
1.2.2. Serbest radikallerin proteinlere etkileri	8
1.2.3. Serbest radikallerin nükleik asitlere etkileri	9
1.2.4. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri.....	9
1.3. Antioksidan Mekanizmalar	9
1.3.1. Enzimatik olmayan antioksidanlar.....	10

1.3.2. Enzimatik antioksidanlar	12
1.4. Glutasyon S-Transferaz Enzim Ailesi	14
2. MATERYAL VE METOT	18
2.1. Materyal	18
2.1.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar	18
2.2. Metot	19
2.2.1. Çimlenme	19
2.2.2. Su içeriğinin belirlenmesi	20
2.2.3. GSH içeriğinin belirlenmesi.....	20
2.2.4. Toplam protein içeriklerinin belirlenmesi.....	21
2.2.5. Taze örneklerden sitozolik ekstraktın hazırlanması	23
2.2.6. GST aktivitelerinin belirlenmesi	23
2.2.7. İstatistiksel analiz	24
3. BULGULAR	25
3.1. Tohumların Çimlenmesi, Su İçeriği, Hipokotil Ve Radikula	
Uzunlukları	25
3.1.1. Ağır metal stresinin çimlenme üzerine etkileri	25
3.1.2. Ağır metal stresinin su içeriği üzerine etkileri	29
3.1.3. Ağır metal stresinin hipokotil ve radikula uzunlukları	
üzerine etkiler.....	36

3.2. Bitkilerin Toplam GSH İçerikleri	42
3.2.1. Ağır metal stresinin farklı buğday türlerindeki GSH miktarları üzerine etkileri	46
3.2.1.1. <i>T. aestivum</i> L. cv. İzgi-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	47
3.2.1.2. <i>T. aestivum</i> L. cv. İzgi-2001 türünün radikula GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	49
3.2.1.3. <i>T. aestivum</i> L. cv. Alpu-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	50
3.2.1.4. <i>T. aestivum</i> L. cv. Alpu-2001 türünün radikula GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	52
3.2.2. Ağır metal stresinin farklı arpa türlerindeki GSH miktarları üzerine etkileri	53
3.2.2.1. <i>H. vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	54
3.2.2.2. <i>H. vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97 türünün radikula GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	56
3.2.2.3. <i>H. vulgare</i> L. cv. Bilgi-91 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	57
3.2.2.4. <i>H. vulgare</i> L. cv. Bilgi-91 türünün radikula GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	59
3.3. Bitkilerin Toplam Protein İçerikleri	60

3.3.1. Ağır metal stresinin farklı buğday türlerindeki protein miktarları üzerine etkileri.....	64
3.3.1.1. <i>T. aestivum</i> L. cv. İzgi-2001 türünün hipokotil protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	65
3.3.1.2. <i>T. aestivum</i> L. cv. İzgi-2001 türünün radikula protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	67
3.3.1.3. <i>T. aestivum</i> L. cv. Alpu-2001 türünün hipokotil protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	68
3.3.1.4. <i>T. aestivum</i> L. cv. Alpu-2001 türünün radikula protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	70
3.3.2. Ağır metal stresinin farklı arpa türlerindeki protein miktarları üzerine etkileri.....	71
3.3.2.1. <i>H. vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97 türünün hipokotil protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	72
3.3.2.2. <i>H. vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97 türünün radikula protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	74
3.3.2.3. <i>H. vulgare</i> L. cv. Bilgi-91 türünün hipokotil protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	75
3.3.2.4. <i>H. vulgare</i> L. cv. Bilgi-91 türünün radikula protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri	77
3.4. Bitkilerde GST Aktivitesinin Belirlenmesi.....	78

3.4.1. Ağır metal stresinin farklı buğday türlerindeki GST	
aktiviteleri üzerine etkileri	82
3.4.1.1. <i>T. aestivum</i> L. cv. İzgi-2001 türünün hipokotil GST	
aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri	83
3.4.1.2. <i>T. aestivum</i> L. cv. İzgi-2001 türünün radikula GST	
aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri	85
3.4.1.3. <i>T. aestivum</i> L. cv. Alpu-2001 türünün hipokotil GST	
aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri	86
3.4.1.4. <i>T. aestivum</i> L. cv. Alpu-2001 türünün radikula GST	
aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri	88
3.4.2. Ağır metal stresinin farklı arpa türlerindeki GST	
aktiviteleri üzerine etkileri	89
3.4.2.1. <i>H. vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97 türünün hipokotil GST	
aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri	91
3.4.2.2. <i>H. vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97 türünün radikula GST	
aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri	92
3.4.2.3. <i>H. vulgare</i> L. cv. Bilgi-91 türünün hipokotil GST	
aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri	94
3.4.2.4. <i>H. vulgare</i> L. cv. Bilgi-91 türünün radikula GST	
aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri	95

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	97
5. KAYNAKLAR	106

ŞEKİLLER DİZİNİ

1.1. Serbest radikallerin hücresel hedefleri	7
2.1. GSH standart grafiği	21
2.2. BSA için standart kalibrasyon eğrisi.....	23
3.1. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki çimlenme üzerine etkisi	27
3.2. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil su içeriği üzerine etkisi	32
3.3. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula su içeriği üzerine etkisi	35
3.4. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil uzunlukları üzerine etkisi	37
3.5. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula uzunlukları üzerine etkisi	42
3.6. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil GSH miktarları (µl/ml) üzerine etkisi	44
3.7. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula GSH miktarları (µl/ml) üzerine etkisi	46
3.8. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil protein miktarları (mg/ml) üzerine etkisi	62
3.9. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula protein miktarları (mg/ml) üzerine etkisi	64

- 3.10. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil GST aktiviteleri üzerine etkisi80
- 3.11. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula GST aktiviteleri üzerine etkisi82

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1. Antioksidanların sınıflandırılması.....	10
1.2. Bitkisel enzimatik antioksidanlar.....	14
2.1. Alkali bakır reaktif.....	22
2.2. Lowry yöntemi ile total protein tayini	23
3.1. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin çimlenme oranına göre yapılan varyans analizi sonuçları	25
3.2. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin çimlenme oranı bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	26
3.3. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki çimlenme oranı üzerine etkisinin istatistiksel analizi	28
3.4. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki çimlenme oranı üzerine etkisinin istatistiksel analizi	29
3.5. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil su içeriğine göre yapılan varyans analizi sonuçları	29
3.6. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil su içeriği bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	30
3.7. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil su içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizi	31
3.8. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil su içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizi	31

3.9. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula su içeriğine göre yapılan varyans analizi sonuçları	33
3.10. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula su içeriği bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları ...	33
3.11. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula su içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizi	34
3.12. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula su içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizi	35
3.13. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil uzunluklarına göre yapılan varyans analizi sonuçları	36
3.14. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil uzunlukları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	37
3.15. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	38
3.16. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	39
3.17. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula uzunluklarına göre yapılan varyans analizi sonuçları	39
3.18. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula uzunlukları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	40

3.19. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	41
3.20. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	41
3.21. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil GSH miktarına göre yapılan varyans analizi sonuçları	43
3.22. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil GSH miktarları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	43
3.23. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula GSH miktarına göre yapılan varyans analizi sonuçları	45
3.24. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula GSH miktarları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	45
3.25. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil GSH miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	47
3.26. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula GSH miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	47
3.27. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	48

3.28. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	48
3.29. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün radikula GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	49
3.30. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde radikula GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	50
3.31. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	51
3.32. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	51
3.33. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün radikula GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	52
3.34. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde radikula GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	53
3.35. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil GSH miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	54
3.36. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula GSH miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi.....	54

3.37. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	55
3.38. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	55
3.39. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün radikula GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	56
3.40. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde radikula GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	57
3.41. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	58
3.42. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	58
3.43. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün radikula GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	59
3.44. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde radikula GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	60
3.45. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil protein miktarına göre yapılan varyans analizi sonuçları	61

3.46. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil protein miktarları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	61
3.47. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula protein miktarına göre yapılan varyans analizi sonuçları	63
3.48. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula protein miktarları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	63
3.49. Farklı ağır metallerin konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil protein miktarları üzerine etkisini gösteren istatistiksel analizi ..	65
3.50. Farklı ağır metallerin konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula protein miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	65
3.51. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	66
3.52. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	66
3.53. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün radikula protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	67
3.54. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde radikula protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	68

3.55. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	69
3.56. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	69
3.57. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün radikula protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	70
3.58. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde radikula protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	71
3.59. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil protein miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	72
3.60. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula protein miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi	72
3.61. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	73
3.62. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	73
3.63. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün radikula protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	74

3.64. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde radikula protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	75
3.65. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	76
3.66. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	76
3.67. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün radikula protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	77
3.68. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde radikula protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	78
3.69. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil GST aktivitelerine göre yapılan varyans analizi sonuçları	79
3.70. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil GST aktiviteleri bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	79
3.71. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula GST aktivitelerine göre yapılan varyans analizi sonuçları	81

3.72. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula GST aktiviteleri bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	81
3.73. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil GST aktiviteleri üzerine etkisinin istatistiksel analizi	83
3.74. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula GST aktiviteleri üzerine etkisinin istatistiksel analizi	83
3.75. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları.....	84
3.76. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	84
3.77. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	85
3.78. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	86
3.79. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	87
3.80. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	87

3.81. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	88
3.82. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	89
3.83. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil GST aktiviteleri üzerine etkisinin istatistiksel analizi	90
3.84. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula GST aktiviteleri üzerine etkisinin istatistiksel analizi	90
3.85. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	91
3.86. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	92
3.87. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	93
3.88. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	93
3.89. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	94

3.90. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	95
3.91. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları	96
3.92. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları	96

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μM : Mikromolar

$^1\text{O}_2$: Singlet oksijen

ATP : Adenozin Trifosfat

Cd : Kadmiyum

CdCl_2 : Kadmiyum Klorid

Cm : Santrimetre

CO_2 : Karbondioksit

Cu : Bakır

DNA : Deoksiribonükleik Asit

Fe^{+2} : Ferro Demir

GPx : Fosfolipit-Hidroperoksit

GSH : Glutatyon

GST : Glutatyon S-Transferaz

H_2O : Su

H_2O_2 : Hidrojen Peroksit

HM : Ağır Metal

HNE : 4-hidroksi-2-noneal

IgG : İmmunoglobulin G

Kg : Kilogram

L^* : Lipid Radikali

LOO^* : Lipid Peroksil Radikali

LOOH : Lipid Peroksit

mg : Miligram

mM : Milimolar

NADPH : Nikotinamid Adenin Dinükleotid

Ni :Nikel

O_2^{*-} : Hidrojen Süperoksit Anyon

O_2H^* : Perhidroksil Radikali

OH^* : Hidroksil Radikali

Pb : Kurşun

$PbCl_2$: Kurşun Klorid

RNA : Ribonüleik Asit

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

UV : Ultra viole

Zn : Çinko

α : Alfa

β : Beta

γ : Gama

δ : Delta

1. GİRİŞ

Günümüzde ekosistemlerin toprak, su ve hava gibi ortamlarında yaygın bir şekilde birikmeye başlayan ağır metaller, dünya yüzeyindeki tüm organizmaların yaşamını tehdit eden önemli bir çevre sorunu haline almıştır. Ağır metallerin çevreye yayılmasına neden olan etmenlerin başında endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların egzozları, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik faaliyetler, tarımda kullanılan gübre ve ilaçlar ile kentsel atıklar gelmektedir (Stresty ve Madhava Rao 1999). Ekosfere ulaşan ağır metallerden çinko (Zn), mangan (Mn), kobalt (Co), bakır (Cu), nikel (Ni) ve molibden (Mo) bitki gelişimi için mutlak gerekli iken alüminyum (Al), vanadyum (V), arsenik (As), cıva (Hg), kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve selenyum (Se) toksik etkilidir. Bitki gelişimi için mutlak gerekli element olsun veya olmasın ağır metallerin doku ve organlardaki aşırı birikimi bitkilerin vejetatif ve generatif organlarının gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir (Gür ve ark. 2004). Ağır metaller bu toksik etkileri nedeniyle bitkilerde transpirasyon, stoma hareketleri, su alımı, fotosentez, enzim aktivitesi, çimlenme, protein sentezi, zar stabilitesi, hormonal denge gibi birçok fizyolojik olayın bozulmasına neden olmaktadır (Kennedy ve Gonsalves 1987). Toksikite, metalden metale değişebildiği gibi, organizmadan organizmaya da değişebilmektedir. Olumlu veya olumsuz (toksik) etkiler yalnızca elementin tipi ve konsantrasyonuna bağlı olmayıp değişik türlerin genetik esaslı fizyolojik davranışları ile de ilgilidir (Haktanır ve Arcaç 1998).

Buğday (*Triticum aestivum* L.), dünyada ve Türkiye’de stratejik bir bitki olup, insanların temel enerji ve protein kaynağı durumundadır. Türkiye’de gıdasal enerjinin % 40’ı buğday ürünleri tarafından karşılanır. Ülkemizin ekili alanlarına bakıldığında, yaklaşık % 50’sini tahıllar, tahılların ekim alanlarının da yaklaşık % 70’ini buğday oluşturduğu görülmektedir (Güleç ve ark. 2010).

Arpa (*Hordeum vulgare* L.) buğday, mısır ve çeltikten sonra önemli tahıl cinsidir. Arpa, başta hayvan beslenmesi olmak üzere, malt ve bira endüstrisinde, az da olsa insan beslenmesinde kullanılmaktadır (Poehlman 1985). Ülkemizde her bölgede üretimi yapılabilen arpa, tarla ürünleri içinde ekiliş alanı ve üretim açısından buğdaydan sonra ikinci sırada gelmektedir. Arpa, Türkiye’nin tüm

bölgelerinde yetiştirilmekle birlikte, özellikle Orta Anadolu (Konya, Ankara, Eskişehir ve Kırşehir) ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri (Şanlıurfa, Diyarbakır, Mardin) arpa yetiştiriciliği konusunda önemli iki bölgedir (Yılmaz 2007).

Bitkisel üretimin tüm aşamalarını olumsuz etkileyen, verim ile kaliteyi düşüren faktörlerden birisi ağır metallerin sebep olduğu kirliliktir. Ağır metal kirliliği insanların endüstriyel ve şehirsal atıkları ile havayı kirletici maddelerin iyi yönetilememesi, trafik yoğunluğu, aşırı pestisit ve gübre kullanımına dayalı yoğun tarım uygulamaları gibi faaliyetleri ile tarım toprakları, yeraltı ve yerüstü sularında artmaktadır. Endüstriyel veya kentsel atık suları ile kirlenmiş akarsu ve göllerin tarımsal amaçla kullanılması sonucunda, topraklarda önemli düzeyde iz element ve ağır metal birikimi olduğu bilinmektedir. Canlı sisteme giren ağır metaller, besin zinciri ile bir organizmadan diğerine taşınarak canlı sistemlerde yüksek konsantrasyonlara ulaşmakta ve zararlarını yıllarca sürdürülmektedir (Yücel ve ark. 2010). Atmosfer, toprak ve suda oluşan ağır metal kirliliği artarak bitkisel üretimin miktar ve kalitesini düşürmektedir. Ağır metaller, koloidal absorpsiyon ve iyon değişimi ile toprakta kalıntı (birikim) yaparak Zn, Cu, Pb, Cd ve Ni gibi ağır metaller toprağın biyoelverişliliği üzerine fazlası ile etki yapmaktadır (Algan ve Bilen 2005).

1.1. Ağır Metaller

1.1.1. Ağır Metallerin Genel Özellikleri

Yoğunluğu 5.0 g cm^{-3} 'ten büyük metaller (cıva, kadmiyum, kurşun, çinko gibi) ağır metaller olarak bilinirler. Bunlar özellikle yoğun insan kaynaklı etmenlerin olduğu alanlarda önemli çevresel kirleticiler olup, toprak, su ve havada eser miktarlarda bile canlılar için tehlikelidirler (Doğan ve Saygıdeğer 2009).

Ağır metaller özellikle belirli bir seviyeyi geçtikten sonra bitkilerde hücre zarlarında hasar, hormon dengesinin bozulması, su ilişkisinin değişmesi gibi fizyolojik ve biyokimyasal olayları direkt veya dolaylı olarak etkiler (Zengin ve Munzuroğlu 2005). Yağdı ve ark. (2000), bitkilerde ağır metal toksitesi üzerine çalışmışlar ve bitkilerde ağır metal toksitesinin büyüme ve gelişmede yavaşlama, enzim aktivitesinde bozulma, radikulada zararlar, depolama faaliyetlerinde

bozulma, fotosentez aktivitesinde gerileme, diğerk besin elementlerinin alımında yavaşlama ve verimde düşme gibi zararlara neden olduğunu belirtmişlerdir.

1.1.2. Ağır Metaller ve Bitki Metabolizması Üzerine Etkileri

Bitkilerin çevresel stres faktörlerine karşı toleransları bitki türüne, stres faktörüne, strese maruz kalma süresine ve strese maruz kalan doku veya organının yapısına bağlı olarak değişmektedir (Gür ve ark. 2004). Bu nedenle bitkilerin bu stres koşullarına tepkilerinin ve geliştirdikleri uyum mekanizmalarının bilinmesi gerekmektedir. Bitkilerin ağır metal toksisite tolerans sınırlarının bilinebilmesi için metal tür ve miktarı, yarıyışlılığı, zararın şiddeti ve türü ile ayrıca zarar oluşum süreci göz önüne alınmalıdır. Bu özelliklerin bilinmesi, bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından oldukça önemlidir (Paschke ve ark. 2005)

1.1.2.1 Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum tarım topraklarına; endüstriyel faaliyetler, fosforlu gübreler, lağım atıkları, ısıtma sistemleri, trafik, güç istasyonları, çimento fabrikaları gibi çeşitli kaynaklardan ve kayaların minerilizasyonu ile yayılmaktadır (Liu ve ark. 2007; Doğan ve ark. 2009; Haktanır 1987).

Toprakta 3 mg/kg, bitki kuru maddesinde ise 1 mg/kg'dan fazla kadmiyum toksik etkilidir (Özbek ve ark. 1995). Bitki ve topraklara bulaşan kadmiyumun büyük kısmı kadmiyum içeren toz zerreciklerinin havadan çökmesi yolu ile olmaktadır. Trafığın yoğun olduğu alanlardaki yol kenarlarındaki topraklarda toz çökmesi ile yılda m²'ye 0.2-1.0 mg kadmiyum ilavesinin olduğu ölçülmüştür (Haktanır 1987).

Kadmiyum insan, hayvan ve bitkiler için oldukça toksik etkili bir ağır metaldir. Bitki bünyesinde azot ve karbohidrat metabolizmalarını değiştirmesi nedeniyle birçok fizyolojik değişikliğe neden olur. Proteinlerin –SH gruplarındaki enzimleri inaktive etmekte, protoklorofil reduktaz ile aminolevulinik asit sentezini bozup fotosentezi engelleyerek ve stomaların kapanmasına, transpirasyon ile su kaybının azalmasına neden olmaktadır (Sheoran ve ark. 1990; Zengin ve Munzuroğlu 2005). Fotosentez oranı üzerine olan olumsuz etkisi CO₂

asimilasyonunu azaltmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca ağır metallerin serbest radikal oluşumuna yol açtığı ve bu yolla tilakoid zar lipidlerinin oksidatif yıkımına neden olduğu, bu gibi durumlarda ise klorofil yıkımının arttığı ve sentezinin engellendiği bilinmektedir (Zengin ve Munzuroğlu 2005).

Kadmiyum stresi altında bitkilerin su ve iyon alımının azalmasının en önemli nedeni radikula büyüme ve gelişmesini engellemesidir. Yapılan bir çalışmada buğday fidelerinin yetiştirildiği ortama kadmiyum ilave edilmesinin bitkilerin potasyum ve nitrat alımını azalttığı ve sürgün gelişimini engellediği belirlenmiştir (Verma ve Dubey 2003). Ayrıca kadmiyum stresi altındaki bitkilerde stomaların kapanması nedeniyle transpirasyonla su kaybı azalmakta ve kadmiyum taşınması engellenmektedir (Salt ve ark. 1995).

İnsan sağlığı açısından değerlendirildiğinde ise Japonya'da bulunan Jintzu nehrinin, çinko, kurşun ve kadmiyum filizlerinin çıkarıldığı maden ocaklarının atık suları ile kirlendiği bölgede "İtai-İtai" hastalığı olarak belirtilen epidemik olayın kadmiyumdan kaynaklandığı anlaşılmıştır. Yaşayan halkının atık suları sulama ve günlük ihtiyaçlarında kullanması sonucu şiddetli romatizmal ağrılarla kendini gösteren hastalık tablosunun ortaya çıktığı belirlenmiştir. Gıdalarla yüksek düzeylerde kadmiyum alınması akut toksikasyonuna neden olur. Kadmiyum ile kirlenmiş suların tüketilmesi ile abdominal ağrı, kusma ve bulantı gibi şikayetler belirir. Kadmiyumun solunum yolu ile de akut pnömoni ve pulmoner ödem oluşur. Ayrıca kardiyovasküler sistem ve iskelet sisteminde de hasarlar meydana gelir (Baş ve Demet 1992).

1.1.2.2.Kurşun (Pb)

Kurşun bütün bitkilerde doğal olarak bulunsa da bitki için gerekli bir element değildir. Kurşunun toksik etkisi konsantrasyonuna, tuz oluşturma şekline, toprak özelliğine ve bitki türüne ve çeşidine bağlı olarak değişim gösterir. Kurşunun toksik seviyeleri bitkideki makromoleküller içindeki fonksiyonel gruplarda yer alan metal iyonlarını, fotosentezi, mineral nutrisyonu ve bitki su kapasitesini düzenleyen çeşitli enzim aktivitesini değiştirmek suretiyle çimlenme,

sürgün gelişimi, tolerans indeksi, radikula ve hipokotil su içeriği gibi olayları etkilemesiyle kendini gösterir (Lamhamdi ve ark. 2011).

Ortamda kurşuna maruz kalmış bitkilerde radikula uzaması ve biyokütlede azalma, klorofil biyosentezinde engellenme, bazı enzim aktivitelerinde tetiklenme veya engellenmeler olduğu rapor edilmiştir (Chen ve ark. 2007; Doğan ve Çolak 2009; Yang ve ark. 2010).

Kıran ve Şahin (2005)'in önemli çevre kirleticilerinden biri olan kurşunun mercimek (*Lens culinaris* Medik.) üzerinde etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada düşük konsantrasyonlarda tohumların çimlenme oranının anlamlı şekilde etkilenmediği ancak doz arttıkça çimlenme oranının azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca uygulanan tüm konsantrasyonlarda, radikula büyümesi kontrole göre engellenmiş ve konsantrasyon artışına paralel olarak, hücre bölünmesinin azaldığı ve çeşitli mitotik anormalliklerin arttığı tespit edilmiştir.

Kurşun elementi, hücre turgoru ve duvarının stabilitesini olumsuz etkilerken; stoma hareketlerini ve hipokotil alanını azaltarak bitki su rejimini etkilemektedir. Aynı zamanda radikulalar tarafından tutulması ve radikula gelişimini azaltması nedeniyle bitkilerin katyon ve anyon alımını azaltmakta dolayısıyla besin alımını etkilemektedir (Sharma ve Dubey 2005).

Kurşun elementi radikulalarda hipokotillere göre daha fazla birikir. Verma ve Dubey (2003)'in çeltik bitkisinde yaptığı bir çalışmada 500 ve 1000 µM kurşun nitrat uygulanmasının radikula büyümesini % 22-42 ve hipokotil büyümesini % 25 oranında azalttığı, radikulalar tarafından absorbe edilen kurşun miktarının hipokotillerden 1,7 - 3,3 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Kurşunun insanlar üzerindeki toksik etkilerinden en belirginini çocuklarda ve fütüste izlenir. Erişkinlerde genellikle mesleki maruziyet durumlarında periferik nöropati ve/veya kronik nöropati şeklinde ortaya çıkar. Hemoglobin metabolizmasındaki bozukluklar ve anemi gözlenen önemli bozukluklardır. Ayrıca kusma, kolik, ishal ve karın ağrısı gibi gastrointestinal sistem ve ölü doğumlar gibi üreme sistemine ait bozukluklar da mevcuttur (Erkan 1984; Klassen ve ark. 1986; Yücel ve ark.1995).

