

Bazı abiyotik stres faktörlerine dayanımı yüksek veya duyarlı patlıcan genotiplerinde Cu, Pb, Cd ve Zn içeren sulama sularının fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi

Sevinç KIRAN^{1*} Fatma ÖZKAY¹ Şebnem KUŞVURAN²
Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU³

¹ Toprak Gübre ve Su Kaynakları Araştırma Enstitüsü, Ankara

² Çankırı Karatekin Üniversitesi, Kızılırmak Meslek Yüksekokulu, Çankırı

³ Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

Alınış Tarihi: 15 Eylül 2015 Kabul Tarihi: 25 Kasım 2015

Öz

Çalışmada tuza tolerans düzeyleri daha önce belirlenmiş tuz ve kuraklığa tolerans (Burdur Merkez, Burdur Bucak) ve duyarlı (Kemer ve Giresun) patlıcan genotipleri kullanılmıştır. Kontrollü sera koşullarında yürütülen çalışmada, patlıcan tohumları torf ve perlit karışımı ortamında çimlendirilmiş ve ekimden 20 gün sonra fideler saksılara şaşırtılmıştır. Bitkiler 7 gün sonra içerisinde farklı dozlarda ağır metaller bulunan sulama suyu (Kontrol: 0 ppm; I. Karışım: 0.2 ppm Cu+0.01 ppm Cd+5 ppm Pb+2 ppm Zn; II. Karışım: 0.4 ppm Cu+0.02 ppm Cd+10 ppm Pb+4 ppm Zn) ile sulanmaya başlanmıştır. Bitkiler 40 gün boyunca sulandıktan sonra bu sürenin sonunda hasat edilmiş ve analizler için örnek alımı yapılmıştır. Çalışmada bitkiler, yeşil aksam ve kök yaş ağırlığı, yeşil aksam ve kök kuru ağırlığı, gövde ve kök boyu, yaprak alanı, klorofil, malondialdehit (MDA) miktarı, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) enzim aktiviteleri yönünden incelenmiştir. Bitkiler genotiplere göre değişmekle birlikte ağır metal uygulamasından olumsuz yönde etkilenmişlerdir. Ağır metal uygulamaları doz artışına bağlı olarak bitkilerin yeşil aksam ve köklerinin yaş ve kuru ağırlıklarında, kök ve gövde boylarında, yaprak alanı değerlerinde azalmaya neden olmuş, MDA ve antioksidatif enzim aktivitelerinde artış görülmüştür. Çalışma sonucunda, ağır metal uygulamalarının oluşturduğu strese karşı, tolerant Burdur Merkez ve Burdur Bucak genotipleri, hassas olan Giresun ve Kemer genotiplerine oranla daha iyi bir performans göstermiştir. Elde edilen bulgulara göre; bitkilerin tuzluluk, kuraklık ve ağır metal stresi gibi abiyotik streslere dayanım için benzer mekanizmaları kullandıkları düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Solanum melongena*, Genotip, Ağır metal, MDA, Antioksidatif enzim

* Sorumlu yazar (Corresponding author): sevinc.kiran@gthb.gov.tr

The effect of irrigation water including Cu, Pb, Cd, and Zn on the physiological and biochemical parameters in eggplant genotypes tolerant or susceptible to some abiotic stress factors

Abstract

The eggplant genotypes (Burdur Merkez, Burdur Bucak, Kemer ve Giresun) of which salt and drought tolerances were determined before by examining changes in some of the morphological and physiological characteristics were used as materials. In the studies carried out in controlled greenhouse conditions, eggplant plants were subjected to different levels heavy metal irrigation at 20 days after sowing (Control: 0 ppm; I. mixture: 0.2 ppm Cu+0.01 ppm Cd+5 ppm Pb+2 ppm Zn; II. mixture: 0.4 ppm Cu+0.02 ppm Cd+10 ppm Pb+4 ppm Zn). Young plants were harvested after forty days at heavy metal treatment and the fresh and dry shoot weight, fresh and dry root weight, shoot and root length, leaf areas, chlorophyll, malondi-aldehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GR) were determined. The eggplant plants were adversely affected by heavy metal applications. In parallel to increase the dose, heavy metal mixtures led to a reduction in values of fresh and dry weight of shoot and root, stem and root length, leaf area. MDA and antioxidative enzyme activities increased in plants irrigated with water containing a mixture of heavy metal. As a result of this study, tolerant Burdur Merkez and Burdur Bucak genotypes showed a better performance compared with the salt sensitive genotypes Giresun and Kemer. The plants are thought to use similar mechanisms for resistance to abiotic stresses such as drought and heavy metal stress.