1.2. Serbest Radikaller

Bitkiler güneş enerjisini redükte moleküllere dönüştürmekte, memeliler ise bu redükte molekülleri birçok biyokimyasal basamak sonucunda CO₂ ve H₂O'ya indirgeyerek, enerjiyi kullanılabilir ve depo edilebilir yüksek enerjili ATP (Adenozin trifosfat) gibi fosfat bileşikli molekülün sentezini gerçekleştirmektedir. Bir maddede elektronların kaybedilmesine oksidasyon; diğer bir maddenin ise elektronları almasına redüksiyon adı verilmektedir. Redoks reaksiyonları sadece elektronların transferi ile değil; aynı zamanda kovalent bağlarda elektron yörüngelerinin değişmesi ile de meydana gelmektedir. Okside olmuş ajanlar ise oldukça elektrofilik oldukları için, diğer moleküllerden elektron alabilmekte ve böylece serbest radikalleri meydana getirmektedirler (Arasimowicz ve ark. 2009).

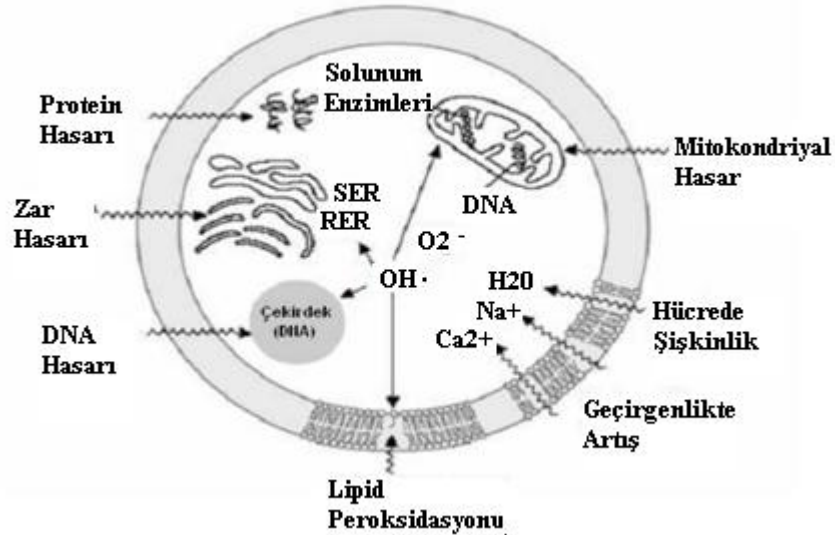
Bitkilerde serbest radikaller endojen olarak kloroplastlardaki fotosentez reaksiyonlarında, plastit ve peroksizomlarda, mitokondrilerdeki sitrik asit döngüsünde, NADPH oksidaz, hücre duvarı peroksidazları ve amino oksidazlar gibi enzimlerin etkisiyle oluşur (Van ve Dat 2006; VanCamp ve ark. 1998). Kuraklık, düşük ve yüksek ısı değerleri, ağır metaller, UV ışık, beslenme noksanlıkları, yüksek derecede tuzlu ortam, yüksek ışık stresi ve hipoksi ise ekzojen serbest radikal kaynaklarıdır (Gechev ve ark. 2003; Lamb ve Dixon 1997).

Hücrede normal metabolik süreçler devam ederken enzimatik reaksiyonlarda ara ürünler olarak devamlı şekilde serbest radikaller oluşur. Bazen bu serbest radikaller enzimlerin aktif yerinden sızarak moleküler oksijenle etkileşir ve serbest oksijen radikallerini (ROS) oluştururlar. Hücrede oluşan reaktif oksijen türleri, antioksidan savunma sistemleri olarak adlandırılan mekanizmalarla ortadan kaldırılırlar. Ancak bazen hücresel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla reaktif oksijen türleri oluşabilir. Organizmada hücresel savunma mekanizması vasıtasıyla ortadan kaldırılardan daha fazla reaktif oksijen türlerinin meydana gelmesi oksidatif stres olarak tanımlanır (Kartal 2008).

Serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres, normal fonksiyon gösteren hücre ve organizmalardaki moleküllerde enzimatik olmayan oksidatif hasarın birikimi ile karakterize olmuş durumu ifade etmektedir (Baskin ve Salem 1997).

Bitkiler farklı stres faktörlerine karşı savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bitkiler stresi ya tolere etmekte ya da ondan kaçınmaktadır. Stres faktörleri yapısal ve metabolik hasarlara neden olmaktadır (Koç ve Üstün 2008).

Bitkilerin maruz kaldığı başlıca stres faktörleri, biyotik ve abiyotik olmak üzere iki kısma ayrılabilir (Fujita ve ark. 2006). Biyotik (patojen, diğer organizmalarla rekabet vb.) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk, radyasyon, ekstrem sıcaklıklar, besin, mineral, kimyasal toksisite ve oksidatif stres vb.) stresler beslenmemizde önemli bir yere sahip tahıllar da dahil, tüm bitkilerin normal fizyolojik işlevlerinde değişikliklere yol açarak (protein, zar, DNA, mitokondri hasarları ve lipid peroksidasyonu vb.) ürün kayıplarına neden olurken, doğal ekosisteminde dengesini bozmaktadır (Wang ve ark. 2003; Wang ve ark. 2004; Türkan ve Demiral 2009; Gill ve Tuteja 2010) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Serbest radikallerin hücresel hedefleri (Onat ve ark. 2002)

Biyotik ve abiyotik faktörlerden dolayı oksidatif stres hücrelere zarar veren ya da hücreleri öldüren ROS'un bitki hücrelerinde oluşmasına neden olur. ROS belli redoks tepkimeleri sırasında oluşabildiği gibi oksijenin tamamlanmamış indirgenmesi sırasında, mitokondride suyun yükseltgenmesinde ya da kloroplastlarda elektron aktarımı anında da oluşabilir (Apel ve Hirt 2004). Singlet oksijenin oluşumunu (1O_2) hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit anyon (O_2^{*-}), hidroksil radikal (OH^*) ve perhidroksil radikali (O_2H^*) gibi diğer ROS'un oluşumları izler (Gill ve Tuteja 2010; Yıldız ve ark. 2010).

1.2.1. Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre zarlarındaki ve gıdalardaki kolesterol ve yağ asitleri serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller etkisi ile oksidatif yıkımı enzimatik olmayan lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerler.

Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan serbest radikallerin özellikle OH^* 'in, zar yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerindeki (PUFA) konjuge çift bağlardan bir H atomu çıkarmasıyla başlar (radikalik reaksiyonun başlama aşaması). Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali (L^*) niteliği kazanır. Molekül içi bir düzenlenme ile daha kararlı olan konjuge dienler oluşur. Aerobik şartlarda, konjuge dienin moleküler oksijenle birleşmesi sonucu lipid peroksil radikalleri (LOO^*) oluşur. LOO^* oluşumu önemlidir, çünkü zar yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek, yeni lipid radikallerinin (L^*) oluşumuna yol açar. Kendisi de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlere ($LOOH$) dönüşür. Ayrıca zar proteinlerine de saldırabilir. Böylece reaksiyon otokatalitik olarak devam eder. Bu lipid peroksidasyonunun ilerleme aşamasıdır (Halliwell ve Gutteridge 1989).

1.2.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassastır, ancak proteinin aminoasit içeriğine göre radikalik hasardan etkilenme

derecesi değişir. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi doymamış bağ içeren ve metiyonin, sistein gibi kükürt bulunduran aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenir (Van Der Vliet ve ark. 1994). Bunun sonucunda karbon merkezli organik radikaller ve sülfür radikalleri oluşur. Diğer yandan albümin ve immunoglobulin G (IgG) gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin tersiyer yapısı bozulur. Hemoglobinin ferro demiri (Fe^{+2}) süperoksit ve diğer oksitleyici ajanlarla oksitlenmeye duyarlı olup, bunun sonucunda oksijen taşımayan methemoglobin oluşur (Murray ve ark. 1996).

1.2.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkileri

DNA serbest radikallerden kolay etkilenen bir hedeftir. İyonize edici radyasyonla oluşan radikaller, DNA'yı etkileyerek hücre mutasyonuna ve ölümüne yol açabilirler. H_2O_2 zarlardan kolayca geçebildiği için hücre çekirdeğine kadar ulaşır, burada oluşan hidroksil radikali dört DNA bazıyla (adenin, guanin, sitozin, timin) kolayca reaksiyona girerek bazı modifikasyonlarına yol açar (Halliwell 1994). DNA hasarı onarılmazsa hücre işlev bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir.

1.2.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkisi

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde polisakkarit depolimerizasyonu ve özellikle monosakkarit otooksidasyonu gibi etkileri vardır. Okso aldehitler ayrıca DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece kanser ve yaşlanma olaylarında da rol oynarlar (Lee ve Shacter 1995).

1.3. Antioksidan Mekanizmalar

Tüm bitkisel organizmalar serbest radikallerin etkilerini önlemek için endojen antioksidan sistemlere sahiptirler. Bu sistemler enzimatik olan ve olmayan diye iki kısma ayrılabilir (Çizelge 1).

Çizelge 1.1. Antioksidanların sınıflandırılması (Baskin ve Salem 1997)

Enzimatik Antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD)	Vitamin E (Tokoferoller)
Katalaz (CAT)	Vitamin C (Askorbikasıit)
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Vitamin A (β -karoten)
Glutasyonredüktaz (GR)	Selenyum
GlutasyonS-transferaz (GST)	Transferin
Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD)	Laktoferrin
	Ürik asit
	Glukoz
	Askorbat
	Albumin
	Glutasyon
	Seruloplazmin

1.3.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

Vitamin E: Tokoferoller ile tokotrienoller olarak ve α , β , γ , δ alt grupları ile 8 farklı tiptedir. Tokoferoller sadece bitkisel organizmalar tarafından sentezlenir ve bitkilerin tüm kısımlarında bulunur. Özellikle kloroplast zarlarında α -tokoferol yoğun olarak bulunur ve bu kısımda oksijenin etkisi ile meydana gelen oksidatif strese karşı koruyucu etki sağlar (Hofius ve Sonnewald 2003). Hücre zarlarındaki lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan alkoksil, lipid peroksil ve alkil radikallerine karşı koruyucu etki sağlar ve oluşan tokoferil radikali ise askorbat, redükte glutasyon ve koenzim Q ile tokoferole dönüştürülür. Tokoferoller direk olarak ROS'ları etkisizleştirir, özellikle singlet oksijeni tokoferolün geri dönüşümsüz oksidasyonu ile etkisizleştirirler. Ayrıca zarların akıcılığını ve geçirgenliğini düzenleyerek stabilizasyonunu da sağlar. Özellikle tokoferollerin zarlardaki yağ asitleri ve lizofosfolipitlerle kompleks oluşturması zarları zararlı etkilere karşı korumaktadır (Hofius ve Sonnewald 2003).

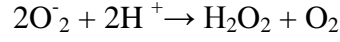
Vitamin C (Askorbik Asit): Askorbik asit bitkilerin çoğu hücrelerinde, organellerde ve apoplastlarda tespit edilmiştir. Sulu fazlarda birçok enzimatik olan ve olmayan reaksiyonlarda elektron verebilme kabiliyeti nedeniyle ana ROS temizleyicisidir. Bitkilerin hipokotillerinde ve kloroplastların özellikle stromasında yoğunlaşmış olarak askorbat halinde redükte formda bulunur. Direkt olarak ROS'lerden süperoksit, hidroksil radikali, singlet oksijeni temizler, hidrojen peroksidi ise suya askorbat peroksidaz reaksiyonu ile indirger (Lamb ve Dixon 1997). Tokoferoksil radikalinden tokoferolün tekrar rejenerasyonunu sağlayarak zararın korunmasına katkıda bulunur (Garewal 1997; Mehlhorn ve ark. 1996).

Glutasyon: GSH bitkilerin sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol ve mitokondrileri başta olmak üzere tüm hücrelerinde yoğun olarak bulunur. Yapısında sülfür bulundurması nedeniyle GSH konjugasyonu ile ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunu sağlar (Lamb ve Dixon 1997). Antioksidan etkisini ise yapısında merkezi olarak bulunan sistein rezidüsü ile yerine getirir. Sitotoksik H_2O_2 'yi direkt olarak, hidroksil, süperoksit radikalleri ile singlet oksijeni ise enzimatik olmayan biçimde etkisizleştirir (Avsian-Kretchmer ve ark. 1999). Askorbat glutasyon döngüsü ile suda çözünen güçlü bir antioksidan olan askorbatın rejenerasyonunu sağlar (Lamb ve Dixon 1997).

Fenolik Bileşikler: Fenolik bileşikler arasında yer alan flavanoidler, tanninler, hidroksi sinamat esterleri ve lignin bitkilerin yapısında bol miktarda yer alır. Polifenollerin tokoferoller ve askorbata göre in vitro olarak daha iyi antioksidan olduğu gösterilmiştir. Antioksidan özelliklerini iyi birer hidrojen veya elektron vericisi olmaları, zincir kırıcı özellikleri ve geçiş metalleri ile şelat oluşturmaları ile gösterirler. Zararın akışkanlığını azaltarak, lipidlerin yer alış sırasını düzenleyerek ve serbest radikallerin hücreye difüzyonunu engelleyerek peroksidasyon reaksiyonlarını keserler. Bitki hücrelerindeki H_2O_2 'nin temizlenmesi reaksiyonlarına da katılmaktadırlar (Paganga ve ark. 1999).

1.3.2. Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD): SOD çeşitli hücre kompartımanlarında bulunur. Süperoksit serbest radikalinin (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir (McCord ve Fridovich 1969).

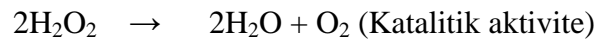


H_2O_2 radikalinin detoksifikasyonu katalaz gibi enzimler tarafından suya dönüştürülmesi ile gerçekleştirilmektedir (McCord ve Fridovich 1969).

SOD'un katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan ve kuvvetli bir oksidan olan H_2O_2 ; DNA'da ve proteinlerde hasarlara, stomaların kapanmasına, lipid peroksidasyonuna ve hatta hücre ölümüne neden olur (Neill ve ark. 2002). H_2O_2 'nin hücrede birikimi, katalaz ya da askorbat-glutatyon döngüsü ile önlenir. Detoksifikasyonun enzimatik mekanizması, dehidroaskorbat redüktaz, glutatyon redüktaz ve diğer enzimleri içermektedir (Dixit ve ark. 2001).

Katalaz (CAT): Yüksek konsantrasyondaki H_2O_2 'nin 2 elektronunu kullanarak su ve oksijene indirgenmesini katalizleyen demir porfirin içeren tetramerik yapıda bir enzimdir (McClung 1997; Chaudiere ve Ferrari 1999) (Çizelge 1.2). Bu katalitik aktivitesinin dışında peroksidatif etkiye sahiptir ve bu etki için düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında alkoller, askorbat ve fenol içeren indirgenmiş substratları kullanır (Chaudiere ve Ferrari 1999; Özcan ve ark. 2007). Katalazın katalitik mekanizmasının ilk aşaması peroksida bağlı oksijenin heterolizidir (Özcan ve ark. 2007). Katalaz bu katalitik aktivite görevini iki farklı yoldan gerçekleştirmektedir.

CAT



CAT



Fosfolipid Hidroperoksit GPx ve Peroksidazlar: Fosfolipid hidroperoksit GPx, hücre zarını oksidatif strese karşı korumakta ve glutasyonu (GSH) varlığında fosfolipid hidroperoksitlerin rejenerasyonunu sağlamaktadır (Holland ve ark. 1993). Peroksidazlar ise, GSH'ü okside ederek yüksek konsantrasyonlarda bulunan H₂O₂'yu H₂O'ya indirgemektedir (Avsian-Kretchmer ve ark. 1999) (Çizelge 1.2).

Lipid Peroksit Ürünlerini Detoksifiye Eden Enzimler; Aldehit dehidrojenaz, GST, fosfolipid-hidroperoksit GPx, askorbat peroksidad, NADPH-bağımlı kinon oksiredüktaz ve aldoketoredüktaz lipid peroksit ürünlerini detoksifiye eden enzimlerdir. Aldehit dehidrojenaz, bitkisel mitokondrilerde yavaş bir şekilde lipid peroksidasyonu ürünü olan 4-hidroksi-2-nonealı (HNE) etkisiz hale getirmektedir (Liu ve Schnable 2002). GST ise HNE'yi GSH ile konjuge ederek mitokondrilerde detoksifiye etmektedir (Sharp ve ark. 2008). NADPH-bağımlı kinon oksiredüktaz lipid peroksidasyonu ürünü olan 2-alkenalların α - β -hidrojenasyon ile indirgenmesini katalizleyerek etkisizleştirir (Downs ve Heckathorn 1998). Yine NADPH-bağımlı aldoketo redüktaz ise bitkisel mitokondrilerde HNE'yi detoksifiye etmektedir (Oberschal ve ark. 2000). Askorbat peroksidad, monodehidroaskorbat redüktaz, dehidroaskorbat redüktaz ile GR bitkilerdeki askorbat-glutasyon döngüsüne katılırlar. Zira bağlı antioksidan enzim olan askorbat peroksidad ile monodehidroaskorbat redüktaz peroksizomlardaki metabolizma için gerekli olan NAD⁺'ın NADH'dan oksidasyonunu ve peroksizomlardan sızabilecek olan H₂O₂'nin inaktivasyonunu sağlar (Mehlhorn ve ark. 1996).

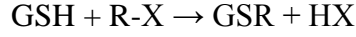
Çizelge 1.2. Bitkisel enzimatik antioksidanlar (Hofius ve Sonnewald 2003)

Enzim	EC numarası	Katalizlenen Reaksiyon
Süperoksit dismutaz	1.15.1.1	$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \leftrightarrow H_2O_2 + O_2$
Katalaz	1.11.1.6	$2H_2O_2 \leftrightarrow O_2 + 2H_2O$
Glutasyon peroksidaz	1.11.1.12	$2GSH + ROO^{\cdot} \leftrightarrow GSSG + ROOH + 2H_2O$
Glutasyon S-transferaz	2.5.1.18	$RX + GSH \leftrightarrow HX + R-S-GSH$
Fosfolipid-hidroperoksit glutasyon peroksidaz	1.11.1.9	$2GSH + H_2O_2 \leftrightarrow GSSG + 2H_2O$
Askorbat peroksidaz	1.11.1.11	$Askorbatik asit (AA) + H_2O_2 \leftrightarrow DHA + 2 H_2O$
Monodehidroaskorbat redüktaz	1.6.5.4	$NADH + 2MDHA \leftrightarrow NAD^+ + 2AA$
Dehidroaskorbat redüktaz	1.8.5.1	$2GSH + DHA \leftrightarrow GSSG + AA$
Glutasyon redüktaz	1.6.4.2	$NADPH + GSSG \leftrightarrow NADP^+ + 2GSH$

1.4. Glutasyon S-transferaz Enzim Ailesi

Ksenobiyotik metabolizması başlıca iki aşamada gerçekleşir; birinci aşamanın (Faz I) ana tepkimesi sitokrom P450 olarak bilinen bir grup monooksijenaz tarafından katalizlenen hidroksillenme reaksiyonlarıdır. İkinci aşamada (Faz II) ise hidroksillenmiş ürünler glukuronik asit, sülfat veya glutasyon gibi bir grup hidrofil bileşiklerle konjuge edilir ve canlı dokulardan atılmaya hazırlanır. Ksenobiyotiklerin çok basamaklı metabolizma süreci, kimyasallara maruziyetle başlar, emilim, organizma içinde dağılım ve eliminasyon aşamalarıyla devam eder (Rozman ve Klaassen 2001; Akay 2004).

Glutasyon S-transferazlar (GST, EC.2.5.1.18) endojen ve ekzojen kaynaklı elektrofilik ve hidrofobik bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu sağlayarak genellikle daha kolay atılabilen ve daha az toksik metabolitlere dönüşümünü katalizleyen Faz II detoksifikasyon süper enzim ailesidir (Sheehan ve ark. 2001; Hayes ve ark. 2005; Oakley 2005; Öztetik 2008).



GST ilk defa, sıçan karaciğer sitoplazmasında GSH'un 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ve bromsülföftalein'e bağlanmasını sağlayan katalitik aktivitenin keşfi (Booth ve ark. 1961; Combes ve Stakelum 1961) ile bulunmuş ve sonraki yıllarda enzimin biyolojik fonksiyonu, aktivitesi, gen regülasyonu ve ekspresyonu üzerine birçok çalışma gerçekleştirilmiştir.

Tüm GST'lerin ortak özelliği tripeptit GSH aracılığıyla birçok hidrofobik toksik bileşiğin elektrofilik gruplarına saldırarak hücreden atılmalarını sağlama yetenekleridir. GST'ler aynı zamanda farklı hücre fonksiyonlarında da görev alırlar ve çok sayıda endojen ve ekzojen bileşiğe non-katalitik olarak bağlanma yeteneğine sahiptirler (Hayes ve ark. 2005). GST'ler hem ökaryotlarda, hem de prokaryotlarda bulunmakta olup, GST'ler sitozolik GST'ler, mitokondriyal GST'ler, mikrozomal GST'ler ve bakteriyel fosfomisin-rezistans proteinleri olmak üzere en az dört protein ailesine ayrılırlar (Armstrong 2000; Hayes ve ark. 2005). Bunlardan sitozolik GST'ler kimyasal, fiziksel ve yapısal özelliklerine bağlı olarak Phi, Tau, Teta, Zeta, Lambda, Glutasyon bağımlı dehidroaskorbat redüktazlar (DHAR) ve Tetraklorohidrokinon dehalogenaz (TCHQD) gibi birçok farklı alt gruba ayrılmış olup, detoksifikasyon fonksiyonu, sinyal fonksiyonu, flavonoidlerin katalitik olmayan bağlanması, ara metabolizmaya katılma ve oksidatif stresin etkilerini ortadan kaldırma gibi görevleri vardır (Sheehan ve ark. 2001; Hayes ve ark. 2005, Öztetik, 2008). Phi, Tau, Teta ve Zeta enzim gruplarının aktif bölgesinde serin amino asiti varken, Lambda ve DHAR'ların aktif bölgesinde sistein amino asiti vardır bulunmaktadır (Chronopoulou ve Labrou 2009). Kappa sınıfı GST'ler olarak da bilinen mitokondriyal GST'ler ökaryotlarda bulunan sitozolik enzimlerdir (Robinson ve ark. 2004). Üçüncü GST ailesi eikozanoidlerdeki membrana bağlı proteinler ve glutasyon metabolizması denilen zar-bağımlı transferazlardan oluşur ancak bunlar sitozolik GST'ler ile benzerlik göstermezler (Jakobsson ve ark. 1999). Prokaryotlarda ise bu üç ailenin temsilcileri de mevcuttur (Allocati ve ark. 2009).

Genel olarak sitozolik GST'lerin boyutları 25kDa büyüklüğünde olup, homodimer veya heterodimer yapılarına sahiptirler (Hayes ve Pulford 1995).

Dimerlerin her alt-birimi birbirinden bağımsız katalitik etkilere sahip iki bileşen (domain I ve II) içermektedir. Domain I (G-bölgesi) GSH bağlanmasının gerçekleştiği bölgeyken, domain II (H-bölgesi) hidrofobik substratların bağlandığı bölgedir. G ve H bölgeleri birlikte katalitik olarak aktif bir bölge oluşturmaktadır. Domain II, GST sınıfları arasında farklı hidrofobik substratların bağlanması için gerekli olan yapıya sahipken, domain I ise GSH ile bağlanmanın ve katalitik aktivitenin gerçekleşmesi için yüksek derecede korunmuş rezidüleri içerir (Edwards ve ark 2000).

CDNB, hayvanlardan bitkilere kadar bütün organizmalardaki GST'lerin varlığını göstermek amacıyla kullanıldığından tüm GST'ler için genel bir substrat olarak bilinmektedir. Bazı GST sınıfı enzimlerin CDNB'ye veya diğer substratlara karşı aktivitesinin bulunması GST varlığını düşündürüyor olsa da, bu durum spesifik bir sınıfa ait GST'lerin varlığını kanıtlar nitelikte değildir. Örneğin; Teta sınıfı GST'ler CDNB'ye karşı hiçbir aktivite göstermezken, 2-epoksi-3- (p-nitrofenoksi) propan (EPNP), 4-nitrofenilbromid (4-NPB) ve 4-nitrobenzil klorür (4-NBC) gibi diğer substratlar ile karakterize edilmişlerdir (Meyer ve ark. 1991; Öztetik 2008). Mu sınıfı GST'ler içinde 1,2-dikloro-4-nitrobenzen (DCNB) seçici bir substrat olarak kullanılmaktadır (Hussey ve Hayes 1992).

Bitkilerdeki GST'ler, enzimatik aktivitelere ek olarak, azda olsa oksidatif strese karşı GSH bağımlı peroksidazlar olarak endojenik metabolizmada (Bartling ve ark. 1993; Cummins ve ark. 1997; Roxas ve ark. 1997) veya GSH bağımlı izomerazlar (Dixon ve ark. 2000, Thom ve ark. 2001), apoptoz düzenleyicileri (Kampranis ve ark. 2000), stres sinyal proteinleri (Loyall ve ark. 2000) ve katalitik olmayan flavonoid bağlayıcı proteinler (Mueller ve ark. 2000) olarak rol almaktadırlar.

GST'ler organizmalar arasında geniş bir yayılım gösterse de, yaklaşık 45 yıl önce bitkilerdeki GST'nin keşfi mısır ve onun atrazin herbisitinin yaralanmalarına karşı koruyucu etkilerinin belirlenmesi sırasında saptanmıştır (Frear ve Swanson 1970). O zamandan bu yana birçok bitkide GST ile ilgili deneyler gündün güne ivme kazanmıştır. Örneğin; mısır, buğday, tütün, bodur çam, soya fasulyesi gibi bitkiler, *A.thaliana*, arpa, karanfil, patates, nohut,

sorgum, kadife ve Őeker kamıŐı gibi (Karam 1998). Yapılan alıŐmalarda GST'nin karakterizasyonu, klonlaması ve sınıflandırılması yönünde önemli bir ilerleme meydana gelmiŐtir (Dixon ve ark. 2002a; Marrs 1996; Dixon ve ark. 2000; Dixon ve ark., 2002b).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. MATERYAL

Çalışma materyali olarak birbirinden farklı iki buğday ve iki arpa genotipi seçilmiştir. Bunlar *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001, *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001, *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 ve *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91'dir. İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 çeşitleri Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırmalar Enstitüsünden sağlanmış olup tescilli çeşitlerdir. Bu çeşitler üzerinde farklı ağır metallerin farklı konsantrasyonlardaki denemeleri yapılmıştır. Ağır metal uygulamaları için kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) seçilmiştir. Uygulanan kurşun ve kadmiyum konsantrasyonları her bir ağır metal için 150 µM (Pb150; Cd150), 300 µM (Pb300; Cd300), 1,5mM (Pb1,5; Cd1,5) ve 3mM (Pb3; Cd3)'dir. Kurşun ve kadmiyumun kombine etkisini tespit etmek için kurşun+ kadmiyumun 150 µM (Com150), 300 µM (Com300), 1,5mM (Com1,5) ve 3mM (Com3) konsantrasyonları da belirlenmiştir. Kontrol grubuna sadece saf su uygulaması yapılmıştır.

2.1.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar

1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), redükte glutasyon (L-GSH), sodyum karbonat, bakır sülfat, sodyum hidroksit, potasyum-sodyum tartarat tetrahidrat, potasyum dihidrojen fosfat, dipotasyum hidrojen fosfat, sığır serum albümin, 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit), 1,4-ditioeritritol (DTE), trikloroasetik asit, hidrojen klorür, polividonpirrolidon (PVP-K30), etanol (% 99.8), etilendiamintetraasetik asit (EDTA), hidroksimetil aminometan (Tris), Ciocalteu's Folin fenol ayırıcı Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, A.B.D.)'den temin edilmiştir. Potasyum nitrat, kalsiyum nitrat, amonyum sülfat, Fe-EDTA, magnezyum sülfat hepta hidrat, bakır klorür, magnezyum klorür, borik asit, sodyum bikarbonat, mangan klorür, zink klorür, sodyum molibden, potasyum klorür ve sodyum klorür Merck (Darmstadt, Almanya)'dan satın alınmıştır.

2.2. METOT

2.2.1. Çimlenme

Çimlendirme deneyleri, bitki yetiştirme kabinde (Nuve ID 501) gerçekleştirildi. Tohumlar çimlenme yatağına alınmadan önce iki saat çeşme suyu ardından iki saatte saf suda bekletilerek tohum kabuklarının çatlatılması sağlandı (Öztetik 2010). Deneyler petri kabı içinde (9 cm çapında) ve filtre kağıdından (Whatman) oluşturulan çimlenme yatağı üzerinde gerçekleştirildi. Deneyler sırasında sıcaklık sabit (+ 22 °C, ± 1°C) tutulmuş ve beyaz ışık kaynağı (16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık günlük fotoperiyot) kullanılmıştır. Çimlendirme deneyleri üçer tekrarlı yapılmıştır. Tüm değerler üç bağımsız deney grubu ile her birinin üçlü tekrarlarından elde edilmiştir (n=9). Tohumun çimlenmiş olarak kabul edilebilmesi için, radikulanın çimlenme yatağına değmiş olması yeterli olarak kabul edilmiştir (Haluskova ve ark. 2009).

Her petri kabına 20'şer adet tohum konuldu. Çimlenen tohum sayısını, hipokotil ve radikula uzunluklarının ve su içeriğinin belirlenmesi için tohumlar çimlenme yatağına konulduğu anda, deney gruplarına belirlenmiş olan ağır metal konsantrasyonları ile uygulama yapıldı. Kontrol grubuna ise sade saf su ilave edildi. Bu işlemlerin ardından tohumlar çimlenme kabinde üç gün karanlık, yedi gün ise belirlenen sıcaklık, nemde ve fotoperiyotta kaldılar. Onuncu günün sonunda kabinden çıkarılarak gerekli ölçümler yapıldı (Haluskova ve ark. 2009).

Uygulanan ağır metal konsantrasyonunun enzim aktivitesi üzerindeki etkisi görmek için tohumlar çimlenme yatağına konulduktan sonra hiçbir ağır metal uygulaması yapılmadan on gün boyunca bitki yetiştirme kabinde büyütüldü. Onuncu günün sonunda her petri kabından onar tane bitki alınarak daha önceden hazırlanmış olduğumuz Hougland çözeltisini (Hoagland ve Arnon 1950) 250ml'lik kaplara koyarak bitkilerimizi çözeltinin içinin batmayacak şekilde yerleştirildi. Bitkilerimizi su kültürüne yerleştirdikten sonra yetiştirme kabine aynı şartlar devam etmek suretiyle inkübe edildi. Üç günün sonunda su kültürüne adaptasyonu sağlanan bitkilere belirlenen konsantrasyonlarda ağır metal uygulandı ve kabine geri koyuldu. Yedi gün daha beklenecek toplamda yirmi

günlük bir süre içinde bitkilerin büyütülmesi sağlandı (Haluskova ve ark. 2009). Bu sürenin sonunda bitkiler kabinden çıkarıldı ve sıvı azot ile porselen havanda dövülerek -80°C'deki derin dondurucuya kaldırıldı.

Bitkileri büyütmek için toprak yerine su kültürünün seçilmesi tohumların yetiştirilmesi sırasında kontaminasyon riskinin en aza indirilmek istenmesidir (Huang ve ark. 2004; Vernieri ve ark. 2005).

2.2.2. Su İçeriğinin Belirlenmesi

Ağır metal muamelesi ile yetiştirme işleminin sonucunda bitkilerin hipokotil ve radikula kısımları tartılmıştır. Daha sonra aynı kısımlar 70°C'ye ayarlanmış etüvde 48 saat bırakılmıştır. Etüvden çıkarılan örnekler desikatöre alınarak oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir. Ardından kurutulmuş örneklerin kuru ağırlıkları hassas terazi kullanılarak ölçülmüş ve bu değerlerden yüzde su içeriği hesaplanmıştır (Haluskova ve ark. 2009).

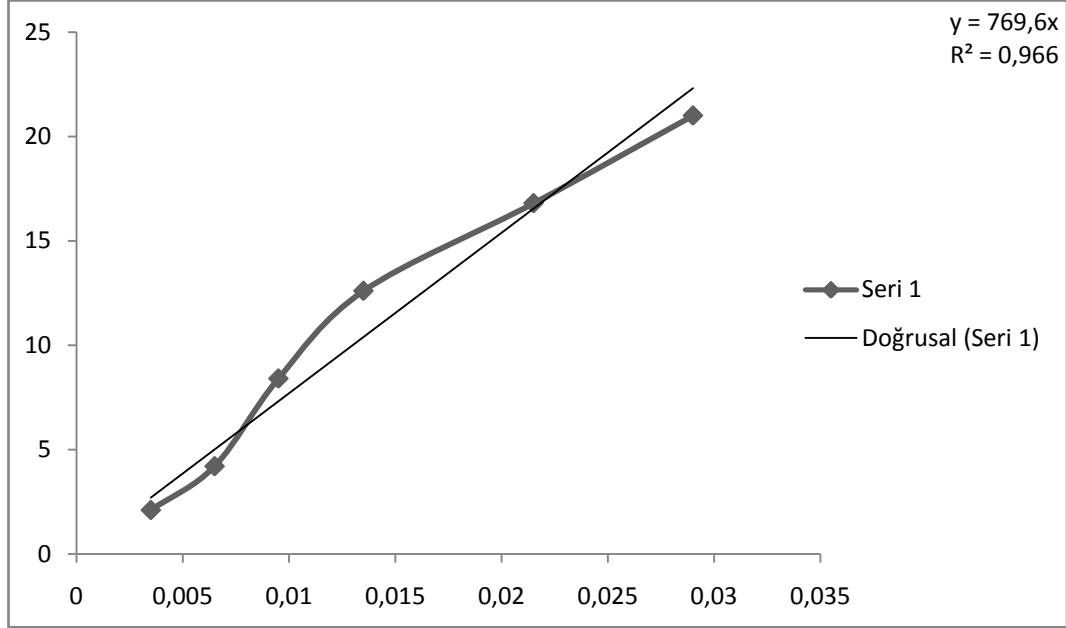
$$\% \text{ Su içeriği: Taze Ağırlık (mg) - Kuru Ağırlık (mg) / Taze Ağırlık (mg) x 100}$$

2.2.3. GSH İçeriğinin Belirlenmesi

Sıvı azot ile porselen havanda dövülen taze hipokotil ve radikula örnekleri %5'lik TCA kullanılarak 3×30 saniye periyotlar ile 13500 rpm'de Ultra-Turrax T25 ile homojenize edildi. Elde edilen homojenat +4°C'de 12000 rpm 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant huni şeklinde yapılmış bir filtre kağıdından geçirilerek temiz bir tüpe alındı ve pellet atıldı. Süpernatantın pH'sı 1M NaOH kullanılarak pH 4.0-5.0 ayarlandı. Elde edilen süpernatantın GSH içeriği Ellman prosedürü (Ellman 1958; Ellman 1959) kullanılarak belirlendi. Nitromerkaptobenzoik asit anyonu yoğun bir sarı renge sahip olduğundan 412 nm maksimum absorban verir ve bu sayede -SH gruplarının ölçülmesini sağlar (Sedlak ve Lindsay 1968).

Reaksiyon karışımı; 0,1ml örnek, 2ml 100 mM pH 8,4 Tris HCl ve 0,1ml Ellman reaktifi (60 mg / 100 ml, 0.1 M Tris-HCl tampon pH 7.0) içermektedir. Hazırlanan reaksiyon ortamı 412 nm'de okundu. Örneklerdeki GSH miktarını

belirlemek için 2.1-21 µg/ml aralığında GSH konsantrasyonu kullanılarak standart eğrisi oluşturuldu (Şekil 2.1). Tüm ölçümler üç kez tekrarlandı.



Şekil 2.1. GSH standart grafiği

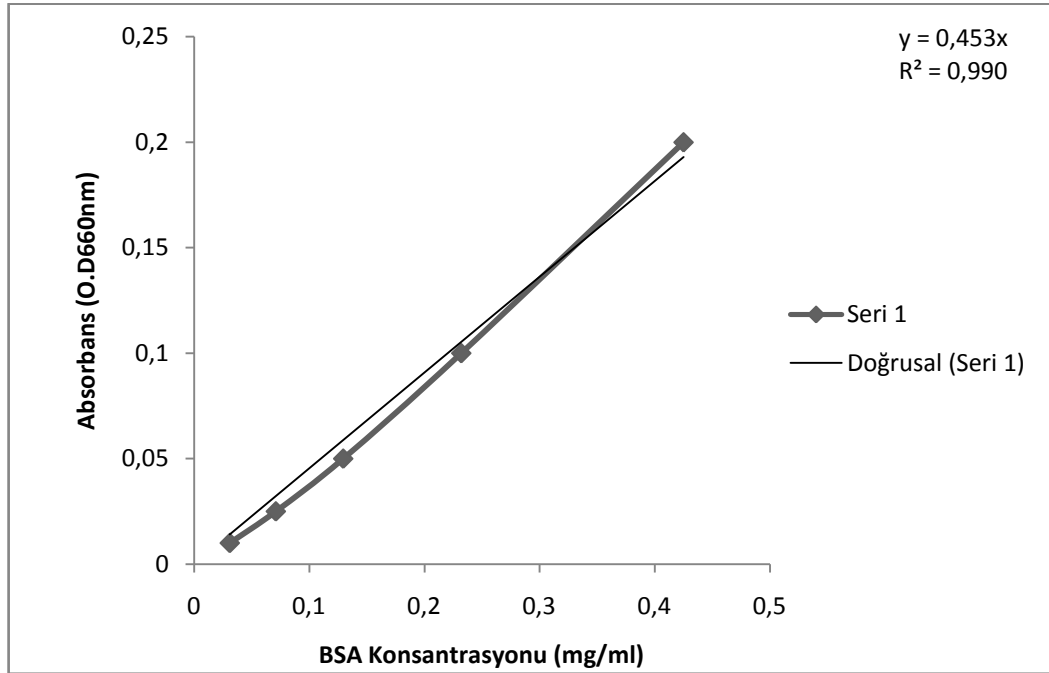
2.2.4. Toplam Protein İçeriklerinin Belirlenmesi

Hazırlanan ham ekstraktlardaki protein konsantrasyonları, standart olarak sığır serum albümin (BSA) kullanılarak, alkali ortamda proteinlerin peptit bağlarının ve tirozin artıklarının bakır ile kompleks oluşturması esasına dayanan Lowry ve ark. (1951) yöntemine göre belirlenmiştir. Ağır metallerin farklı konsantrasyonlarında gelişen bitkilerin ekstraksiyonu ile elde edilen süpernatant protein tayininde kullanılmıştır. Daha sonra %2 bakır sülfat, %2 sodyum potasyum tartarat ve 0.1 N NaOH içeren %2 sodyum karbonat sırasıyla 1:1:100 oranında karıştırılarak alkalik bakır reaktifi (Çizelge 2.1) hazırlanmıştır.

Çizelge 2.1. Alkali bakır reaktifi

%2 CuSO ₄ .5H ₂ O	1 ml
%2 Na/K tartarat	1 ml
%2 Na ₂ CO ₃ (0,1 N NaOH)	100 ml

1 mg/ml stok BSA hazırlanarak 0.01 – 0.2 mg/ml BSA aralığında standart kalibrasyon eğrisi (Şekil 2.2) oluşturmak için kullanılmıştır. Kör, standart ve örnek tüpleri Çizelge 2.2’te anlatıldığı gibi hazırlanarak vorteks ile karıştırılmış ve 10 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından her test tüpüne 0.25 ml 1 N Folin reaktifi eklenmiş ve hızlı bir şekilde (8 saniye içerisinde) vorteks ile karıştırıldıktan sonra 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Her bir tüpte oluşan renk yoğunluğu 660 nm’de ölçülmüştür.



Şekil 2.2. BSA için standart kalibrasyon eğrisi

Çizelge 2.2. Lowry yöntemi ile total protein tayini

Kör	0,5 ml dH ₂ O	2,5 ml Alkali Bakır	
Standart	0,5 ml BSA (0,01 – 0,2 mg/ml)	2,5 ml Alkali Bakır	
Örnekler	Örnek	dH₂O	2,5 ml Alkali Bakır
	0,1 ml	0,4 ml	
	0,25 ml	0,25	
	0,5 ml	-----	

2.2.5. Taze Bitki Örneklerden Sitolik Ekstraktın Hazırlanması

Sıvı azot ile toz haline getirilmiş bitki örnekleri 1:3 oranında ekstraksiyon tamponunun içine kondu. Ekstraksiyon tamponunun içeriği; 100mM pH 7’de fosfat tamponunun içerisine 0.05 mM DTE, 1 mM EDTA ve %3.5 (g/v) PVP-K30’dan oluşmaktadır. Ekstraksiyon tamponunun içine konulan örnekler buzun içerisinde 4×30 saniye periyotlar ile 13500 rpm Ultra-Turrax T25 ile homojenize edildi. Elde edilen homojenat +4°C’de 15000 rpm 30 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant huni şeklinde yapılmış bir filtre kağıdından geçirilerek temiz bir tüpe alındı ve pellet atıldı. Elde edilen süpernant daha sonraki deneylerde protein içeriğinin ve GST aktivitesinin belirlenmesi için kullanıldı (Öztetik 2010).

2.2.6. Bitkilerin GST Aktivitelerinin Belirlenmesi

Buğday ve arpa bitkilerinin sitozolik ekstraktları enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. GST aktivitesi ölçümleri, kofaktör GSH ve substrat 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) varlığında 340 nm Habig ve ark. (1974) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Substrat CDNB’ye karşı GST aktivitesi 25°C’de ve 340 nm’de 5 dakika boyunca konjugasyon ürünü oluşumunun gözlenmesi ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. CDNB-GSH konjugatının molar absorptivite katsayısı (ϵ 0.0096 $\mu\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılarak reaksiyon hızı hesaplanmış ve bir dakikada oluşan ürün miktarı nmol cinsinden tanımlanmıştır. GST aktiviteleri unit/mg protein olarak ifade edildi. Enzim aktivitesinde bir ‘unit’

tanımlanan deney şartları altında, bir dakikada bir nmol ürün oluşturan enzim miktarı olarak tanımlanır.

Reaksiyon karışımı finalde 1ml olacak şekilde; 100 mM fosfat tampon, pH 6.5, 1 mM CDNB, 1 mM GSH ve 20 µg buğday veya arpa sitozolik proteinini içermektedir.

Aktivite ölçümlerinde T80 PG Instruments çift ışınli spektrofotometre kullanılmıştır. Reaksiyon ortamına enzim kaynağının eklenmesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Enzim içermeyen reaksiyon karışımı kör (non-enzimatik reaksiyon) olarak kullanılmıştır.

Sunulan veriler, en az üç bağımsız deneyin ortalamalarıdır ve bunların her biri üç tekrarlı yapılmıştır.

2.2.7. İstatistiksel Analiz

Ölçülen GST aktiviteleri arasındaki farklılıklar SPSS 18.0 istatistik programı kullanılarak student-t testi (örnek eşleme testi) ve ANOVA metodu (tek yönlü varyans analizi) yardımıyla istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca gruplar arasındaki farklılıkları ortaya koymak için Duncan testi (çoklu karşılaştırma testi) kullanılmıştır. Analizler %5 anlam düzeyine göre yapılmış ve %5'ten düşük olasılık ($p < 0.05$) gösteren değerler arasındaki farklılıklar anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

Triticum aestivum L. cv. İzgi-2001, *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001, *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 ve *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türleri belirlenen farklı ağır metal konsantrasyonları ile muamele edildikten sonra, farklı konsantrasyonların çimlenme, hipokotil ve radikulanın su içeriği, uzunlukları ve protein miktarı ile GST enzim aktivitesi üzerine olan etkilerine ait bulgular aşağıda sunulmuştur.

3.1. Tohumların Çimlenmesi, Su İçeriği, Hipokotil ve Radikula Uzunlukları

3.1.1. Ağır Metal Stresinin Çimlenme Üzerine Etkileri

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin bitkilerin büyüme yüzdeleri açısından karşılaştırılmak istendiğinden, tohumlar çimlenme yatağına konulduğunda (20'şer tane) yetiştirme kabine kaldırılmadan önce farklı konsantrasyonlarda (kontrol hariç her deney grubuna 3 ml) ağır metal uygulaması yapılmıştır. On günlük büyüme sürecinden sonra büyüme yüzdeleri hesaplanmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin çimlenme oranları bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda çimlenme oranı bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı ($p < 0,05$) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin çimlenme oranına göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

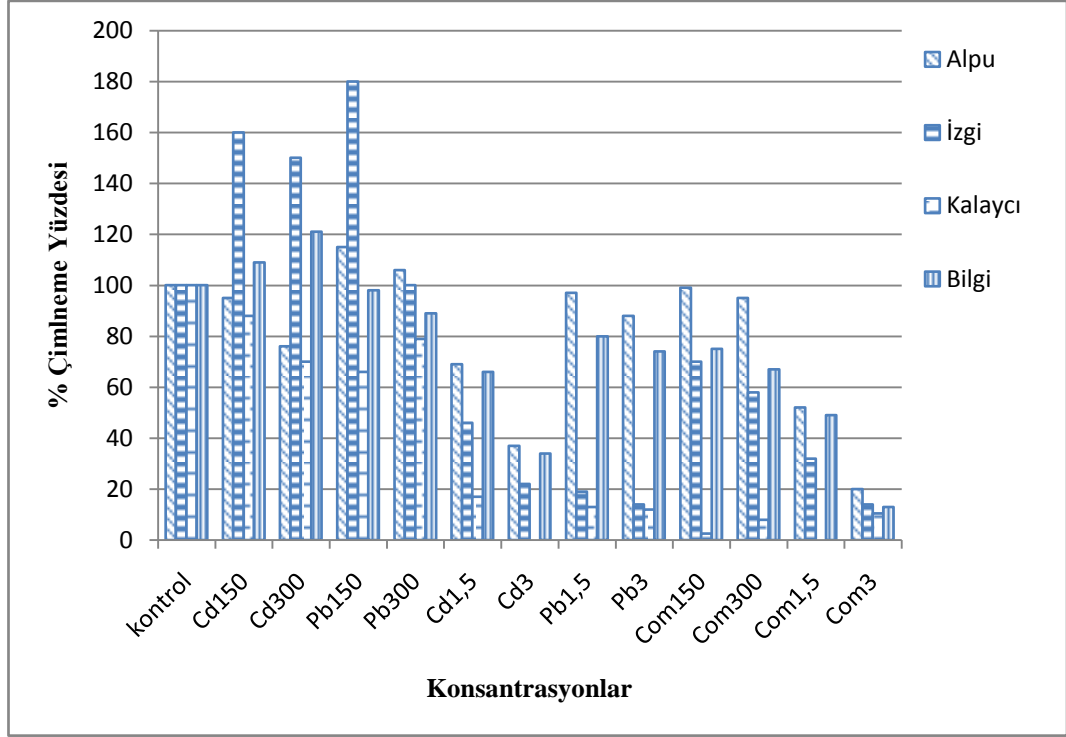
	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	60405,591	3	20135,197	37,503	,000*
Gruplar İçi	81608,709	152	536,899		
Toplam	142014,300	155			

* $p < 0,05$

Buğday ve arpa türlerinin çimlenme oranları üzerine ağır metal uygulamalarının etkilerinin belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı iki homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin çimlenme oranları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar	
		1	2
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	13,9590	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39	16,1051	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39		47,7385
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39		59,2692
Önem Düzeyi		1,000	1,000



Şekil 3.1. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki çimlenme oranları üzerine etkisi

Kontrol grubuna göre kıyaslama yapılacak olursa ağır metallerin konsantrasyon miktarları arttıkça çimlenme oranında bir azalma olduğu görülmüştür. Yapılan analizlere göre en duyarlı türün Kalaycı-97 olduğu belirlenirken, en dayanıklı türün Alpu-2001 olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.1).