Keywords: *Solanum melongena*, Genotype, Heavy metal, MDA, Antioxidative enzymes

1. Giriş

Endüstriyel kirlilik, tarım topraklarında giderek artan ağır metal kirliliği yaratmakta, toprak verimliliğini ve tarımsal üretimi önemli ölçüde tehdit etmektedir. Endüstriyel faaliyetler sonucu üretilen atıklar, motorlu taşıtların egzoz gazları, maden yatakları ve işletmeleri, tarımda gübreleme ve ilaçlama gibi pek çok etken ağır metal kirliliğinin nedenleri arasında sayılmaktadır. Tuzluluk ve kuraklık gibi abiyotik stres faktörlerinden biri olan ağır metaller, tarım yapılan alanlarda ve su kaynaklarında yüksek konsantrasyonlara ulaştıklarında bitkisel üretimi olumsuz yönde etkilemektedir.

Düşük konsantrasyonlardaki bazı ağır metaller (Cu, Zn ve Ni) bitkiler için gerekli mikro besin elementi olarak önem taşırken, yüksek

konsantrasyonlardaki Cd, Pb, Hg, Cu, Zn ve Ni ise bitkilerde metabolik ve fizyolojik süreci bozarak büyümeyi, gelişimi ve verimi olumsuz yönde etkilemektedir (Pahlsson, 1989).

Bitkiler ağır metal stresine karşı tolerans mekanizması geliştirebilmekte, bu mekanizmalar türden türe ve bitkinin genetik özelliğine göre farklılık gösterebilmektedir (Gasic ve Korban, 2006). Bazı araştırmacılar bazı bitki türlerinin diğerlerine göre ağır metalleri daha fazla detoksifike edebildiklerini ve metallerin toksik konsantrasyonlarına daha fazla tolerans gösterebildiklerini, bunu için bir dizi potansiyel hücre mekanizmasına sahip olduklarını bildirmişlerdir (Hall, 2001; Raskin ve Ensley, 2000).

Kurak ve yarı kurak bölgelerde yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan yazlık sebzelerden biri olan patlıcan, TÜİK verilerine göre Türkiye’de yıllık ortalama 827 380 ton üretim miktarına sahiptir (TÜİK, 2014). Ağır metal kirliliğinin mevcut olduğu alanlarda veya ağır metaller ile kirletilmiş sularla yapılan patlıcan yetiştiriciliğinde ağır metal stresinin olumsuz etkisine toleransı yüksek çeşitlere yer verilmesi kesin ve etkili önlem olarak görülmektedir.

Bu çalışmada ağır metal içerikli (Cu, Cd, Pb ve Zn) sulama sularının farklı patlıcan genotiplerinde, genç bitki döneminde meydana getirdiği fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri belirlemek amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışma daha önceki çalışmalarda tuza tolerans düzeyleri belirlenmiş olan Burdur Bucak ve Burdur Merkez (BB ve BM: toleransı yüksek genotipler), Giresun ve Kemer (GRS ve KMR: duyarlı genotipler) patlıcan (*Solanum melongena* L.) genotipleri ile yürütülmüştür (Yaşar, 2003; Kıran vd., 2014). Sera içi sıcaklığının (23-25°C) ve nispi nem (% 50-55) kontrolünün otomatik olarak sağlandığı serada yürütülen çalışmada genotiplere ait tohumlar, içinde 2:1 oranında torf ve perlit karışımı bulunan viyollere ekilmiştir. Ekimden 20 gün sonra fideler, içinde toprak karışımı (1:1:1= kum: çiftlik gübresi: orta bünyeli toprak; tarla kapasitesi: % 26.94, solma noktası :% 14.98) bulunan yaklaşık 10 L hacminde plastik saksılara, her saksıda bir bitki olacak şekilde şaşırtılmışlardır.

Bitkiler 4-5 gerçek yapraklı aşamaya ulaştıklarında uygulamalara geçilmiş, ağır metal içerikli suyla sulanmaya başlanmıştır. Uygulamalar; 1) Kontrol, 2) I. Karışım (0.2 ppm Cu+0.01 ppm Cd+5 ppm Pb+2 ppm Zn (sulama suyunda maksimum izin verilen iz element konsantrasyonlarının 2 kat fazlası (FAO, 1985), 3) II. Karışım (0.4 ppm Cu+0.02 ppm Cd+10 ppm Pb+4 ppm Zn) olacak şekilde planlanmıştır. Topraktaki nem miktarı, ağırlık esasına göre belirlenmiştir. Saksılar günlük tartılarak mevcut su miktarı belirlenmiş, eksik olan su tamamlanmıştır. Kontrol uygulamaları saf su ile

ağır metal uygulamaları ise ağır metal içerikli sularla serbest drenaj koşullarında (tarla kapasitesi + % 20 yıkama suyu) yapılmıştır. Klorofil, MDA ve antioksidatif enzim analizleri hasat sırasında alınan ve analiz yapıncaya dek -85°C derin dondurucuda muhafaza edilen yaprak örneklerinde yapılmıştır.