Ağır metal konsantrasyonlarının çimlenme oranı üzerine etkisini belirlemek amacıyla İzgi-2001 ve Alpu-2001 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.3). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki çimlenme oranları arasındaki farklılıklar anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.3. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki çimlenme oranı

üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv.</i> 'İzgi-2001' ve <i>T. a. cv.</i> 'Alpu-2001'	-31,3230	34,8167	5,57714	-42,6093	-20,0368	-5,618	38	,000*

* p<0.05

Ağır metal konsantrasyonlarının çimlenme oranı üzerine etkisini belirlemek amacıyla Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.4). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki çimlenme oranları arasındaki farklılıklar anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.4. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki çimlenme oranı üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv</i> Bilgi-91	-45,3102	15,9745	2,55798	-50,4886	-40,1319	-17,713	38	,000*

* p<0.05

3.1.2. Ağır Metal Stresinin Su İçeriği Üzerine Etkileri

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil su içeriği bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda hipokotil su içeriği bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı (p<0,05) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil su içeriğine göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	6248,785	3	720,459	79,223	,000*
Gruplar İçi	285,721	152	24,882		
Toplam	6354,824	155			

* p<0,05

Buğday ve arpa türleri hipokotil su içeriği üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla

Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı iki homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil su içeriği bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar	
		1	2
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39	,3632	
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	,5579	
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39		,6716
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39		,8234
Önem Düzeyi		1,000	1,000

Ağır metal konsantrasyonlarının hipokotil su içeriği üzerine etkisini belirlemek amacıyla İzgi-2001 ve Alpu-2001 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.7). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki çimlenme oranları arasındaki farklılıklar anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.7. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil su içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv.</i> 'İzgi-2001' ve <i>T. a. cv.</i> 'Alpu-2001'	32,3468	18,3578	6,45789	-2,3463	-5,5747	-,768	38	,000*

* p<0.05

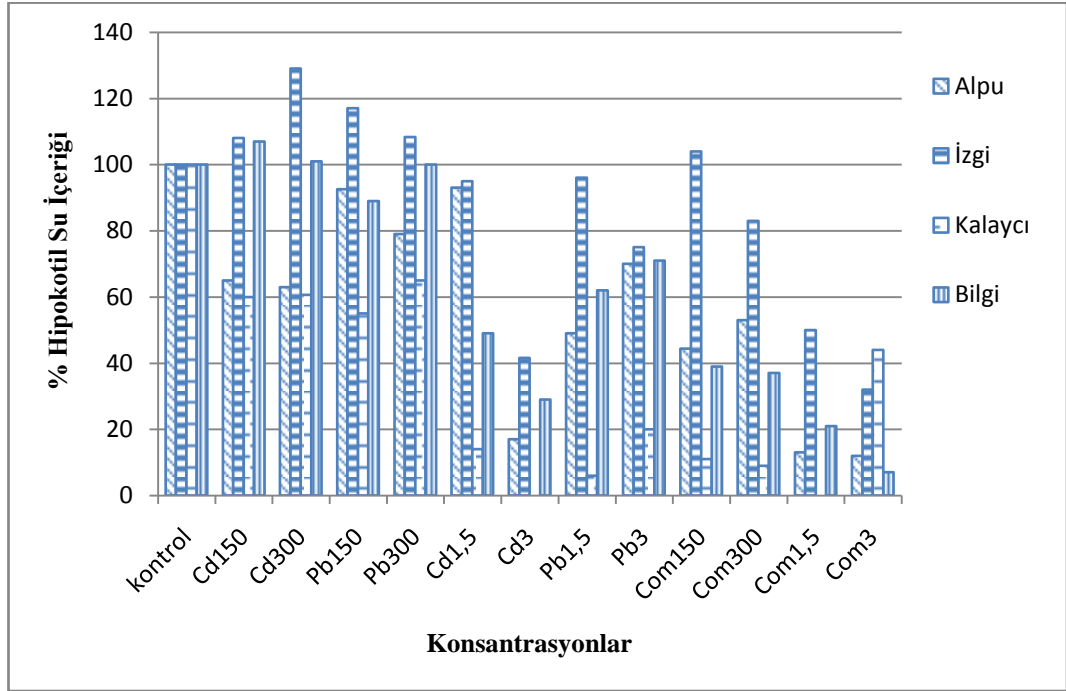
Ağır metal konsantrasyonlarının hipokotil su içeriği üzerine etkisini belirlemek amacıyla Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.8). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki çimlenme oranları arasındaki farklılıklar anlamlı (p<0.05) bulunmuştur.

Çizelge 3.8. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil su içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv</i> Bilgi-91	36,56783	22,324456	12,32445	3,32446	7,432350	5,264	38	,001*

* p<0.05



Şekil 3.2. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil su içeriği üzerine etkisi

Kontrol gruplarına göre kıyaslandığında İzgi-2001 hipokotil su içeriği kadmiyum 300 μ M konsantrasyonunda %125’lik bir artış olduğu görülmüştür. Kadmiyum 3mM ve kurşun+kadmiyum 1,5mM konsantrasyonlarında Kalaycı-97 türü büyümediği için hipokotil su içeriği hesaplanamamıştır (Şekil 3.2).

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin bitkilerin radikula su içeriği bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda radikula su içeriği bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı ($p < 0,05$) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula su içeriğine göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	5673,565	3	14,637	2,457	,000*
Gruplar İçi	568,325	152	6,435		
Toplam	6164,837	155			

* p<0,05

Buğday ve arpa türleri radikula su içeriği üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı üç homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.10. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula su içeriği bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar		
		1	2	3
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39	,0162		
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	,1569		
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39		,1766	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39			,2465
Önem Düzeyi		,072	1,000	1,000

Ağır metal konsantrasyonlarının radikula su içeriği üzerine etkisini belirlemek amacıyla İzgi-2001 ve Alpu-2001 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.11). %95 güvenle belirlenen ağır

metallerin konsantrasyonlarındaki çimlenme oranları arasındaki farklılıklar anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.11. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula su içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv.</i> 'İzgi-2001' ve <i>T. a. cv.</i> 'Alpu-2001'	-26,2468	18,338	6,43562	-26,5663	-57,5761	-4,768	38	,000*

* $p<0.05$

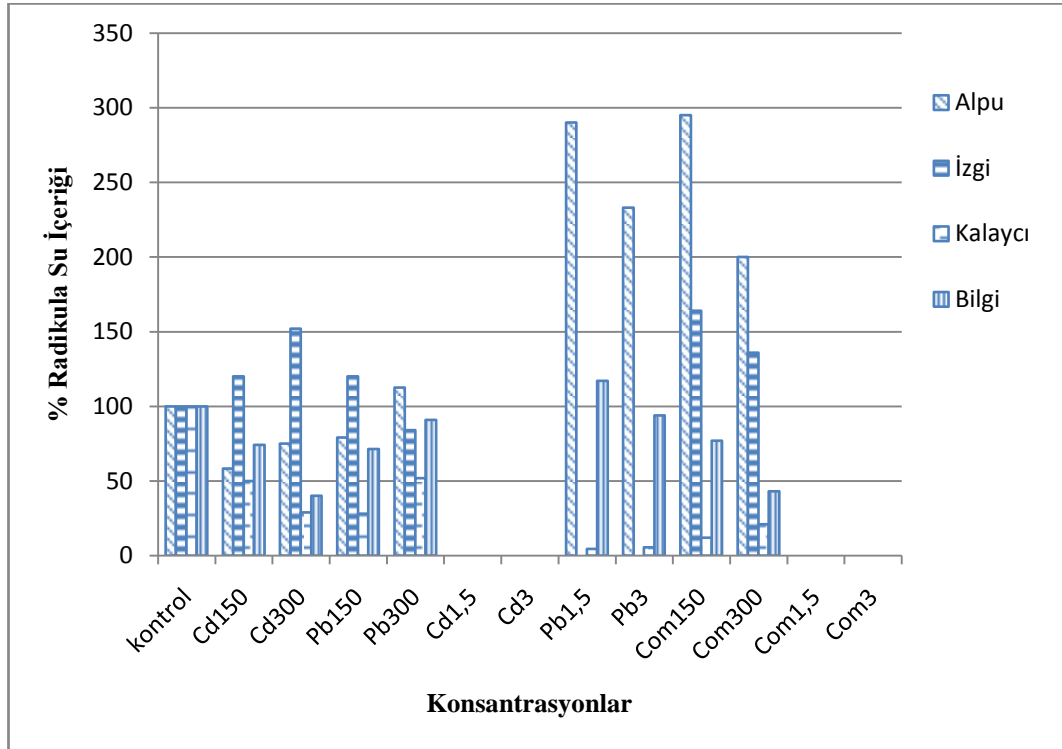
Ağır metal konsantrasyonlarının radikula su içeriği üzerine etkisini belirlemek amacıyla Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türleri arasında belirlenen konsantrasyonlarındaki ağır metallerin uygulamaları yapılmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.12). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki çimlenme oranları arasındaki farklılıklar anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.12. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula su içeriği üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv</i> Bilgi-91	5,35673	12,3556	11,35647	-,35666	-,85670	1,534	38	,000*

* p<0.05



Şekil 3.3. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula su içeriği üzerine etkisi

Kurşun 1,5mM ve kurşun+kadmiyum 150µM konsantrasyonlarında Alpu-2001'in radikulunda su miktarında kontrol grubuna göre sırasıyla %280 ve %295'lik bir artış olduğu bulunmuştur. Kalaycı-97 türünde çimlenmenin görüldüğü deney gruplarında kontrol grubuna kıyaslandığında radikulasında en az su içeren tür olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.3).

3.1.3. Ağır Metal Stresinin Hipokotil ve Radikula Uzunlukları Üzerine Etkileri

Türlerin çimlenme oranları hesaplandıktan sonra çimlenen tohumların hipokotil ve radikula uzunluklarının ağır metal stresi altında ne kadar değiştiğini görebilmek için uzunluk ölçümleri yapılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil uzunlukları bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda hipokotil uzunlukları bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı ($p<0,05$) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.13).

Çizelge 3.13. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil uzunluklarına göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

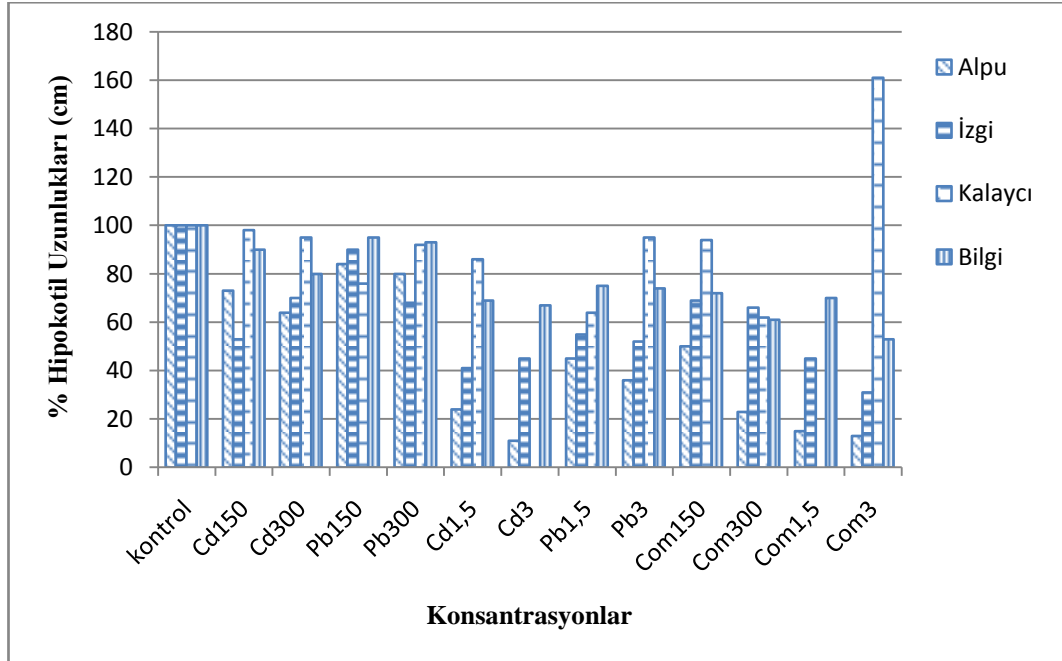
	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	90465,561	3	11585,197	167,595	,000*
Gruplar İçi	1458,709	152	896,349		
Toplam	102923,161	155			

* $p<0,05$

Buğday ve arpa türleri hipokotil uzunlukları üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı iki homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.14).

Çizelge 3.14. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil uzunlukları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar	
		1	2
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	8,5780	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39	10,1431	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39		13,5782
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39		15,7392
Önem Düzeyi		1,000	1,000



Şekil 3.4. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil uzunlukları üzerine etkisi

Ağır metale uygulamaları (Kalaycı-97 türü hariç) bitkilerin hipokotil uzunluğu üzerinde bir azalma göstermiştir. Kalaycı-97 türünün hipokotil uzunluğu kurşun+kadmiyumun 3mM konsantrasyonlarında; kontrol grubuna göre %161'lık bir artış göstermiştir (Şekil 3.4).

Ağır metal konsantrasyonlarının hipokotil uzunlukları üzerine etkisini belirlemek amacıyla İzgi-2001 ve Alpu-2001 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.15). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki hipokotil uzunlukları arasındaki farklılıklar anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.15. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv.</i> 'İzgi-2001' ve <i>T. a. cv.</i> 'Alpu-2001'	-22,5830	53,6828	6,56474	-13,6463	-20,0443	-,618	38	,000*

* $p<0.05$

Ağır metal konsantrasyonlarının hipokotil uzunlukları üzerine etkisini belirlemek amacıyla Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.16). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki hipokotil uzunlukları arasındaki farklılıklar anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.16. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv</i> Bilgi-91	11,35833	25,47856	4,68719	3,3424	18,4578	10,364	38	,001*

* p<0.05

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula uzunlukları bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda radikula uzunlukları bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı (p<0,05) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.17).

Çizelge 3.17. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula uzunluklarına göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	739048,575	3	45733,636	3743,579	,000*
Gruplar İçi	14375,709	152	689,804		
Toplam	742424,384	155			

* p<0,05

Buğday ve arpa türleri radikula uzunlukları üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı üç homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.18).

Çizelge 3.18. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula uzunlukları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar		
		1	2	3
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39	3,3467		
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39	5,5636		
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39		6,6743	
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39			7,5478
Önem Düzeyi		,056	1,000	1,000

Ağır metal konsantrasyonlarının radikula uzunlukları üzerine etkisini belirlemek amacıyla İzgi-2001 ve Alpu-2001 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.19). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki radikula uzunlukları arasındaki farklılıklar anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.19. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv.</i> 'İzgi-2001' ve <i>T. a. cv.</i> 'Alpu-2001'	-43,3530	52,4787	7,36814	-32,6323	-41,4668	-2,628	38	,000*

* p<0.05

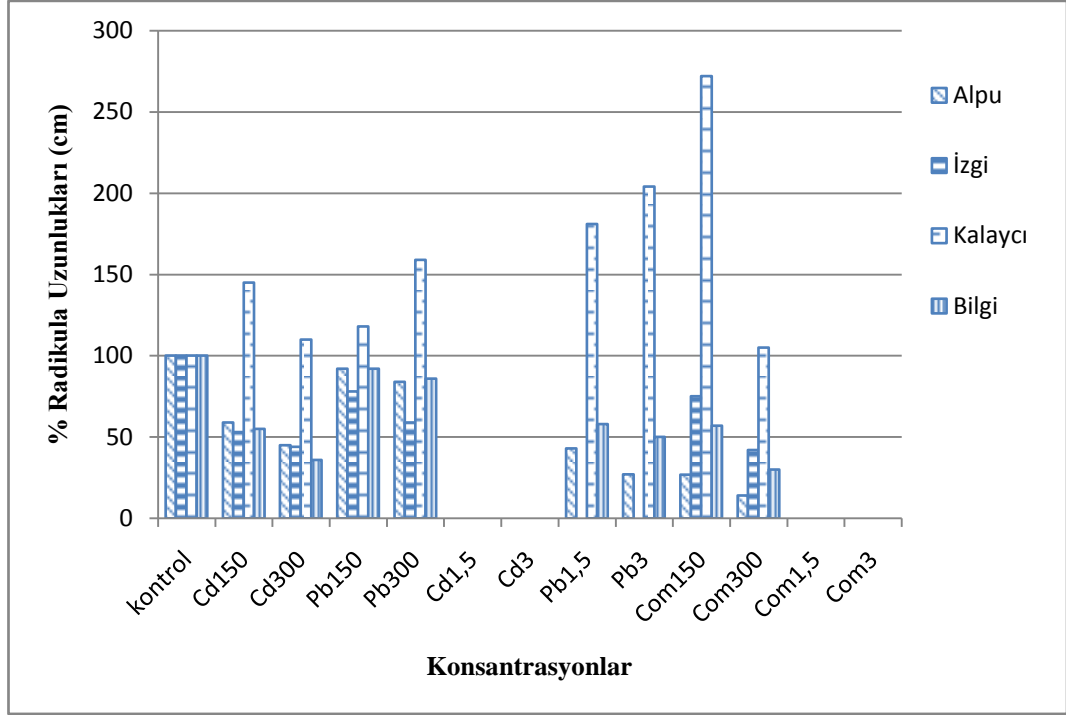
Ağır metal konsantrasyonlarının radikula uzunlukları üzerine etkisini belirlemek amacıyla Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.20). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki radikula uzunlukları arasındaki farklılıklar anlamlı (p<0.05) bulunmuştur.

Çizelge 3.20. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula uzunlukları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv</i> Bilgi-91	24,46935	35,45786	17,34532	-3,5670	-23,5468	28,458	38	,011*

* p<0.05



Şekil 3.5. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula uzunlukları üzerine etkisi

Bitkiler arasında kontrol gruplarına kıyaslama yapıldığında Kalaycı-97'nin diğer türlere göre daha uzun radikula yapısına sahip olduğu görülmüştür. Kalaycı-97 türü ağır metallerin kurşun+kadmiyum 150 μ M konsantrasyonunda kontrol grubuna göre %265'lik bir artış göstermiştir. Kadmiyum 1,5mM ve 3mM, kurşun+kadmiyumun 1,5mM ve 3mM konsantrasyonlarında hiçbir türün radikulasının gelişmediği deneyler sonucunda bulunmuştur (Şekil 3.5).

3.2. Bitkilerin Toplam GSH İçerikleri

Bitkilerin toplam GSH içeriği Ellman prosedürüne (Ellman 1958; Ellman 1959) göre belirlendi. Konsantrasyonlara göre elde edilen GSH miktarları hipokotil ve radikula olarak ayrı ayrı Şekil 3.6 ve Şekil 3.7 verilmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil GSH miktarları bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda GSH miktarı bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı ($p < 0,05$) bir fark olmadığı bulunmuştur (Çizelge 3.21).

Çizelge 3.21. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil GSH miktarına göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,274	3	,091	2,564	,057*
Gruplar İçi	5,411	152	,036		
Toplam	5,684	155			

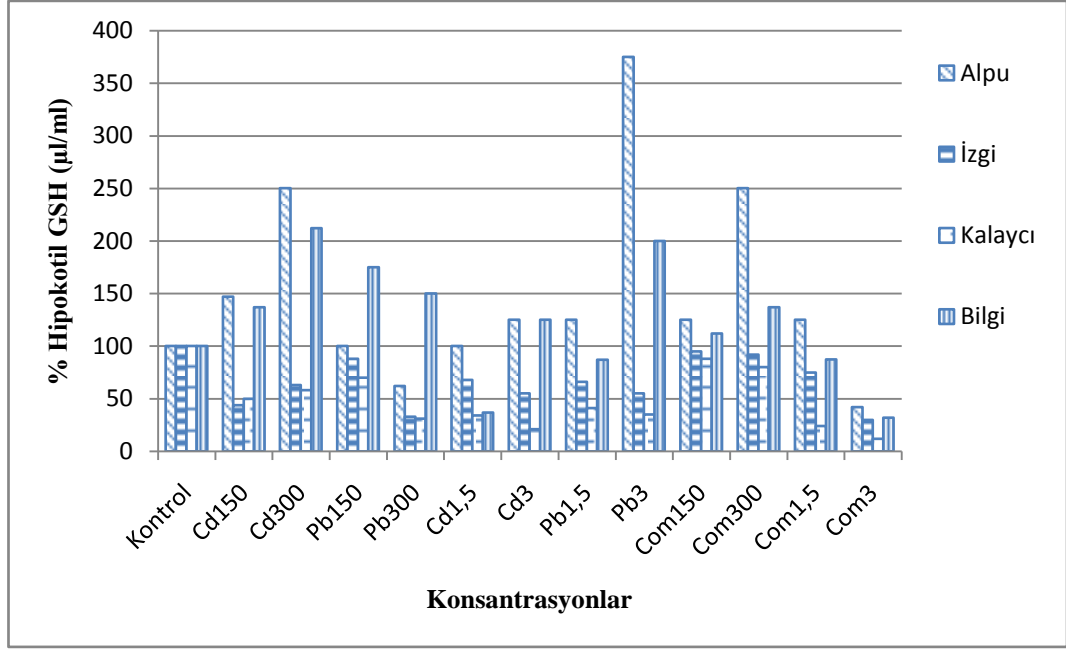
* p<0,05

Buğday ve arpa türlerinde hipokotil GSH miktarları üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı bir homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.22).

Çizelge 3.22. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil GSH miktarları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar
		1
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	,0936
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39	,0955
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39	,1777
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39	1,789
Önem Düzeyi		1,000

Dört tür arasında yapılan varyans analize göre ağır metal konsantrasyonlarının uygulandığı deney gruplarında etkileri bakımından kontrol grubuna göre bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 3.6. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil GSH miktarları (µl/ml) üzerine etkisi

Türler arasında hipokotildeki GSH miktarı bakımın karşılaştırma yapıldığında ağır metallerin konsantrasyonu arttırıldıkça İzgi-2001 ve Kalaycı-97 türlerinin GSH miktarının azaldığı görülmüştür. Kurşun+kadmiyumun 3mM konsantrasyonunda tüm türlerin GSH miktarı en az olduğu yapılan deneyler sonucunda belirlenmiştir. Alpu-2001 türü kurşun 3mM konsantrasyonunda kontrol grubuna göre %370'lik bir artış göstermiştir (Şekil 3.6).

Uygulanan ağır metallerin radikula GSH miktarları bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda GSH miktarı bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı ($p < 0,05$) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.23).

Çizelge 3.23. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula GSH miktarına göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

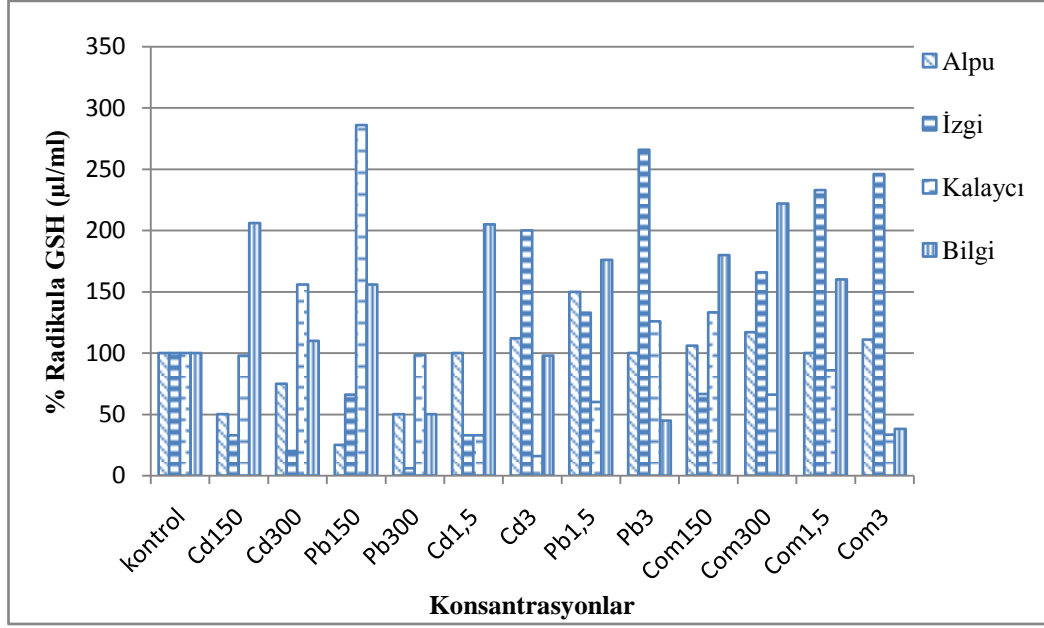
	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,006	3	,002	2,925	,036*
Gruplar İçi	,106	152	,001		
Toplam	,112	155			

* p<0,05

Buğday ve arpa türleri arasında radikula GSH miktarları üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı iki homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.24).

Çizelge 3.24. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula GSH miktarları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar	
		1	2
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	,0320	
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39	,0395	,0395
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39	,0408	,0408
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39		,0496
Önem Düzeyi		,166	,113



Şekil 3.7. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula GSH miktarları (µl/ml) üzerine etkisi

Radikulalardaki toplam GSH miktarı ağır metallerin konsantrasyonuna göre türler arasında farklılar göstermiştir. Kalaycı-97 türü kurşunun 150µM konsantrasyonunda kontrol grubuna göre %290 oranında bir artış göstermiştir (Şekil 3.7).

3.2.1. Ağır Metal Stresinin Farklı Buğday Türlerindeki GSH Miktarları Üzerine Etkileri

Ağır metal konsantrasyonlarının hipokotildeki GSH miktarları üzerine etkisini belirlemek amacıyla *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 ve *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001 türleri üzerinde farklı ağır metal konsantrasyonları uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.25 ve Çizelge 3.26). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki hipokotil GSH miktarı arasındaki fark anlamlı ($p < 0.05$) bulur iken; radikula GSH miktarı arasında anlamlı bir fark olmadığı bulunmuştur.

Çizelge 3.25. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil GSH miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv. İzgi-2001 ve T. a. cv. Alpu-2001</i>	-2.02307	1.60549	0.25708	-2.54351	-1.5026	-7.869	38	,000*

* p<0.05

Çizelge 3.26. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula GSH miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv. İzgi-2001 ve T. a. cv. Alpu-2001</i>	,00127	,02452	,00393	-,00668	-,00922	-,324	38	,748*

* p<0.05

3.2.1.1. *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

İzgi-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil GSH miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan p<0,05 düzeyinde anlamlı bir farkın olmadığı bulunmuştur (Çizelge 3.27).

Çizelge 3.27. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,322	12	,027	1,247	,306*
Gruplar İçi	,559	26	,022		
Toplam	,881	38			

* p<0.05

İzgi-2001 türünde hipokotil GSH miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı iki homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3. 28). Ağır metal uygulamalarının arasındaki etkilerine bakıldığında kontrol grubu deney gruplarından ayrıldığı yapılan varyans analizi sonucu bulunmuştur.

Çizelge 3.28. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar	
		1	2
Cd 150	3	,0253	
Pb 300	3	,0330	
Cd 300	3	,0333	
Cd 1.5	3	,0507	
Pb 1,5	3	,0570	
Pb 3	3	,0633	
Cd 3	3	,0650	
Com 1.5	3	,0763	
Pb 150	3	,0817	
Com 300	3	,0897	
Com 150	3	,1200	
Com 3	3	,1317	
Kontrol	3		,3900
Önem Düzeyi		,453	1,000

3.2.1.2. *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 türünün radikula GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

İzgi-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula GSH miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.29).

Çizelge 3.29. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün radikula GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,029	12	,002	96,706	,000*
Gruplar İçi	,001	26	,000		
Toplam	,029	38			

* $p < 0.05$

İzgi-2001 türünde radikula GSH miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı dokuz homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.30). Ağır metal uygulamalarının arasındaki etkilerine bakıldığında konsantrasyonlar arasında farklılıkların olduğu yapılan varyans analizi sonucu bulunmuştur.

Çizelge 3.30. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde radikula GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Pb 300	3	,0025								
Cd 300	3	,0063	,0063							
Cd 1,5	3		,0143	,0143						
Cd 150	3			,0167						
Com	3				,0260					
150	3				,0293	,0293				
Pb 150	3					,0350				
Kontrol	3						,0440			
Pb 1,5	3							,0557		
Com	3							,0630		
300	3								,0747	
Cd 3	3								,0787	,0787
Com 1,5	3									,0798
Com 3	3									,0843
Pb 3	3									,0913
Önem Düzeyi		,357	,059	,570	,418	,174	1,000	,082	,332	,174

3.2.1.3. *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının Alpu-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.31)

Çizelge 3.31. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	1,605	12	,134	125,920	,000*
Gruplar İçi	,028	26	,001		
Toplam	1,633	38			

* p<0.05

Alpu-2001'türünde hipokotil GSH miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı beş homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.32).

Çizelge 3.32. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar				
		1	2	3	4	5
Com 3	3	,0417				
Pb 300	3	,0483				
Kontrol	3	,0847	,0847			
Cd 1,5	3	,0860	,0860			
Pb 150	3	,0890	,0890			
Cd 150	3		,1100	,1100		
Com 1,5	3		,1167	,1167		
Com 150	3		,1200	,1200		
Cd 3	3			,1533		
Pb 1,5	3			,1600		
Cd 300	3				,2267	
Com 300	3				,2367	
Pb 3	3					,8533
Önem Düzeyi		,122	,253	,103	,710	1,000

3.2.1.4. *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001 türünün radikula GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Alpu-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula GSH miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.33).

Çizelge 3.33. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün radikula GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,008	12	,001	49,583	,000*
Gruplar İçi	,000	26	,000		
Toplam	,009	38			

* $p < 0.05$

Alpu-2001 türünde radikula GSH miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı beş homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.34).

Çizelge 3.34. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde radikula GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar					
		1	2	3	4	5	6
Pb 150	3	,0107					
Pb 300	3		,0220				
Cd 150	3		,0227				
Cd 300	3			,0353			
Com 3	3			,0357	,0357		
Kontrol	3			,0403	,0403	,0403	
Pb 3	3			,0410	,0410	,0410	
Com 150	3				,0423	,0423	
Cd 1,5	3					,0430	
Com 300	3					,0457	
Cd 3	3					,0470	
Pb 1,5	3						,0627
Com 1,5	3						,0657
Önem							
Düzeyi		1,000	,829	,101	,055	,064	,336

3.2.2. Ağır Metal Stresinin Farklı Arpa Türlerindeki GSH Miktarları Üzerine Etkileri

Ağır metal konsantrasyonlarının hipokotil ve radikuladaki GSH miktarları üzerine etkisini belirlemek amacıyla *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 ve *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.35 ve Çizelge 3.36). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki hipokotil GSH miktarları arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenirken, radikula GSH miktarları arasında anlamlı bir fark olduğu ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.35. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil GSH miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv</i> Bilgi-91	-,08221	,28079	,04496	-,17323	-,00882	-1,828	38	,075*

* p<0.05

Çizelge 3.36. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula GSH miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv</i> Bilgi-91	-,01667	,03757	,00602	-,02885	-,00449	-2,770	38	,009*

* p<0.05

3.2.2.1. *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Kalaycı-97 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil GSH miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan p<0,05 düzeyinde anlamlı bir farkın olmadığı bulunmuştur (Çizelge 3.37).

Çizelge 3.37. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,250	12	,021	1,544	,171*
Gruplar İçi	,351	26	,014		
Toplam	,602	38			

* p<0.05

Kalaycı-97 türünde hipokotil GSH miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı iki homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.38).

Çizelge 3.38. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar	
		1	2
Com 3	3	,0240	
Com 150	3	,0263	
Cd 3	3	,0350	
Com 1.5	3	,0457	
Cd 150	3	,0537	
Cd 1,5	3	,0567	
Pb 1,5	3	,0660	
Pb 3	3	,0737	
Pb 300	3	,0950	
Pb 150	3	,1233	,1233
Com 300	3	,1467	,1467
Kontrol	3	,1667	,1667
Cd 300	3		,3287
Önem Düzeyi		,453	1,000

3.2.2.2. *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 türünün radikula GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Kalaycı-97 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula GSH miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.39).

Çizelge 3.39. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün radikula GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,015	12	,001	1467,026	,000*
Gruplar İçi	,000	26	,000		
Toplam	,015	38			

* $p < 0,05$

Kalaycı-97 türünde radikula GSH miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı dokuz homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.40).

Çizelge 3.40. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde radikula GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Cd 3	3	,005								
Com 3	3		,0127							
Cd 1,5	3		,0143							
Pb 1,5	3		,0177	,0177						
Com 1,5	3			,0210	,0210					
Com 300	3				,0233					
Cd 150	3					,0303				
Pb 300	3					,0347	,0347			
Kontrol	3						,0377	,0377		
Pb 3	3							,0410		
Cd 300	3								,0473	
Com 150	3								,0480	
Pb 150	3									,0823
Önem Düzeyi		1,00	,055	,171	,334	,079	,216	,171	,781	1,000

3.2.2.3. *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Bilgi-91 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil GSH miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olmadığı bulunmuştur (Çizelge 3.41).

Çizelge 3.41. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,579	12	,048	,732	,709*
Gruplar İçi	1,715	26	,066		
Toplam	2,295	38			

* p<0.05

Bilgi-91 türünde hipokotil GSH miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda tek bir homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.42).

Çizelge 3.42. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde hipokotil GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar
		1
Cd 1,5	3	,0267
Com 3	3	,0300
Kontrol	3	,0800
Pb 300	3	,1200
Cd 3	3	,1200
Com 300	3	,1333
Cd 150	3	,1467
Pb 150	3	,1467
Pb 3	3	,1700
Cd 300	3	,1833
Pb 1,5	3	,3767
Com 1,5	3	,3867
Com 150	3	,3900
Önem Düzeyi		,153

3.2.2.4. *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türünün radikula GSH miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Bilgi-91 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula GSH miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.43).

Çizelge 3.43. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün radikula GSH miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,051	12	,004	85,747	,000*
Gruplar İçi	,001	26	,000		
Toplam	,053	38			

* $p < 0,05$

Bilgi-91 türünde radikula GSH miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı yedi homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.44).

Çizelge 3.44. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde radikula GSH miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar						
		1	2	3	4	5	6	7
Com 3	3	,0127						
Cd 3	3		,0250					
Cd 300	3		,0273	,0273				
Kontrol	3		,0280	,0280				
Com 1,5	3		,0323	,0323	,0323			
Cd 1,5	3		,0350	,0350	,0350			
Com 150	3		,0360	,0360	,0360			
Pb 1,5	3		,0383	,0383	,0383			
Cd 150	3			,0397	,0397			
Com 300	3				,0450	,0450		
Pb 150	3					,0530		
Com 3	3						,1167	
Pb 300	3							,1433
Önem								
Düzeyi		1,000	,053	,072	,062	,178	1,000	,389

3.3. Bitkilerin Toplam Protein İçerikleri

Bitkilerin toplam protein içeriklerinin belirlenmesi standart olarak sığır serum albüminin (BSA) kullanıldığı Lowry ve ark. yöntemine (1951) göre gerçekleştirilmiştir. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarına göre arpa ve buğday örneklerinden elde edilen protein miktarları hipokotil ve radikulalar için ayrı ayrı Şekil 3.8 ve Şekil 3.9 verilmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil protein miktarları bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda protein miktarı bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı ($p < 0,05$) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.45).

Çizelge 3.45. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil protein miktarına göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

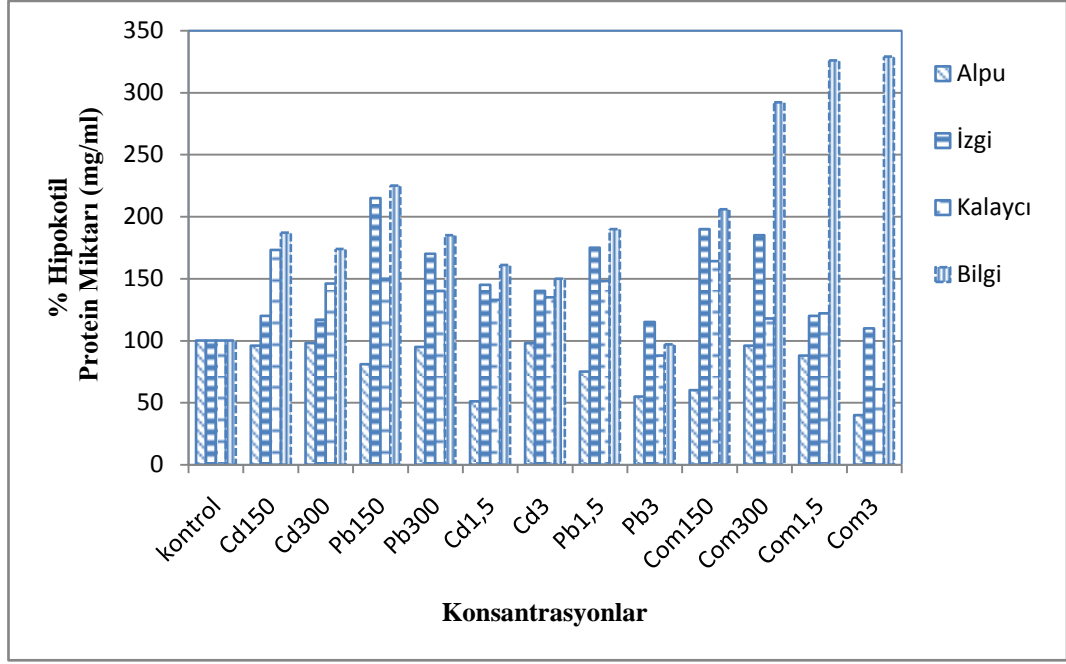
	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	177,836	3	59,279	44,269	,000*
Gruplar İçi	203,535	152	1,339		
Toplam	381,371	155			

* p<0,05

Buğday ve arpa türleri arasında hipokotil protein miktarları üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı dört homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.46).

Çizelge 3.46. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil protein miktarları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar			
		1	2	3	4
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	2,4123			
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39		3,0769		
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39			4,4538	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39				5,1000
Önem Düzeyi		1,000	1,000	1,000	1,000



Şekil 3.8. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil protein miktarları (mg/ml) üzerine etkisi

Yapılan ağır metal uygulamalarına göre kontrol grupları ile kıyaslandığında, hipokotilinde en fazla protein içeriğine sahip türün Bilgi-91 olduğu belirlenirken; en az protein içeriğine sahip türün Alpu-2001 olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.8).

Bitkiler hipokotil protein içeriği bakımından kontrol gruplarına göre karşılaştırıldığında Bilgi-91 türü kurşun+kadmiyumun 3mM konsantrasyonunda %330'luk bir artış görülmüştür. Tüm bitkiler kurşunun 3mM konsantrasyonunda kontrol gruplarına göre en az protein içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Alpu-2001 türünde ağır metal uygulamalarında kontrol grubuna göre hipokotil protein miktarında bir azalış olduğu görülmüştür(Şekil 3.8).

Uygulanan ağır metallerin radikula protein miktarları bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda protein miktarı bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı ($p < 0,05$) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.47).

Çizelge 3.47. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula protein miktarına göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

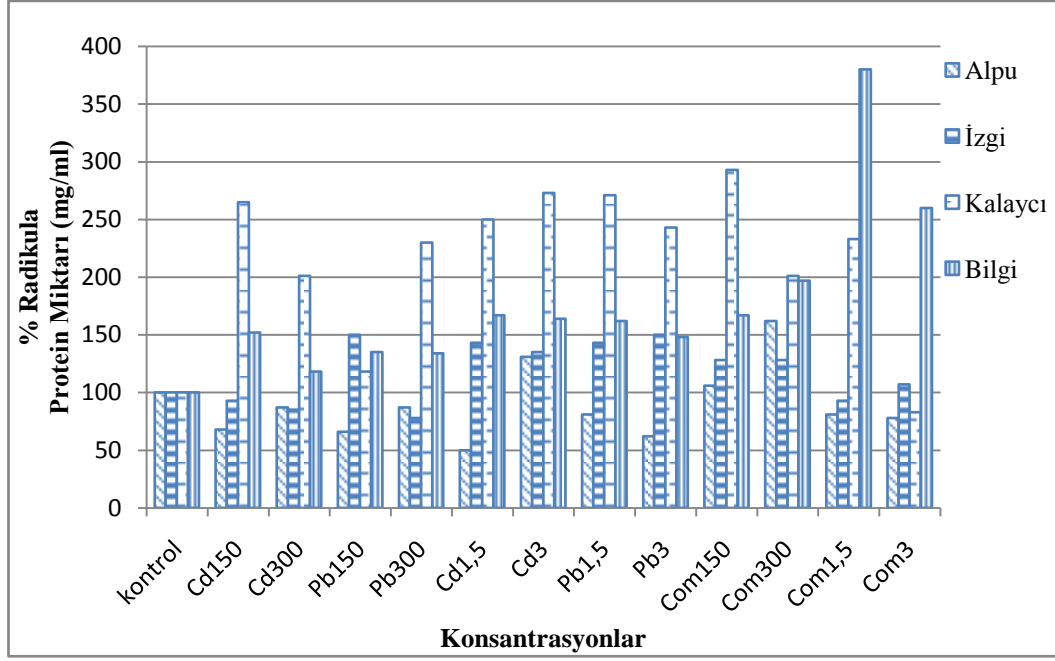
	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	51,067	3	17,022	33,097	,000*
Gruplar İçi	78,176	152	,514		
Toplam	129,243	155			

* p<0,05

Buğday ve arpa türleri arasında radikula protein miktarları üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı üç homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.48).

Çizelge 3.48. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula protein miktarları bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar		
		1	2	3
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	1,3167		
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39		1,7769	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39		1,7785	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39			2,8718
Önem Düzeyi		1,000	1,000	1,000



Şekil 3.9. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula protein miktarları (mg/ml) üzerine etkisi

Radikulalardaki protein içeriği kontrol gruplarına göre kıyaslandığında Bilgi-91 türü kurşun + kadmiyumun 1,5mM konsantrasyonunda %370'lik bir artış olduğu görülmüştür. Kalaycı-97 tür, kontrol grubu ile kıyaslandığında genel olarak bir artışın gözlemlendiği görülürken; kurşun+kadmiyumun 3mM konsantrasyonunda bir azalış olduğu saptanmıştır (Şekil 3.9).

3.3.1. Ağır Metal Stresinin Farklı Buğday Türlerindeki Protein Miktarları Üzerine Etkileri

Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının hipokotil ve radikuladaki protein miktarlarını belirlemek için *Triticum aestivum* L. cv İzgi-2001 ve *Triticum aestivum* L. cv Alpu-2001 türlerinde ölçümler yapılmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.49 ve Çizelge 3.50). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki protein miktarları arasındaki fark anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.49. Farklı ağır metallerin konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil protein miktarları üzerine etkisini gösteren istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv. İzgi-2001 ve T. a. cv. Alpu-2001</i>	-2.02307	1.60549	0.25708	-2.54351	-1.5026	-7.869	38	,000*

* p<0.05

Çizelge 3.50. Farklı ağır metallerin konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula protein miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv. İzgi-2001 ve T. a. cv. Alpu-2001</i>	-1,09333	1,21353	,19432	-1,48671	-,69996	-5,626	38	,000*

* p<0.05

3.3.1.1. *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 türünün hipokotil protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

İzgi-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil protein miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan p<0,05 düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.51).

Çizelge 3.51. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	21,736	12	1,811	35,321	,000*
Gruplar İçi	1,333	26	,051		
Toplam	23,069	38			

* p<0.05

İzgi-2001 türünde hipokotil protein miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı altı homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.52).

Çizelge 3.52. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar					
		1	2	3	4	5	6
Cd 300	3	2,1000					
Kontrol	3	2,2333	2,2333				
Pb 3	3	2,2333	2,2333				
Com 1.5	3	2,4000	2,4000	2,4000			
Cd 3	3		2,6000	2,6000			
Cd 150	3			2,6667			
Cd 1.5	3			2,8000			
Pb 1.5	3				3,4667		
Pb 300	3				3,5333		
Com 150	3				3,6333	3,6333	
Com 3	3					3,9667	3,9667
Pb 150	3						4,0667
Önem Düzeyi		,149	,080	,057	,404	,083	,099

3.3.1.2. *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 türünün radikula protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

İzgi-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula protein miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.53).

Çizelge 3.53. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün radikula protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	5,583	12	,465	42,323	,000*
Gruplar İçi	,286	26	,011		
Toplam	5,869	38			

* $p < 0.05$

İzgi-2001 türünde radikula protein miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı sekiz homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.54).

Çizelge 3.54. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde radikula protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Cd 300	3	1,233							
Pb 300	3	1,254	1,254						
Cd 150	3	1,363	1,363						
Com 1,5	3		1,433	1,363					
Kontrol	3			1,433					
Com 3	3			1,470					
Com 150	3				1,660				
Com 300	3					1,850			
Cd 3	3					1,930			
Pb 1,5	3						2,056		
Cd 1,5	3						2,163	2,163	
Pb 150	3						2,196	2,196	
Pb 3	3								3,266
Önem Düzeyi		,163	,056	,250	1,000	,151	,120	,389	1,000

3.3.1.3. *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001 türünün hipokotil protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Alpu-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil protein miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.55)

Çizelge 3.55. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	51,407	12	4,284	20,575	,000*
Gruplar İçi	5,413	26	,208		
Toplam	56,820	38			

* p<0.05

Alpu-2001 türünde hipokotil protein miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı dört homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.56).

Çizelge 3.56. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar			
		1	2	3	4
Cd 1,5	3	3,1667			
Pb 3	3	3,5000			
Com 150	3	3,5333			
Pb 150	3		4,4667		
Pb 1,5	3		4,5667		
Com 3	3		4,5667		
Com 1,5	3			5,4333	
Cd 150	3			5,7667	5,7667
Cd 3	3			6,0000	6,0000
Com 300	3			6,1667	6,1667
Cd 300	3				6,3333
Pb 300	3				6,3333
Kontrol	3				6,4667
Önem Düzeyi		,362	,803	,082	,108

3.3.1.4. *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001 türünün radikula protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Alpu-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula protein miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.57).

Çizelge 3.57. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün radikula protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	41,646	12	3,470	15,468	,000*
Gruplar İçi	5,833	26	,224		
Toplam	47,479	38			

* $p < 0.05$

Alpu-2001 türünde radikula protein miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı yedi homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.58).

Çizelge 3.58. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde radikula protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar						
		1	2	3	4	5	6	7
Cd 1,5	3	1,4667						
Pb 3	3	2,0000	2,0000					
Pb 150	3	2,0667	2,0667					
Com 3	3	2,2333	2,2333	2,2333				
Cd 150	3	2,3333	2,3333	2,3333				
Pb 1,5	3	2,3333	2,3333	2,3333				
Com 1,5	3		2,5000	2,5000				
Pb 300	3		2,6333	2,6333	2,6333			
Pb 300	3			3,0000	3,0000	3,0000		
Kontrol	3				3,4333	3,4333		
Com 150	3					3,5333		
Cd 3	3						4,5000	
Com 300	3							5,3000
Önem Düzeyi		,057	,165	,091	,060	,204	1,000	,389

3.3.2. Ağır Metal Stresinin Farklı Arpa Türlerindeki Protein Miktarları Üzerine Etkileri

Ağır metal konsantrasyonlarının hipokotil ve radikuladaki protein miktarları üzerine etkisini belirlemek amacıyla *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 ve *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türlerinde farklı konsantrasyonlarındaki ağır metallerin uygulamaları yapılmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.59 ve Çizelge 3.60). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki protein miktarı arasındaki fark anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.59. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil protein miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv. Bilgi-91</i>	-2,04154	1,87889	,30070	-2,65028	-1,43280	-6,789	38	,000*

* p<0.05

Çizelge 3.60. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula protein miktarları üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı-97 ve <i>H. v. cv Bilgi-91</i>	-,46026	,79346	,12706	-,71747	-20305	-3,622	38	,001*

* p<0.05

3.3.2.1. *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 türünün hipokotil protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Kalaycı-97 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil protein miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan

varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.61).

Çizelge 3.61. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	11,211	12	,934	41,988	,000*
Gruplar İçi	,579	26	,022		
Toplam	11,790	38			

* $p < 0.05$

Kalaycı-97 türünde hipokotil protein miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı sekiz homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.62).

Çizelge 3.62. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Com 3	3	1,236							
Pb 3	3		1,686						
Kontrol	3		1,730						
Com 300	3			2,320					
Cd 1,5	3			2,406	2,406				
Com 1,5	3			2,513	2,513	2,513			
Pb 300	3			2,550	2,550	2,550			
Cd 3	3			2,553	2,553	2,553			
Cd 300	3				2,607	2,606	2,606		
Pb 1,5	3					2,770	2,772	2,772	
Pb 150	3							2,844	
Com 150	3							2,880	
Cd 150	3								3,266
Önem Düzeyi		1,000	,705	,097	,151	,069	,084	,389	1,000

3.3.2.2. *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 türünün radikula protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Kalaycı-97 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula protein miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.63).

Çizelge 3.63. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün radikula protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	5,843	12	,487	57,951	,000*
Gruplar İçi	,218	26	,008		
Toplam	6,062	38			

* $p < 0.05$

Kalaycı-97 türünde radikula protein miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı yedi homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.64).

Çizelge 3.64. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde radikula protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar						
		1	2	3	4	5	6	7
Com 3	3	,6267						
Kontrol	3	,6333						
Pb 150	3	,7567						
Cd 300	3		1,1667					
Com 300	3		1,2700	1,2700				
Pb 300	3			1,4067	1,4067			
Com 1,5	3				1,4700	1,4700		
Pb 3	3				1,4967	1,4967		
Cd 1,5	3					1,5867	1,5867	
Cd 150	3					1,6200	1,6200	1,6200
Pb 1,5	3					1,6267	1,6267	1,6267
Cd 3	3						1,6933	1,6933
Com 150	3							1,7633
Önem								
Düzeyi		,112	,179	,079	,267	,070	,204	,389

3.3.2.3. *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türünün hipokotil protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Bilgi-91 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil protein miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.65).

Çizelge 3.65. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	108,063	12	9,005	61,730	,000*
Gruplar İçi	3,793	26	,146		
Toplam	111,856	38			

* p<0.05

Bilgi-91 türünde hipokotil protein miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı yedi homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.66).

Çizelge 3.66. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde hipokotil protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar						
		1	2	3	4	5	6	7
Kontrol	3	2,4667						
Pb 3	3	2,7167	2,7167					
Pb 1,5	3		3,3333	3,3333				
Pb 300	3			3,4333	3,4333			
Pb 150	3			3,4467	3,4467			
Cd 3	3			3,5567	3,5567			
Cd 1,5	3			4,0000	4,0000	4,0000		
Cd 300	3				4,0667	4,0667		
Cd 150	3					4,3700		
Com 150	3					4,6833		
Com 300	3						6,6767	
Com 3	3							7,3533
Cd 1,5	3							7,7967
Önem Düzeyi		,430	,059	,065	,079	,054	1,000	,389

3.3.2.4. *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türünün radikula protein miktarı üzerine ağır metal stresinin etkileri

Bilgi-91 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula protein miktarı üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.67).

Çizelge 3.67. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün radikula protein miktarı üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	18,652	12	1,554	352,031	,000*
Gruplar İçi	,115	26	,004		
Toplam	18,767	38			

* $p < 0.05$

Bilgi-91 türünde hipokotil protein miktarı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı sekiz homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.68).

Çizelge 3.68. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde radikula protein miktarı üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Kontrol	3	1,0733							
Cd 300	3		1,2367						
Pb 300	3			1,3500					
Pb 150	3			1,3667	1,3667				
Pb 3	3				1,4700				
Cd 1,5	3					1,6033			
Cd150	3					1,6067			
Pb 1,5	3					1,6200			
Com 150	3					1,6633			
Cd 3	3					1,6933			
Com 300	3						1,9733		
Com 3	3							2,6433	
Com 1,5	3								3,8000
Önem Düzeyi		1,000	1,000	,761	,068	,149	1,000	1,000	1,000

3.4. Bitkilerde GST Aktivitesinin Belirlenmesi

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotildeki GST enzimi aktivitesi bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda GST enzimi aktivitesi bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.69).

Çizelge 3.69. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil GST aktivitelerine göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

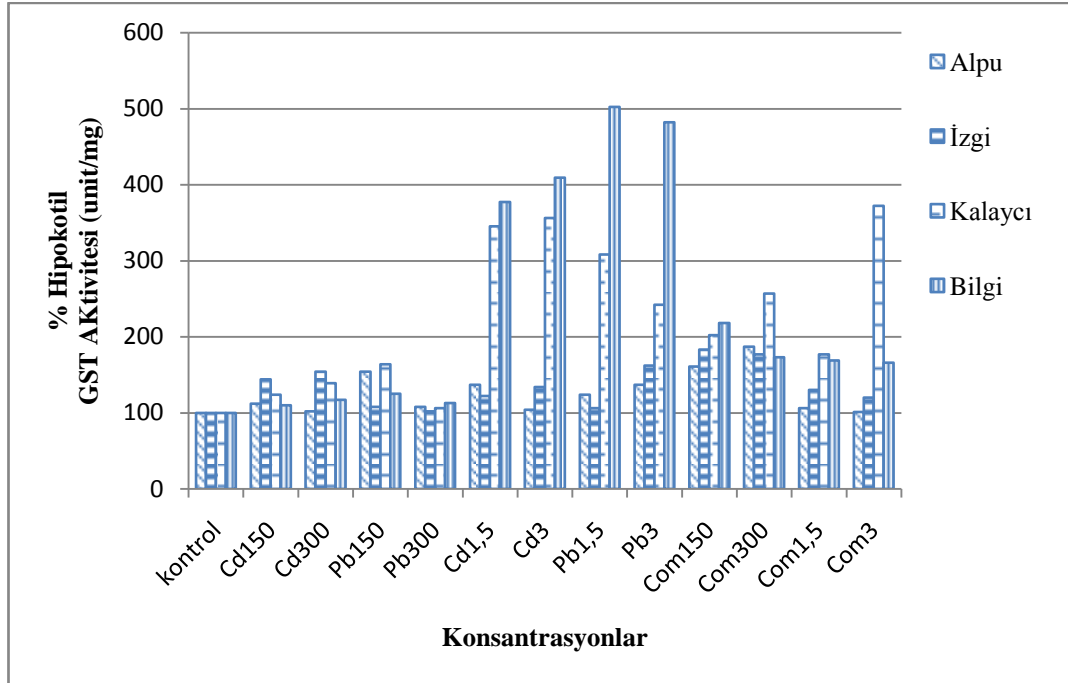
	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	21239,818	3	7079,939	5,234	,002*
Gruplar İçi	205623,816	152	1352,788		
Toplam	226863,634	155			

* p<0,05

Buğday ve arpa türlerinde hipokotil GST enzimi aktivitesi üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı iki homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.70). Oluşan gruplar arasından İzgi-2001 türünün diğer gruplardan ayrıldığı görülmüştür.

Çizelge 3.70. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin hipokotil GST aktiviteleri bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar	
		1	2
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	84,1395	
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39	86,5410	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39	87,6000	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39		112,8846
Önem Düzeyi		,699	1,000



Şekil 3.10. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki hipokotil GST aktiviteleri üzerine etkisi

GST aktivitesi bakımından, ağır metallerin düşük konsantrasyonlarında bitkilerin GST aktivitelerinin birbirine yakın olduğu bulunmuştur. Hipokotil GST aktiviteleri kontrol gruplarına göre kıyaslandığında kurşunun 1,5mM ve 3mM konsantrasyonlarında sırasıyla %500 ve %485'lik bir artışla en fazla aktiviteyi Bilgi-91 türü göstermiştir. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metaller kontrol gruplarına göre enzim aktivitesinde bir artışın olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Şekil 3.10).

Uygulanan ağır metallerin radikula GST aktiviteleri bakımından karşılaştırılmaları amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda GST aktiviteleri bakımından türler ve ağır metal uygulamaları arasında istatistiksel bakımdan anlamlı ($p < 0,05$) bir fark olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.71).

Çizelge 3.71. Ağır metallerin İzgi-2001, Alpu-2001, Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin radikula GST aktivitelere göre yapılan varyans analizi sonuçları

ANOVA

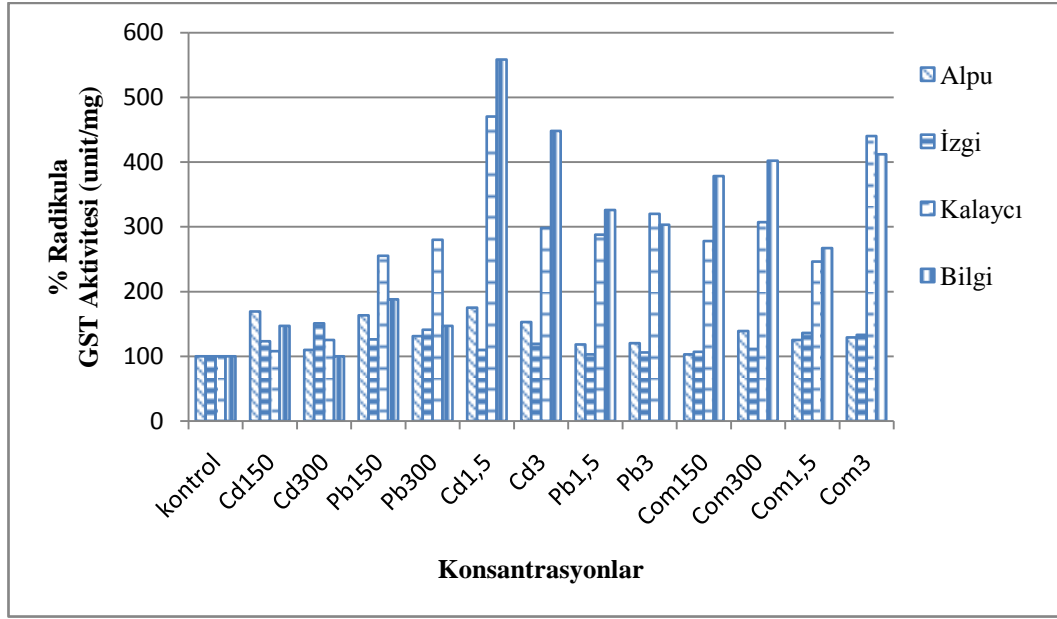
	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	227409,383	3	75803,128	44,216	,000*
Gruplar İçi	260588,277	152	1714,397		
Toplam	487997,659	155			

* p<0,05

Buğday ve arpa türleri arasında radikula GST aktivite üzerine ağır metal uygulamalarının etkileri bakımından farklılıkların belirlenebilmesi amacıyla Duncan testi yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda birbirinden farklı üç homojen grup oluşmuştur (Çizelge 3.72).

Çizelge 3.72. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday ve arpa türlerinin radikula GST aktivite bakımından gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar		
		1	2	3
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Bilgi-91	39	73,8410		
<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Kalaycı-97	39	89,8303		
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. Alpu-2001	39		121,5051	
<i>Triticum aestivum</i> L. cv. İzgi-2001	39			173,8333
Önem Düzeyi		,090	1,000	1,000



Şekil 3.11. Uygulanan ağır metal konsantrasyonlarının farklı arpa ve buğday türlerindeki radikula GST aktiviteleri üzerine etkisi

Bilgi-91 ve Kalaycı-97 türlerinin radikulları arasında farklı konsantrasyonlardaki ağır metallerin konsantrasyonu arttıkça kontrol grubuna göre genel olarak enzim aktivitesinde bir artış olduğu görülmüştür. Alpu-2001 ve İzgi-2001 türlerinde uygulanan farklı konsantrasyonlardaki ağır metallerin radikullar üzerinde kontrol gruplarına göre azda olsa bir artış olduğu görülmüştür (Şekil 3.11).

3.4.1. Ağır Metal Stresinin Farklı Buğday Türlerindeki GST Aktiviteleri Üzerine Etkileri

Ağır metal konsantrasyonlarının GST aktiviteleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 ve *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001 türleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.73 ve Çizelge 3.74). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki hipokotil ve radikula GST aktiviteleri arasındaki farklılıklar anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 3.73. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki hipokotil GST aktiviteleri üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv. İzgi-2001 ve T. a. cv. Alpu-2001</i>	22,40290	36,94260	5,91555	10,42749	34,37830	3,787	38	,001*

* p<0.05

Çizelge 3.74. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının buğday türleri arasındaki radikula GST aktiviteleri üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>T. a. cv. İzgi-2001 ve T. a. cv. Alpu-2001</i>	52,40769	30,66353	4,91009	42,46773	62,34766	10,67	38	,000*

* p<0.05

3.4.1.1. *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri

İzgi-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil GST aktiviteleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan p<0,05 düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.75).

Çizelge 3.75. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	,073	12	,012	45,787	,000*
Gruplar İçi	,005	26	,001		
Toplam	,057	38			

* p<0.05

İzgi-2001 türünde hipokotil GST aktivitesi bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı on homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.76).

Çizelge 3.76. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kontrol	3	88,3									
Com 300	3		90,9								
Pb 300	3		91,8								
Pb 150	3			96,0							
Com 150	3			96,6							
Pb 1,5	3				104,5						
Com 3	3					110,5					
Pb 3	3					111,3					
Cd 1,5	3						121,3				
Com 1,5	3							128,6			
Cd 3	3								130,3		
Cd 150	3									143	
Cd 300	3										152
Önem Düzeyi		1,000	,317	,486	1,000	,375	1,000	1,000	1,00	1,00	1,00

3.4.1.2. *Triticum aestivum* L. cv. İzgi-2001 türünün radikula GST aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri

İzgi-2001 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula GST aktiviteleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.77).

Çizelge 3.77. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin İzgi-2001 türünün radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	19647,053	12	1637,254	2222,517	,000*
Gruplar İçi	19,153	26	,737		
Toplam	19666,207	38			

* $p < 0.05$

İzgi-2001 türünde radikula GST aktiviteleri bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı onbir homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.78).

Çizelge 3.78. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının İzgi-2001 türünde radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Kontrol	3	132										
Com 150	3		145									
Com 300	3			149								
Cd 1,5	3				161							
Pb 150	3				162							
Cd 150	3					173						
Pb 1,5	3						177					
Pb 3	3						178					
Cd 3	3							178				
Com 1,5	3								189			
Com 3	3									197		
Pb 300	3										201	
Cd 300	3											212
Önem												
Düzeyi		1,00	1,00	1,00	1,00	,305	1,00	,099	1,00	1,00	1,00	1,00

3.4.1.3. *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri

Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının Alpu-2001 türünün hipokotil GST aktiviteleri üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.79).

Çizelge 3.79. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	13244,427	12	1103,702	925,885	,000*
Gruplar İçi	30,993	26	1,192		
Toplam	13275,420	38			

* p<0.05

Alpu-2001 türünde hipokotil GST aktiviteleri bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı sekiz homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.80).

Çizelge 3.80. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Kontrol	3	69,30							
Cd 300	3	71,03	71,03						
Com 3	3	71,10	71,10						
Cd 3	3		72,83						
Com 1,5	3			74,93					
Pb 300	3			75,36					
Cd 150	3			76,50					
Pb 1,5	3				86,56				
Pb 3	3					95,46			
Cd 1,5	3					96,06			
Pb 150	3						107,70		
Com 150	3							113,33	
Com 300	3								128,60
Önem Düzeyi		,066	,066	,108	1,000	,507	1,000	1,000	1,000

3.4.1.4. *Triticum aestivum* L. cv. Alpu-2001 türünün radikula GST aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri

Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının Alpu-2001 türünün radikula GST aktiviteleri üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farklılık olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.81).

Çizelge 3.81. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Alpu-2001 türünün radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	19847,954	12	1653,996	2124,699	,000*
Gruplar İçi	20,240	26	,778		
Toplam	19868,194	38			

* $p < 0.05$

Alpu-2001 türünde radikula GST aktiviteleri bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı yedi homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.82).

Çizelge 3.82. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Alpu-2001 türünde radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar						
		1	2	3	4	5	6	7
Kontrol	3	92,70						
Cd 300	3		95,73					
Com 3	3			101,43				
Cd 3	3			102,36				
Com 1,5	3			103,50				
Pb 300	3				103,56			
Cd 150	3					104,46		
Pb 1,5	3					105,06		
Pb 3	3						105,70	
Cd 1,5	3						106,32	
Pb 150	3						106,56	
Com 150	3						107,46	
Com 300	3							108,60
Önem								
Düzeyi		1,000	1,000	,108	1,000	,207	1,000	1,000

3.4.2. Ağır Metal Stresinin Farklı Arpa Türlerindeki GST aktiviteleeri Üzerine Etkileri

Ağır metal konsantrasyonlarının hipokotil ve radikuladaki GST aktiviteleeri üzerine etkisini belirlemek amacıyla *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 ve *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türleeri üzerinde farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulanmıştır. Sonuçlar student-t testi yardımıyla istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Çizelge 3.83 ve Çizelge 3.84). %95 güvenle belirlenen ağır metallerin konsantrasyonlarındaki hipokotil GST aktiviteleeri arasında anlamlı bir fark olmadığı oysa ($p < 0.05$); radikula GST aktiviteleeri arasında anlamlı bir fark olduğu bulunmuştur.

Çizelge 3.83. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki hipokotil GST aktiviteleri üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı- 97 ve <i>H.</i> <i>v. cv</i> Bilgi-91	-2,40154	44,45157	7,11795	-16,811	12,0079	-,337	38	,738*

* p<0.05

Çizelge 3.84. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının arpa türleri arasındaki radikula GST aktiviteleri üzerine etkisinin istatistiksel analizi

Student-t Testi

	Eşlerin Farklılıkları							
	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	%95 Güvenle Fark Aralığı		t	df	Önem Düzeyi
				Alt	Üst			
<i>H. v. cv</i> Kalaycı- 97 ve <i>H.</i> <i>v. cv</i> Bilgi-91	15,98923	44,59056	7,12419	1,56706	30,41140	2,244	38	,031*

* p<0.05

3.4.2.1. *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri

Kalaycı-97 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil GST aktiviteleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.85).

Çizelge 3.85. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	49376,890	12	4114,741	2692,008	,000*
Gruplar İçi	39,741	26	1,529		
Toplam	49416,631	38			

* $p < 0.05$

Kalaycı-97 türünde hipokotil GST aktiviteleri bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı onüç homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.86).

Çizelge 3.86. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Kontrol	3	36												
Com 300	3		40											
Pb 300	3			43										
Pb 150	3				55									
Com 150	3					61								
Pb 1,5	3						66							
Com 3	3							76						
Pb 3	3								91					
Cd 1,5	3									95				
Com 1,5	3										116			
Cd 3	3											130		
Cd 150	3												134	
Cd 300	3													141
Önem Düzeyi		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

3.4.2.2. *Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97 türünün radikula GST aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri

Kalaycı-97 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula GST aktiviteleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.87).

Çizelge 3.87. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Kalaycı-97 türünün radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	109012,284	12	9084,357	4852,728	,000*
Gruplar İçi	48,672	26	1,872		
Toplam	109060,957	38			

* p<0.05

Kalaycı-97 türünde radikula GST aktiviteleri bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı onüç homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.88).

Çizelge 3.88. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Kalaycı-97 türünde radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Kontrol	3	37												
Cd 150	3		40											
Cd 300	3			46										
Pb 300	3				53									
Com 1,5	3					61								
Pb 150	3						66							
Com 150	3							76						
Com 300	3								91					
Cd 3	3									95				
Pb 1,5	3										116			
Cd 1,5	3											130		
Pb 3	3												134	
Com 3	3													141
Önem Düzeyi		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

3.4.2.3. *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri

Bilgi-91 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil GST aktiviteleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.89).

Çizelge 3.89. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	126886,541	12	10573,878	2231,983	,000*
Gruplar İçi	123,173	26	4,737		
Toplam	127009,714	38			

* $p < 0.05$

Bilgi-91 türünde hipokotil GST aktiviteleri bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı dokuz homojen grubun olduğu görülmüştür (Çizelge 3.90).

Çizelge 3.90. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde hipokotil GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kontrol	3	35,33								
Cd 150	3		39,2							
Pb 300	3		41,0							
Cd 300	3		42,0	42,00						
Pb 150	3			45,23						
Com 3	3				58,23					
Com 1,5	3				59,93					
Com 300	3				61,16					
Com 150	3					76,9				
Cd 1,5	3						134,2			
Cd 3	3							144,6		
Pb 3	3								172,4	
Pb 1,5	3									214,5
Önem Düzeyi		1,00	,153	,080	,130	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

3.4.2.4. *Hordeum vulgare* L. cv. Bilgi-91 türünün radikula GST aktivitesi üzerine ağır metal stresinin etkileri

Bilgi-91 türünde farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin radikula GST aktiviteleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan varyans analizleri sonucunda uygulamalar arasında istatistiksel bakımdan $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı bir farkın olduğu bulunmuştur (Çizelge 3.91).

Çizelge 3.91. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin Bilgi-91 türünün radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin varyans analizi sonuçları

ANOVA

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F	Önem Düzeyi
Gruplar Arası	111948,794	12	9329,066	2281,649	,000*
Gruplar İçi	111,180	26	4,276		
Toplam	112059,974	38			

* p<0.05

Bilgi-91 türünde radikula GST aktiviteleri bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda farklı on homojen grubun oluştuğu görülmüştür (Çizelge 3.92).

Çizelge 3.92. Farklı ağır metal konsantrasyonlarının Bilgi-91 türünde radikula GST aktivitesi üzerine etkisinin gruplandırılmasına ilişkin Duncan testi sonuçları

	N	Homojen Gruplar									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kontrol	3	12,2									
Cd 150	3	13,4									
Pb 300	3	14,5									
Cd 300	3		18,33								
Pb 150	3			22,36							
Com 3	3				64,80						
Com 1,5	3					70,66					
Com 300	3						91,06				
Com 150	3						93,13				
Cd 1,5	3							102,9			
Cd 3	3								133,6		
Pb 3	3									154,7	
Pb 1,5	3										168,1
Önem Düzeyi		,203	1,000	1,000	1,000	1,000	,232	1,000	1,000	1,000	1,000

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

GST'ler tipik olarak GSH konjugasyonunu kapsayan bir reaksiyonla birçok elektrofilik bileşiğin uzaklaştırılmasını sağlayan bir enzim ailesidir (Armstrong 1997). GST'ler farklı reaksiyon tiplerinde yer alırlar ve genellikle substrat ve GSH'un sülfür atomu arasında bir tiyoeter bağı oluşumu vasıtasıyla bir elektrofilik merkez içeren bileşikler ile redükte GSH konjugasyonunu katalizlerler (Mannervik ve ark. 1985). Konjugasyon reaksiyonlarının yanında GST izozimlerinin çoğu organik hidroperoksitlerin indirgenmesi ve çeşitli doymamış bileşiklerin izomerizasyonu gibi diğer GSH-bağımlı katalitik aktivitelerde yer alırlar. GST aynı zamanda karsinojenlerin uzaklaştırılması, hidrofobik ligandların hücre içi transportu ve sinyal dönüşüm yollarının düzenlenmesi gibi non-katalitik fonksiyonlarda da rol oynar (Adler ve ark. 1999; Cho ve ark. 2001).

4.1. Ağır Metallerin Çimlenme Üzerine Etkisi

Ağır metallerin çimlenme üzerine etkileri genellikle çimlenmeyi baskılama yönünde olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla ağır metallerin bitkinin çimlenmesini baskılayıcı etkisinin 2 şekilde gerçekleştiği ileri sürülmektedir. Bunlardan ilki genel toksik etkiler (tohum canlılığını etkileme, tohum ağırlığını azaltma), ikincisi ise su alımının engellenmesi yüzünden oluşan etkilerdir (Kranner ve Colville 2011).

Bu çalışmada ağır metal uygulamalarının buğday ve arpa türlerinin çimlenme cevaplarına göre farklılıklara sahip oldukları belirlenmiştir. Yaptığımız çalışmalarda bu etki kurşun 150µM, kadmiyum 150 µM ve 300 µM konsantrasyonlarında en fazla çimlenme oranı sırasıyla İzgi-2001, Bilgi-91 sonra Alpu-2001 ve Kalaycı-97 türünde olduğu bulunmuştur. Ağır metallerin konsantrasyonu arttıkça en fazla çimlenme oranı sırasıyla Alpu-2001, Bilgi-91, İzgi-2001 ve Kalaycı-97 şeklindedir. Özellikle Kalaycı-97 kurşun+kadmiyum 1,5mM konsantrasyonunda hiç çimlenememiştir. Bulgularımızla aynı paralellikte *Cicer arietum* cv. Akçin 91 ve *Cicer arietum* cv. Gökçe türleri ile yapılan bir çalışmada FeCl₃, ZnCl₂, MgCl₂ ve CuCl₂ uygulamalarının türlerin çimlenmeleri açısından belirgin farklılıklara sahip olduğu bildirilmiş ve bu farklılık da türle ilişkilendirilmiştir (Sözen ve ark., 2010). Yine benzer bir çalışmada ise ağır metal

uygulanan aynı türe ait türler (arpa, fasulye, mısır, marul ve kabak) arasında yapılan denemelerde türlerin birbirlerinden farklı cevaplar verdiği belirtilmiştir (Xiao-li ve Shu-zhen 2007).

Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular türler için tek tek incelenecek olursa; İzgi-2001 türüne uygulanan ağır metallerin konsantrasyonu arttıkça çimlenmenin baskılandığı görülmüştür. Özellikle bu türde kurşun ve kadmiyumun düşük konsantrasyonlarında çimlenmeyi engellemek yerine pozitif yönde bir etki gösterdiği gözlenmekteyken, ağır metallerin konsantrasyon artışında çimlenmeyi baskıladığı belirlenmiştir. Kalaycı-97 türünde ağır metal uygulamalarının bütün dozlarında çimlenmenin belirgin oranda baskılandığı gözlenmiştir. Alpu-2001 ve Bilgi-91 türlerinde kontrol grubuna göre ağır metallerin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak çimlenmeyi baskıladığı görülmüştür. Bulgularımız konuyla ilgili literatür bilgileri ile uyumluluk göstermektedir. Kıran ve Şahin (2005), mercimek (*Lens culinaris* Medik) tohumlarının çimlenmesi üzerine kurşunun etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada düşük kurşun konsantrasyonlarında tohumların çimlenmesinin kontrole göre farklılık göstermediği, yüksek konsantrasyonlarda çimlenmenin baskılandığı belirtilmiştir. Benzer şekilde kurşun ve kadmiyumun arpa ve buğdayda tohum çimlenmesine, radikula ve hipokotillerin gelişimine olumsuz etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir (Titov ve ark. 1996).

Çimlenme açısından uygulanan bütün ağır metaller az ya da çok toksik etkilere sahiptir. Çalışmamızda türler üzerinde en çok toksik etkiye sahip olan ağır metalin kurşun+kadmiyum 3mM olduğu görülmektedir. Benzer olarak *Helianthus annuus* ile yapılan çalışmada en fazla toksik etkinin kurşun uygulaması ile olduğu belirlenmiştir (Chakravarty ve Srivastava 1992). Kurşun stresinin neden olduğu çimlenmenin baskılanmasının ise ekstraselüler olarak meydana gelen ve metal stresine beraber artış gösteren hidrojen peroksit oluşumu olduğu ileri sürülmektedir (Yang ve ark. 2010). Literatürde düşük konsantrasyonlarda uygulanan kadmiyum, arsenik ve bakırın çimlenmeyi az da olsa arttırdığını bildiren çalışmalar da olup; bunun nedeninin oksidatif stres ve reaktif nitrojen

türevlerinin ortamda artması ile çimlenmenin az da olsa artmış olduğu bildirilmiştir (Kraner ve Colville 2011).

4.2. Ağır Metallerin Hipokotil ve Radikula Su İçeriği Üzerine Etkisi

Ağır metaller bitkinin su alımını ve suyun radikuladan hipokotile taşınmasını baskılamaktadır (Wierzbicka ve Obidzinska 1998). Ağır metal toksisitesinin neden olduğu bitkilerdeki bağıl su içeriğindeki değişimlerin nedeni, radikuladaki kılcal tüylerin azalmasına bağlı olarak yüzey alanının daralması ve damar ve kanal tüplerinin sayıca ve alan olarak azalması gösterilebilir (Wojcik ve Tukendorf 1999). Dolayısıyla radikula ve hipokotile taşınacak su azalır ve gelişim evreleri sekteye uğramış olur.

Çalışmamızda, farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarına göre bitki türleri birbirleri ile karşılaştırıldığında hipokotil su içeriği açısından farklılıklar göstermiştir. Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamaları konsantrasyon artışına paralel olarak hipokotil su içeriğinde azalmaya neden olmuş ve Kalaycı-97 türünün uygulanan ağır metalin türüne ve konsantrasyonuna bağlı (kurşun+kadmiyum 3mM konsantrasyonu hariç) olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en düşük hipokotil su içeriğine sahip tür olduğu belirlenmiştir.

Ağır metal uygulamalarının hipokotil su içeriği etkilerine bakıldığında ise, dört tür birbiri ile kıyaslandığında en fazla su içeriğine sahip türün İzgi-2001 olduğu (kurşun+kadmiyum 3mM konsantrasyonu hariç) belirlenmiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarına göre bitki türleri birbirleri ile karşılaştırıldığında radikula su içeriği açısından farklılıklar göstermiştir. Ağır metal uygulamaları Alpu-2001 türünün radikula su içeriği konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı, İzgi-2001 türünün radikula su içeriğindeki değişimin Alpu-2001 göre daha az olduğu belirlenmiştir. Bilgi-91 ve Kalaycı-97 türlerinde farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının tümünde kontrol gruplarına göre radikula su içeriğinde bir azalışa neden olmuştur.

Bulgularımızla benzer olarak yüksek konsantrasyonda kadmiyum uygulanan Gerek-79 ve Bolal-2973 ekmeklik buğday türlerinde bitki boyu ve

toprak üstü kısımlarının su içeriğinde önemli seviyede azalmalar belirlenmiştir (Öncel ve ark. 2000). Yine Shafi ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada kadmiyumun hipokotil ve radikula su içeriğini azalttığı belirtilmiştir. Fasulye fidelerine uygulanan kadmiyum ve çinko, radikuladaki su içeriğini önemli derecede azaltırken, hipokotil üzerine bir etkisi olmadığı belirlenmiş olup radikulaların hipokotile göre metal toksisitesine daha hassas olduğu bildirilmiştir (Chaoui ve ark. 1997). Artan dozlarda uygulanan kadmiyumun, *Triticum durum* L. cv. Balcali-85 ve *Triticum durum* L. cv. C-1252 buğday türlerinin hipokotil ve radikula su içeriği miktarında önemli oranda bir azalmanın olduğu bildirilmiştir (Öztürk ve ark. 2003). Yapılan diğer başka çalışmalara göre buğday ve arpa türlerine uygulanan artan miktardaki kurşun, kadmiyum ve çinko ağır metallerinin hipokotil ve radikula su içeriğinde bir azalışa neden olduğu bildirilmiştir (Ak 2011; Tariq ve ark. 2007).

4.3. Ağır Metallerin Hipokotil ve Radikula Uzunlukları Üzerine Etkisi

Ağır metallerin hipokotil ve radikulalarda oluşturduğu zarar, temel besin maddelerinin alımında azalmaya ve elementlerin immobilizasyonuna neden olup hipokotilde önemli ölçüde besin yetersizliğinin ortaya çıkmasına zemin hazırlar (Kranner ve Colville 2011).

Yaptığımız çalışmalarda farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamaları sonucunda bitki türleri birbirleri ile karşılaştırıldığında hipokotil uzunlukları bakımından farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bitkiler birbirleri arasında kontrol gruplarına göre kıyaslandığında kurşun+kadmiyum 3mM konsantrasyonundaki ağır metal uygulamasında %160'lik artışla en fazla hipokotil uzunluğuna sahip türün Kalaycı-97 olduğu belirlenmiştir.

Alpu-2001 türünde düşük konsantrasyonlarda uygulanan ağır metallerin hipokotil uzunluğu üzerindeki olumsuz etsi az iken, ağır metallerin yüksek konsantrasyonları hipokotil uzunluğunu olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir. Sonuçlarımızla paralel olarak kadmiyum ve kurşun uygulanan buğday (Ergun ve Öncel 2009), kadmiyum ve nikel uygulanan pirinç (Moya ve ark.1993),

kadmiyum ve kurşun uygulanan pancar (Larbi ve ark. 2002) fidelerinde hipokotil boyunun azaldığı gözlenmiştir.

Kalaycı-97 ve Bilgi-91 arpa türlerinin buğday türlerine göre hipokotil uzunluğunun daha fazla olduğu çalışmalar sonucunda görülmüştür. Özellikle artan metal konsantrasyonlarında buğday türlerinde hipokotil uzunluğu arpa türlerine kıyasla önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Çalışmalarımıza paralel olarak *Triticum aestivum* L. cv. Altay ve *Triticum aestivum* L. cv. Sultan türlerinde kadmiyum ve kurşunun yüksek konsantrasyonlarının hipokotil uzunluğunda azalışa neden olduğu bildirilmiştir (Ak 2011).

Çalışmamızda ağır metal uygulamaları buğday türlerinin radikula uzunluklarında bir azalışa neden olmuştur. Bu etki en fazla İzgi-2001 türünde görülmüştür. Bu dört tür arasında ağır metal uygulamalarının radikula uzunluğunun en az etkilendiği türün Kalaycı-97 olduğu belirlenmiştir. Kalaycı-97 türü hariç radikula uzunluğunun ağır metallerin konsantrasyon artışlarına paralel olarak azaldığı belirlenmiştir. Kadmiyumun 1,5 ve 3mM ile kurşun+kadmiyum 1,5 ve 3mM konsantrasyonlarında hiçbir türde radikula gelişimi gözlenmemiştir. Ağır metallerin konsantrasyonundaki artış ve bunların kombine etkilerinin radikula gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir.

Ağır metal toleransı bitki türüne, bitki çeşidine, uygulanan ağır metale, konsantrasyona ve uygulama süresine bağlı olarak değişkenlik gösterse de bulgularımızla paralel olarak çinko, kadmiyum, kurşun uygulanan *Triticum aestivum* cv. Gün 91 (Ergun ve Öncel 2009), kadmiyum ve sodyum klorür uygulanan buğday (Shafi ve ark. 2010), kadmiyum, bakır, çinko, kurşun ve demir uygulanan hardal (Fargasova 2001), kurşun ve çinko uygulanan nane (Bekiaroglou ve Karatagtis 2002), kadmiyum ve nikel uygulanan pirinç (Moya ve ark., 1993), kurşun ve bakır uygulanan bakla (Pryzmusinski ve Gwozdz 1994) ve kadmiyum uygulanan *Triticum aestivum* cv. Gerek-79 ve *Triticum aestivum* cv. Bolal-2973 buğday fidelerinde (Öncel ve ark. 2000) radikula boyunun azaldığı bulunmuştur. Yapılan bir diğer çalışmada *Triticum aestivum* cv. Zyta çeşidine bakır, kadmiyum ve nikel uygulaması yapılmış olup sonuçta radikula uzunluğuna toksik etkili olan ağır metallerin sırasıyla kadmiyum, nikel ve bakır olduğu

belirlenmiştir (Gajewska ve Sklodowska, 2010). Radikula gelişimi üzerine arpa ve mısırla yapılan bir çalışmada kurşun ve kadmiyumun radikula büyümesini baskıladığı bulunmuştur (İvanov ve ark. 2003). Mısır ve buğday ile yapılan bir başka çalışmada ise kadmiyum toksisitesine buğdayın daha toleranslı (Wojcik ve Tukendorf 1999) ve hatta kadmiyum kirliliğinin yoğun olduğu topraklarda yetişen buğdayın radikula uzunluğu parametresinin kadmiyumun biyoindikatörü olarak kullanılabilmesine (Chen ve ark. 2010) dair sonuçlar olduğu bildirilmiştir. Çünkü ağır metal toksisitesine karşı radikula uzunluğu, hipokotil uzunluğu ve çimlenmeye göre çok daha duyarlı bir parametredir (Chen ve ark., 2010; Yang ve ark., 2010). Ağır metal uygulamaları radikula büyümesinin baskılanmasına neden olurken aynı zamanda radikula ucunda gerçekleşen mitozu da baskılandığı bildirilmiştir (Kachout ve ark. 2010).

4.4. Ağır Metallerin GSH Miktarı Üzerine Etkisi

GST'ler, GSH'un çok sayıda aktif molekülün elektrofilik merkezleri ile konjugasyonunu katalizleyen multifonksiyonel bir enzim ailesidir (Jung ve ark. 1996). GSH bitkileri oksidatif strese karşı koruyan temel antioksidandır (Smith ve ark 2005). GSH miktarındaki değişimler, stresli çevre koşullarına maruz kalan bitkilerin uyum mekanizmalarında önemli olduğu düşünülmektedir (Alscher ve Hess 1993; Smith ve ark. 2005).

Yaptığımız çalışmada farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamaları buğday ve arpa türlerinin hipokotil ve radikulaları üzerinde yapılan deneyler birbirleri ile karşılaştırıldığında GSH miktarı ($\mu\text{g/ml}$) bakımından farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmalarda kullanılan bitki tür birbiri ile karşılaştırıldığında Alpu-2001 türünün hipokotil GSH miktarı diğer bitki türlerine göre daha fazla GSH içerdiğine sahip olduğu (kurşun $150\mu\text{M}$ ve $300\mu\text{M}$ konsantrasyonları hariç) belirlenmiştir. Alpu-2001 türünün hipokotili kontrol grubu ile kıyaslandığında en fazla GSH miktarını kurşun 3mM konsantrasyonunda %370 artış ile göstermiştir. İzgi-2001 ve Kalaycı-97 türlerindeki hipokotil GSH miktarları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir azalışa neden olduğu görülmüştür.

Çalışmalarımızın sonuçlarına paralel olarak *Triticum aestivum* L. cv. Cumhuriyet-75 ve *Hordeum vulgare* L. cv. Kaya ile yapılan farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamaları ve herbisit çalışmalarında GSH miktarının azalmasına neden olduğunu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Çoşkun ve Zihnioğlu 2002). Yapılan başka çalışmalarda da, arpa ve buğday türlerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki kurşun, kadmiyum ve herbisit GSH miktarının azalmasına neden olduğu belirtilmiştir (Öztetik 2010; Öztetik 2014).

4.5. Ağır Metallerin Protein Miktarı Üzerine Etkisi

Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamaları buğday ve arpa türlerinin hipokotil ve radikulları üzerinde yapılan deneyler birbirleri ile karşılaştırıldığında protein miktarı (mg/ml) bakımından farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bilgi-91 türünde ağır metallerin kombine etkisi altında diğer türlere göre kontrol grupları ile kıyaslandığında hipokotil protein miktarında önemli bir artış görülmüş ve kurşun+kadmiyumun 3mM konsantrasyonunda kontrol grubuna göre %330'luk bir artış gösterirken, radikulasındaki protein miktarı kurşun+kadmiyumun 1,5mM konsantrasyonunda %320'lik bir artış göstermiştir. Bitki türleri farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarında kontrol gruplarına göre protein miktarında bir artış gösterirken, Alpu-2001 türünde kontrol grubuna göre hem hipokotil hem de radikulasındaki protein miktarında azalış görülmüştür.

Çalışmalarımızın sonuçlarına paralel olarak buğday ve arpa türleri üzerinde yapılan farklı konsantrasyonlardaki herbisit, kurşun ve kadmiyum uygulamalarının hipokotil protein miktarında kontrol gruplarına göre bir artışın olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Öztetik 2010; Öztetik 2014).

4.6. Ağır Metallerin GST Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Ökaryotik GST'ler, halojenli aromatik ve alifatik bileşikler, α,β -doymamış karbonil bileşikler, izotiyosiyanatlar ve protein disülfidleri gibi çok sayıda elektrofilik bileşiğin glutatyon ile konjugasyonunu sağlar (Hayes ve Pulford 1995). Oksidatif ve ksenobiyotik strese karşı savunmada, naftalin ve

izopren metabolizması ile lignin degradasyonunda görevlidirler (Allocati ve ark. 2009). Ökaryotlar kadar fazla olmamakla birlikte bazı prokaryotlarda zararlı kimyasalların degradasyonunda da rol oynadıkları bilinmektedir (Mueller ve ark. 1990; Hofer ve ark. 1994; Wang ve ark. 1996; Kanaly ve Harayama 2000; Xia ve ark. 2005; Cavalca ve ark. 2007).

Oksidatif stres ağır metal stresi gibi birçok faktörle tetiklenebilen bir olaylar silsilesidir. Oksidatif strese karşı antioksidanların oluşturduğu direnç mekanizmaları bitkilerin ağır metal toleranslarını güçlendirmek için önemli bir strateji sağlamaktadır. Dolayısıyla ağır metal stresine karşı oluşturulan antioksidan cevapların altında yatan süreçleri bilmek önem arz etmektedir (Ak 2011).

Buğday ve arpa türleri üzerinde yapılan deneylerde hipokotillerdeki GST aktiviteleri ağır metal konsantrasyonlarına bağlı olarak türler arasında farklılıklar göstermiştir. Ağır metallerin konsantrasyonlarındaki artış GST aktivitelerinde kontrol grubuna göre bir artışa neden olmuştur. Özellikle kurşun ve kadmiyumun 1,5mM ve 3mM konsantrasyonlarında Bilgi-91 ve Kalaycı-97 türlerinin hipokotillerindeki GST aktiviteleri diğer türlere göre önemli oranda artış göstermiştir.

Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamaları buğday ve arpa türleri arasında GST enzim aktiviteleri üzerinde farklılıklara neden olmuştur ve bitki türlerinin GST aktivitelerinde kontrol gruplarına göre artışa neden olmuştur. Bilgi-91 ve Kalaycı-97 türlerinin radikullarındaki GST aktiviteleri uygulanan ağır metallerin konsantrasyonu yükseldikçe enzim aktivitesinde kontrol gruplarına göre bir artış olduğu belirlenmiştir. Özellikle Bilgi-91 türünün radikula GST aktivitesinin kadmiyumun 1,5mM konsantrasyonunda kontrol grubuna göre %550'lik artışın olduğu bulunmuştur. Alpu-2001 ve İzgi-2001 türlerinde ise uygulanan metal konsantrasyonlarında kontrol gruplarına göre önemli bir artışın olmadığı yapılan deneyler sonucunda görülmüştür. Alpu-2001 ve İzgi-2001 türlerinin radikullarındaki GST aktivitelerinin hipokotillerdekine oranla benzer sonuçlar olduğu yapılan deneyler sonucu ortaya konmuştur. Kalaycı-97 ve Bilgi-91 türlerinin hipokotil GST aktivitesi, özellikle kadmiyum ve kurşunun 1,5mM ve

3mM konsantrasyonlarında önemli bir artış gösterirken, radikula GST aktivitesi uygulanan ağır metallerin konsantrasyonlarındaki artışa paralel olarak bir artış göstermiştir.

Bulgularımıza paralel olarak *Triticum aestivum* L. cv. Zyta türü ile yapılan çalışmada, nikel ve kadmiyum ağır metallerinin uygulamaları yapılarak GST enzim aktivitesinde kontrol gruplarına göre bir artış olduğu bildirilmiştir (Gajewska ve ark. 2006). Yapılan bir başka çalışmaya göre ise, *Pisum sativum* L. cv. Azad türüne uygulanan kadmiyum ve bakır uygulamalarının GST enzim aktivitesinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Dixit ve ark. 2001). Bulgularımızla aynı paralellikle buğday ve arpa türlerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki kadmiyum ve kurşun ağır metallerinin kontrol gruplarına göre GST enzim aktivitesinde bir artışın olduğu bildirilmiştir (Öztetik 2014).

Konsantrasyonların çimlenme oranı, su içeriği, radikula ve hipokotil uzunlukları, GSH miktarı, protein miktarı ve GST aktivitesi üzerindeki etkisini istatistiksel olarak değerlendirmek için ANOVA testi kullanılmış, türleri kendi içinde karşılaştırmak için student-t testi ve %5'lik anlam düzeyine göre tek yönlü varyans analizleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca hangi değer farklı olduğunu ortaya çıkarmak için çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testi yapılmıştır.

Tüm bu bilgiler ışığında denilebilir ki ağır metaller bitki büyüme ve gelişmesinde fizyolojik ve biyokimyasal yolları bozarak olumsuz yönde etkilere sahiptir. Toksikolojik olarak ağır metal stresine verilen cevaplar ağır metale, konsantrasyona, uygulama süresine, bitkinin tür ve çeşidine ve buna benzer birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bir tarım ülkesi olan Türkiye'nin çeşitli nedenlerle toprak ve su kaynaklarının artarak kirlendiği düşünülürse, topraklarımızda yetiştirilen ve ekonomik önemi olan türlerin daha dirençli hale getirilmesi veya dirençli türlerin ekilmesi büyük önem arz etmektedir. Bu amaçtan yola çıkılarak yaptığımız bu toksikolojik çalışmada Alpu-2001 ve Bilgi-91 türlerinin fizyolojik ve biyokimyasal açıdan diğer türlere göre ağır metal stresinin etkilerine karşı daha dayanıklı olduğu görülmektedir. Elbette ki diğer buğday ve arpa türlerinin de toksikolojik denemelerinin yapılması ve ağır metal stresine ışık tutacak parametrelerin çalışılması gerekmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Adler, V., Yin, Z., Fuchs, S.Y., Benezra, M., Rosario, L., Tew, K.D., Pincus, M.R., Sardana, M., Henderson, C.J., Wolf, C.R., Davis, R.J., Ronai, Z. (1999), "Regulation of JNK signaling by GSTp," *EMBO Journal*, 18, 1321-1334.
- Ak, A. (2011), "*Buğday Çeşitlerinde Ağır Metal Stresinin Hücre Bölünmesi ve Antioksidan Enzim Seviyeleri Üzerine Ekotoksikolojik Etkileri*," A.Ü Fen Fak., Doktora Tezi.
- Akay, C.,(2004), "Biyomarkörlerin toksikolojide kullanımı," *Gülhane Tıp Derg*, 46:73-83.
- Algan, F.T.K., Bilen, S. (2005), "Toprak Kirlenmesi ve Biyolojik Çevre," Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi, 36, 83-88.
- Allocati, N., Federici, L., Masulli, M., Di Ilio, C. (2009), "Glutathione transferases in bacteria," *FEBS Journal*, 276, 58–75.
- Alscher, R.G., Hess, J.L. (1993), "Antioxidants in higher plants," Boca Raton: CRC Pres, 1-20.
- Apel, K., Hirt, H. (2004), "Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction," *Annu Rev Plant Biol.*, 55, 373-99.
- Arasimowicz, M., Floryszak-Wieczorek, J., Milczarek, G, Jelonek, T. (2009)," Nitric oxide, induced by wounding, mediates redox regulation in pelargonium leaves," *Plant Biol (Stuttg)*, 11, 650-663.
- Armstrong, R.N. (1997), "Structure, catalytic mechanism, and evolution of glutathione transferases," *Chem. Res. Toxicol.*, 10, 2-18.
- Avsian-Kretchmer, O., Eshdat, Y., Gueta-Dahan, Y., Ben-Hayyim, G. (1999), "Regulation of stressinduced phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in citrus," *Planta*, 209, 469-477.

- Bartling, D., R. Radzio, Steiner U., Weiler, E. W. (1993), "A glutathione S-transferase with glutathioneperoxidase activity from *Arabidopsis thaliana*," Eur. J. Biochem, 216, 579–586.
- Baskin, S.I., Salem, H. (1997), "Oxidants, antioxidants, and free radicals," Washington DC: Taylor and Francis, 26-35.
- Baş, L., Demet, Ö. (1992), "Çevresel toksikoloji yönünden bazı ağır metaller," Ekoloji, 5, 42-46.
- Bekiaroglou, P., Karataglis, S. (2002), "The effect of lead and zinc on *Mentha spicata*," J. Agronomy & Crop Science, 188, 201-205.
- Booth, J., Boyland, E., ve Sims, P. (1961), "An enzyme from ra liver catalyzing conjugation with glutathione," Biochem. J., 79, 516-524.
- Cavalca, L., Guerrieri, N., Colombo, M., Pagani, S., Andreoni, V. (2007), "Enzymatic and genetic profiles in environmental strains grown on polycyclic aromatic hydrocarbons," Antonie Van Leeuwenhoek, 91, 315–325.
- Chakravarty, B., Srivastava, S. (1992) "Toxicity of some heavy metals in vivo and in vitro in *Helianthus annuus*," Mutation Research Letters 283,(4): 287-294.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M.H., El Ferjani, E. (1997), "Cadmium ,and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.)," Plnt Science, 127, 139-147.
- Chaudiere, J., Ferrari- Iliou, R. (1999), "Intracellular antioxidants from chemical to biochemical mechanism," Food Chem. Toxicol., 37, 949-962.
- Chen, C., Zhou, Q., Bao, Y., Li, Y., Wang, P. (2010), " Ecotoxicological effects of polycyclic musks and cadmium on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*)," Journal of Environmantal Sciences, 22, (12): 1966-1973.

- Chen, J., Zhu, C., Li, L.P., Sun, Z-Y, Pan, X-B. (2007), "Effects of exogenous salicylic acid on growth and H₂O₂-metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress," *Journal of Environmental Sciences*, 19, 44-49.
- Cho, S.G., Lee, Y.H., Park, H.S., Ryoo, K., Kang, K.W., Park, J. (2001), "Glutathione *S*-transferase mu modulates the stress-activated signals by suppressing apoptosis signal-regulating kinase 1," *J. Biol. Chem.*, 276, 12749–12755.
- Chronopoulou, E.G., Labrou, N.E. (2009), "Glutathione Transferases: Emerging Multidisciplinary Tools in Red and Green Biotechnology," *Recent Patents on Biotechnology*, 3, 211-223.
- Combes, B., Stakelum, G.S. (1961), "A liver enzyme that conjugates sulfobromophthalein sodium with glutathione," *J. Clin. Invest.*, 40, 981-988.
- Cummins, I., Cole D. J., Edwards R. (1997), "Purification of multiple glutathione transferases involved in herbicide detoxification from wheat (*Triticum aestivum* L.) treated with the sanerfer fenchlorazoleethyl," *Pestic. Biochem. Physiol.*, 59, 35-49.
- Çoşkun, G., Zihnioglu, F. (2002), "Effect of Some Biocides on Glutathione-s-transferase in Barley, Wheat, Lentil and Chickpea Plants," *Turk J Biol*, 26, 89-94.
- Dixit, V., Pandey, V., Shyam, R. (2001), "Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L.cv.Azad)," *Journal of Experimental Botany*, 52, 1101-1109.
- Dixon, A., Edwards R. (2002b), "Plant glutathione transferases," *Genome Biology*, 3, 3004.1-3004.10.

- Dixon, B. G., Davis R., Edwards R. (2002a) "Functional divergence in the glutathione transferase superfamily in plants. Identification of two classes with putative functions in redox homeostasis in *A. thaliana*," The Journal of Biol. Chem., 277, 30859–30869
- Doğan, M., olak, U. (2009), "*Triticum aestivum* L. cv. Tosunbey'e uygulanan kurşunun bazı fizyolojik özelliklere etkisi," Ekoloji, 19, 98-104.
- Doğan, M., Saygıdeğer, D. (2009), "Kadmiyumun *Ceratophyllum demersum* L. üzerindeki bazı fizyolojik ve morfolojik etkileri," Ekoloji, 18, 57-64.
- Downs, C.A., Heckathorn, S.A. (1998), "The mitochondrial small heat-shock protein protects NADH: ubiquinone oxidoreductase of the electron transport chain during heat stres in plants," FEBS Lett, 430, 246-250.
- Edwards, R. (1996), "Characterization of glutathione transferases and glutathione peroxidases in pea (*Pisum sativum*)," Physiol Plant. 98: 594-604.
- Edwards, R., Dixon, D., Cole, J. (2000), " Characteristics of a zeta class GSTs from *Arabidopsis thaliana* with a putative role in tyrosine catabolism," Arch. Biochem. Biophys, 384, 407-412.
- Ellman, G.L. (1958), "A colorimetric method for determining low concentrations of mercaptans," Arch. Biochem. Biophys., 74, 443.
- Ellman, G.L. (1959), "Tissue sulfhydryl groups," Arch. Biochem. Biophys., 82, 70.
- Ergun, N., Öncel, I, (2009), "Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) İlk Gelişme Döneminde Kök ve Gövde Büyümesi Üzerine Bazı Ağır Metal ve Ağır Metal-Hormon Uygulamalarının Etkileri," YYÜ TAR BİL DERG, 19, (1): 11-17.
- Erkan, C. (1984), "İş sağlığı ve meslek hastalıkları," Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları No: 441.

- Fargasova, A. (2001), "Phytotoxic effects of Cd, Zn, Pb, Cu and Fe on *Sinapis alba* L seedlings and their accumulation in roots and shoots," *Biologia Plantarum*, 44, (3): 471-473.
- Frear, D. S., Swanson, H. R. (1970), "Biosynthesis of S-(4-ethylamino-6-isopropylamino-2-s-triazine) glutathione: Partial purification and properties of glutathione S-transferase from corn," *Phytochemistry.*, 9, 2123-2132.
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. (2006), "Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling Networks," *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 436–442.
- Gajewska, E., Sklodowska, M., Slaba, M., Mazur, J. (2006), "Effect of nickel on antioxidative enzyme activities, proline and chlorophyll contents in wheat shoots," 50 (4), 653-659.
- Garewal, HS. (1997), "Antioxidants and disease prevention," Florida, CRC Press LLC, 3-19.
- Gechev, T., Willekens, H., Van Montagu, M. (2003), "Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress," *J Plant Physiol*, 160, 509-515.
- Gill, S.S., Tuteja, N. (2010), "Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants," *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
- Güleç, T.E., Sönmezoğlu, Ö.A., Yıldırım, A. (2010), "Makarnalık buğdaylarda kalite ve kaliteyi etkileyen faktörler," *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27, 113-120.

- Gür, N., Topdemir, A., Munzuroğlu, Ö., Çobanoğlu, D. (2004), “Ağır Metal İyonlarının (Cu^{+2} , Pb^{+2} , Hg^{+2} , Cd^{+2}) *Clivia* sp. Bitkisi Polenlerinin Çimlenmesi ve Tüp Büyümesi Üzerine Etkileri,” F.Ü. Fen ve Matematik Bilimleri Dergisi, 16, 177-182.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. (1974), “Glutathione *S*-transferases, The first enzymatic step in mercapturic acid formation,” J. Biol. Chem., 249, 7130-7139.
- Haktanır, K. (1987), “Çevre Kirliliği,” A.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Notu, Teksir No:140.
- Haktanır, K., Arcaç, S. (1998), “Çevre Kirliliği,” Ankara Üni. Ziraat Fak. Toprak Bölümü, Ankara Üni. Yayın No: 1503, *Ders Kitabı*:457.
- Halliwell, B. (1994), “Free radicals and antioxidants:A personal view,” Nutrition Reviews, 52(8), 253-265.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (1989), “Free radicals in biology and medicine,” 2nd ed. Oxford: Clarendon Press, 188-196.
- Haluskova, L., Valentovicova, K., Huttova, J., Mistrik, I., Tamas, L. (2009), “Effect of abiotic stresses on glutathione peroxidase and glutathione *S*-transferase activity in barley root tips,” Plant Physiology and Biochemistry , 47, 1069–1074.
- Hayes, J.D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. (2005), “Glutathione transferases,” Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 45, 51–88.
- Hayes, J.D., Pulford, D.J. (1995), “The glutathione *S*-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance,” Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., 30, 445-600.
- Hoagland, D. R., Arnon D. I. (1950) “The water-culture method for growing plants without soil,” California Agricultural Experiment Station, 347(2), 32.

- Hofer, B., Backhaus, S., Timmis, K.N. (1994), “The biphenyl/polychlorinated biphenyl-degradation locus (bph) of *Pseudomonas* sp. LB400 encodes four additional metabolic enzymes,” *Gene*, 144, 9-16.
- Hofius, D., Sonnewald, U. (2003), “Vitamin E biosynthesis: biochemistry meets cell biology,” *Trends Plant Sci*, 8, 6-8.
- Huang, J.W., Poynton, C. Y., Kochian, L. V., Elless, M. P. (2004), “Phytofiltration of Arsenic from Drinking Water Using Arsenic-Hyperaccumulating,” *Ferns, Environ. Sci. Technol.*, 38, 3412-3417.
- Hussey, A. J., Hayes, J. D. (1992), “Characterization of a human class theta glutathione S-transferase with activity towards 1-menaphthyl sulphate,” *Biochem. J.* 286: 929–935.
- Ivanov, V. B., Bystrova, E. I., Seregin, I. V. (2003), “Comparative Impacts of Heavy Metals on Root Growth as Related to Their Specificity and Selectivity,” Translated from *Fiziologiya Rastanii*, 50, (3): 445–454.
- Jakobsson, P.J., Morgenstern, R., Mancini, J., Ford-Hutchinson, A., Persson, B. (1999), “Common structural features of MAPEG – a widespread superfamily of membrane-associated proteins with highly divergent functions in eicosanoid and glutathione metabolism,” *Protein Sci.*, 8, 689–692.
- Jung, U., Cho, Y.S., Seong, H.M., Kim, S.J., Kim, Y.C., Chung, A.S. (1996), “Characterization of a novel glutathione S-transferase from *Pseudomonas* sp. DJ77,” *J. Biochem. Mol. Biol.*, 29, 111–115.
- Kachout, S. S., Mansoura, A. B., Leclerc, J.C., Mechergui, R., Rejeb, M.N., Ouerghi, Z. (2010), “Effects of heavy metals on antioxidant activities of: *Atriplex hortensis* and *A. rosea*,” *EJEAFCh*, 9 (3):444-457.
- Kampranis, S. C., Damianova, M., Atallah, G., Toby, G., Kondi, P. N., Tsihli, A. M. (2000), “A novel plant glutathione S-transferase/peroxidase suppresses Bax lethality in yeast,” *J. Biol. Chem.*, 275, 29207-29216.

- Kanally, R.A., Harayama, S. (2000), "Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria," J. Bacteriol., 182, 2059–2067.
- Karam , D. (1998), " Glutathione S-transferase: an enzyme for chemical defense in plants," (<http://www.biobased.us/tech6.html>) Cited 24 December 2014.
- Kartal, G. (2008), "*Brassinosteroidlerin arpada (Hordeum vulgare L.) kök büyümesi, antioksidan sistem ve hücre bölünmesi üzerine etkileri*," Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kennedy, C.D., Gonsalves, F.A.N. (1987), "The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and efflux of excised roots," J.Exp. Bot., 38, 800-817.
- Kıran, Y., Şahin, A. (2005), "The effects of the lead on the seed germination, root growth, and root tip cell mitotic divisions of *Lens culinaris* Medik," G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi 18, 17-25.
- Klassen, C.D., Amdur, M.O., Doull, J. (1986), "Toxicology," 3th Ed. Macmillan Publishing Company, Newyork, USA.
- Koç, E., Üstün, A.S. (2008), "Patojenlere karşı bitki savunma ve antioksidanlar," Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 24, (1-2): 82-100.
- Kranner, I., Colville, L. (2011), "Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination," Environmental and Experimental Botany 72, 93–105.
- Lamb, C, Dixon, R.A. (1997), "The oxidative burst in plant disease resistance," Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 48, 251-275.
- Lamhamdi, M., Bakrim, A., Aarab, A., Lafont, R., Sayah, F. (2011), "Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth," Comptes Rendus Biologies, 334, 118–126.

- Larbi, A.M., Abadia, A., Gogorcena, Y., Lucena, J.J., Abadia, J. (2002), "Effects of Cd and Pb in sugar beet plants grown in nutrient solution: induced Fe deficiency and growth inhibition," *Funct. Plant Biol.*, 29,1453-1464.
- Lee, Y., Shacter, E. (1995), "Role of carbohydrates in oxidative modification of fibrinogen and other plasma proteins," *Arch Biochem Biophys.*, 321(1):175-81.
- Liu, D., Jiang, W., Wang, W., Zhao, F., Lu, C. (1994), "Effects of lead on root growth, cell division, and nucleolus of *Allium cepa*," *Environmental Pollution*, 86, (1): 1-4.
- Liu, F., Schnable, P.S. (2002), "Functional specialization of maize mitochondrial aldehyde dehydrogenases," *Plant Physiol*, 130, 1657-1674.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. Randall, R.J. (1951), "Protein measurement with the Folin-Phenol reagents," *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- Loyall, L., Uchida, S., Braun, M. Furuya H. (2000), "Glutathione and a UV light induced GST are involved in signalling to chalcone synthase in cell cultures," *Plant Cell.*, 12, 1939-1950.
- Mannervik, B., Danielson, U. H. (1988), "Glutathione transferases- Structure and catalytic activity," *CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 23: 283–337.
- Mannervik, B., Gutheberg, C., Jensson, H., Warholm, M., Alin, P. (1985), "Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: Correlation between structural data and enzymatic properties," *Proc. Nati. Acad. Sci.*, 82, 7202-7206.
- Marrs, K. A. (1996), "The functions and regulation of glutathione S-transferases in plants," *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 47, 127-158.
- McClung, C.R. (1997), "Regulation of catalases in *Arabidopsis*," *Free Radical Bio. Med.*, 23, 489-496.

- McCord, M., Fridovich, I. (1969), "Superoxide Dismutase an enzymic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein)," *The Journal of Biological Chemistry*, 244, (22): 6049-6055.
- Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H.G., Foyer, C.H. (1996), "Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases," *FEBS Lett*, 378, 203-206.
- Meyer, D. J., Coles, B., Pemble, S. E., Gilmore, K. S, Fraser G. M., Ketterer B. (1991), "Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man," *Biochem. J.* 274: 409–414.
- Moya, J.L., Ros, R., Picazo, I. (1993), "Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants," *Photosynth. Res.*, 36, 75-80.
- Mueller, J.G., Chapman, P.J., Blattmann, B.O. Pritchard, P.H. (1990), "Isolation and characterization of a fluoranthene- utilizing strain of *Pseudomonas paucimobilis*," *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 1079-1086.
- Mueller, L. A., Goodman, R. A., Walbot, V. (2000), "AN9, a petunia GST required for anthocyanin sequestration, is a flavonoid-binding protein," *Plant Physiol.*, 123, 1561-1570.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. (1996), "Harper'in Biyokimyası," *Bariş Kitabevi, İstanbul.*
- Neill, S. J., Radhika Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R. D. Hancock, J.T. (2002), "Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants," *Journal of Experimental Botany*, 53, (372):1237-1247.
- Oakley, A.J. (2005), "Glutathione transferases: new functions," *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 15, 716–723.
- Oberschall, A., Deak, M., Torok, K. (2000), "A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stresses," *Plant J*, 24, 437-446.

- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E. (2002), “İnsan Biyokimyası,” Palme Yayıncılık, Ankara.
- Öncel, I., Keleş, Y., Üstün, A.S. (2000), “Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings,” *Environmental Pollution*, 107, 315-320.
- Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M., Kaptan, H. (1995), “Toprak Bilimi,” Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak. Genel Yayın No: 73 Ders Kitapları Yayın No:16.
- Özcan, M.M., Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G. (2007): “Türkiye’de ticari açıdan önemli Lamiaceae familyasına ait baharat veya çeşni olarak kullanılan bitkilerin fenolik bileşenleri ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi,” TÜBİTAK Projesi, No:TOGTAG-3319, Konya.
- Öztetik, E. (2008), “A Tale of Plant Glutathione *S*-Transferases: Since 1970,” *Bot. Rev.*, 74, 419–437.
- Öztetik, E. (2010), “Effects of tribenuron-methyl treatment on glutathione *S*-transferase (GST) activities in some wheat and barley varieties,” *Pure Appl. Chem.*, 82, (1), 289-297.
- Öztetik, E. (2014), “Impacts of toxic metals on glutathione *S*-transferase activities and glutathione and protein levels in selected barley varieties,” *FEBS Letters*, 281, 572-573.
- Öztürk, L., Eker, S., Özkutlu, F. (2003), “Effect of cadmium on growth and concentrations of cadmium, ascorbic acid and sulphhydryl groups in durum wheat cultivars,” *Turk J Agric For*, 27, 161-168.
- Paganga, G., Miller, N., Rice-Evans, C.A. (1999), “The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. What does a serving constitute?,” *Free Radic Res.*, 30 153-162.
- Paschke, M.W., Valdecantos, A., Redente, E.F. (2005),” Manganese toxicity thresholds for restoration grass species,” *Environ. Pollut.* 135(2):313-322.

- Poehlman, M.I. (1985). "Adaptation and Distribution Barley," American Society of Agronomy Number 26 in the Series, Madison, Wisconsin.
- Pryzmusinski ,R., Gwozdz, E.A. (1994), "Increased accumulation of the 16x103 M, Polipeptide in lupin roots exposed to lead, copper and nitrate ions," Environmental and Experimental Botany, 34, (1), 63-68.
- Robinson, A., Huttley, G.A., Booth, H.S., Board, P.G. (2004), "Modelling and bioinformatics studies of the human kappa-class glutathione transferase predict a novel third glutathione transferase family with similarity to prokaryotic 2-hydroxychromene-2-carboxylate isomerases," Biochem. J., 379, 541–552.
- Roxas, V. P., . Smith, R. K., Allen, E. R., Allen, R. D. (1997), "Overexpression of glutathione S-transferase/ glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stres," Nat. Biotechnol, 15, 988–991.
- Rozman, K.K., Klaassen, CD. (2001), "Absorption, distribution, and excretion of toxicants," The basic science of poisons. New York: Mc Graw-Hill, 107-132.
- Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P.B.A., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I. Ve Raksin I. (1995), "Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants," Biotechnology, 13, 468-474.
- Sedlak, J., Lindsay, R. H. (1968), "Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent," Anal Biochem. 25, 192.
- Shafi, M., Guoping, Z., Bakht, J., Khan, M.A., Islam, E.U., Dawood, M. K. (2010), "Effect of cadmim and salinity stresses on root morphology of wheat," Pak. J. Bot., 42, (4): 2747-2754.

- Sharma, P., Dubey, R.S. (2005), "Lead toxicity in plants," *Braz. J. Plant Physiol.*, 17, (1): 35-52.
- Sharp, E.N., Rupper, P., Miller, T.A. (2002), "The structure and spectra of organic peroxy radicals," *Phys Chem Chem Phys*, 10, 3955-3981.
- Sheehan, D., Meade, G., Vivienne, M.F., Dowd, C.A. (2001), "Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily," *Biochem. J.*, 360, 1-16.
- Sheoran, I.S., Aggarwal, N., Singh, R. (1990), "Effects of cadmium and nickel on in vivo carbon dioxide exchange rate of pigeon pea (*Cajanus cajan* L.)," *Plant and Soil*, 129, 243-249.
- Smith, D., Alvey, S., Crowley, D.E. (2005), "Cooperative catabolic pathways within an atrazine-degrading enrichment culture isolated from soil," *FEMS Microbiol. Ecol.*, 53, 265–273.
- Sözen, E., Yılmaz, M., Çolak, G., Yücel, E. (2010), "Ecotoxicological effects of alkaline metal salts (NaCl, KNO₃), strong acid (H₂SO₄) and some heavy metals (CuCl₂, FeCl₃, MgCl₂ ve ZnCl₂) on the germination of chickpea (*Cicer arietinum*) seeds," *Biological Diversity and Conservation*, 3, (3): 64-71.
- Stresty, T.V.S., Madhava Rao, K.V. (1999), "Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of pigeonpea," *Environ Exp Bot.*, 41, 3-13.
- Tariq, M., Islam, K.R., Muhammed, S. (2007), "Toxic Effects Of Heavy Metals On Early Growth And Tolerance Of Cereal Crops," *Pak. J. Bot.*, 39(2): 451-462.

- Thom, R., Dixon, D. P., Edwards, R., Cole, D. J., Laphorn, A. (2001), "The structure of a zeta class glutathione S-transferase from *A. thaliana*: characterization of a GST with novel active site architecture and a putative role in tyrosine catabolism," *J. Mol. Biol.*, 308, 949-962.
- Titov, A.F., Talanova, V.V., Boeva, N.P. (1996), "Growth responses of barley and wheat seedlings to lead and cadmium," *Biol. Plant.*, 38, 431-436.
- Türkan, İ., Demiral, T. (2009), "Recent developments in understanding salinity tolerance," *Environmental and Experimental Botany*, 67, 2–9.
- Van Breusegem, F., Dat J.F. (2006), "Reactive oxygen species in plant cell death," *Plant Physiol*, 141, 384-390.
- Van Camp, W., Van Montagu, M., Inze, D. (1998), "H₂O₂ and NO: redox signals in disease resistance," *Trends Plant Sci*, 1998, 3: 330-334.
- Van Der Vlieta, A., O'Neill, C.A., Halliwell, B., Cross, C., Kaur, H. (1994), "Aromatic hydroxylation and nitration of phenylalanine and tyrosine hyperoxynitrite," *FEBS Letters*, 339, 89-92.
- Verma, S., Dubey, R.S. (2003), "Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants," *Plant Sci.*, 164, 645-655.
- Vernieri, P., Borghesi, E., Ferrante, A., Magnani, G. (2005) "Application of Biostimulants in Floating System for Improving Rocket Quality," *J. Food Agric. Environ.*, 3, 86-88.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. (2003), "Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance," *Planta*, 218, 1–14.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A. (2004), "The role of plant heat-shock proteins/molecular chaperones in the abiotic stress response," *Trends in Plant Science*, 9, 244-252.

- Wang, Y., Lau, P.C., Button, D.K. (1996), "A marine oligobacterium harboring genes known to be part of aromatic hydrocarbon degradation pathways of soil pseudomonads," *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 2169-2173.
- Wierzbicka, M., Obidzinska, J. (1998), "The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species," *Plant Science* 137, 155–171.
- Wojcik, M., ve Tukendorf, A. (1999), "Cd - tolerance of maize, rye and wheat seedlings," *Acta Physiologiae Plantarum*, 21, (2):99-107.
- Xia, Y., Min, H., Rao, G., Lv, Z.M., Liu, J., Ye, Y.F., Duan, X.J. (2005), "Isolation and characterization of phenanthrene-degrading *Sphingomonas paucimobilis* strain ZX4," *Biodegradation*, 16, 393-402.
- Xiao-li, L., Shu-zhen, Z. (2007), "Intraspecific differences in effects of co-contamination of cadmium and arsenate on early seedling growth and metal uptake by wheat," *Journal of Environmental Sciences* 19, 1221–1227.
- Yağdı, K., Kaçar, O., Azkan, N., (2000), "Topraklardaki Ağır Metal Kirliliği ve Tarımsal Etkileri", *On Dokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 15, 109–115.
- Yang, Y., Wei, X., Lu, J., You, J., Wang, W., Shi, R. (2010), "Lead-induced phytotoxicity mechanism involved in seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.)," *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73, 1982–1987.
- Yıldız, M., Terzi, H., Cenkci, S., Arıkan Terzi, E. S., Uruşak, B. (2010), "Bitkilerde tuzluluğa toleransın fizyolojik ve biyokimyasal markörleri," *Anadolu Üniversitesi Bilim Ve Teknoloji Dergisi –C Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji* 1, (1): 1-33.
- Yılmaz, N. (2007), "Arpa", *TEAE*, 9, 2.
- Yücel, E., Doğan, F., Öztürk, M. (1995), "Porsuk çayında ağır metal kirlilik düzeyleri ve halk sağlığı ilişkisi," *Ekoloji*, 17, 29-32.

Zengin, F., Munzuroğlu, Ö. (2005), “Fasulye fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.Strike) klorofil ve karotenoid miktarı üzerine bazı ağır metallerin (Ni^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Zn^{+2}) etkileri,” F. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 17, 164-172.