2.1. Ölçüm ve analizler

Ağır metal uygulaması yapılan bitkilerin 40 gün boyunca sera koşullarında gelişimi sağlandıktan sonra hasat edilerek, ölçüm ve analizler için örnek alınmıştır. Bitkilerde yeşil aksam ve kök kısımları birbirinden ayrılarak yaş ve kuru ağırlıkları, kök ve gövde boyu, yaprak alanları ölçülmüştür. Ayrıca klorofil, lipid peroksidasyonunu belirlemek üzere MDA ve antioksidatif enzim (süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon redüktaz ve askorbat peroksidaz) miktarlarını tayin etmek için analizler yapılmıştır.

2.1.1. Bitkide yeşil aksam-kök yaş ve kuru ağırlık, kök ve gövde boyları, yaprak alanı ölçümleri

Hasat sırasında her genotipten tesadüfi olarak seçilen 4'er bitki hassas terazide tartılarak g olarak yaş ağırlıkları belirlenmiş, daha sonra 65°C'de etüvde 48 saat kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları da g olarak belirlenmiştir (Daşgan ve Koç, 2009; Kuşvuran, 2010). Her tekerrürden alınan bitkilerin kök ve gövde boyları milimetrik bir cetvel yardımıyla, yaprak alanları ise Licor LI-3000A model yaprak alan ölçer ile ölçülmüştür.

2.1.2. Klorofil ve lipid peroksidasyonu analizleri

Klorofil analizleri için sürgün ucundan itibaren geriye doğru ilk iki yaprak alınmıştır. Örneklerden hazırlanan ve içinde klorofil bulunan çözeltinin absorpsiyon değerleri spektrofotometrik olarak okunmuş, klorofil miktarı $\mu\text{g mg}^{-1}$ yaş ağırlık (Y.A.) olarak hesaplanmıştır (Luna vd., 2000). Lipid peroksidasyonunun ölçümü (MDA) Lutts vd. (1996)'na göre yapılmıştır. MDA konsantrasyonu, 155 mM cm^{-1} olan "extinction katsayısı" kullanılarak $\mu\text{mol g}^{-1}$ Y.A. olarak belirlenmiştir.

2.1.3. Antioksidatif enzim analizleri

Enzim analizleri için 1 g taze yaprak ve doku örnekleri sıvı azot içerisinde porselen havanlarda ezildikten sonra, içinde 0.1 mM Na-EDTA bulunan 50 mM'lık 10 ml'lik fosfor tampon çözeltisi (pH:7.6) ile homojenize edilmiş, 15 dak 15000 g'de santrifüj edildikten sonra ölçüm yapıncaya kadar

+4°C sıcaklıkta tutulmuştur. Ölçümler Analytik Jena 40 model spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir. Enzim ölçümünde son hacimler, tampon çözeltisiyle tamamlanmıştır. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi NBT'nin (nitro blue tetrazolium kloridin) ışık altında O₂ tarafından indirgenmesi yöntemine göre; katalaz aktivitesi (CAT) H₂O₂'nin 240 nm'de (E=39.4 mM cm⁻¹) parçalanma oranı esas alınarak ölçülmüştür (Çakmak ve Marschner, 1992; Çakmak, 1994). Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi Çakmak ve Marschner (1992) ve Çakmak vd. (1994)'na göre 340 nm'de (E=6.2 mM cm⁻¹) NADPH'nin oksidasyonu esas alınarak; askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi Çakmak ve Marschner (1992) ve Çakmak (1994)'a göre 290 nm'de (E=2.8 mM cm⁻¹) askorbatın oksidasyonu ölçülerek belirlenmiştir.

Tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre 3 tekerrürlü kurulan denemelerden elde edilen sayısal değerler varyans analizine tabi tutulup, uygulamalar arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemlilik derecesi ortaya konulmuştur. Bunun için % 0.5 düzeyinde Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Bu amaçla MSTAT-C paket programından yararlanılmıştır (Freed vd., 1989).

3. Bulgular ve Tartışma

Patlıcan genotiplerinde ağır metal stresinin yeşil aksam yaş ağırlığı, gövde boyu, yaprak alanı, klorofil ve MDA miktarı ve SOD, CAT, GR ve APX enzim aktiviteleri üzerine etkileri istatistiksel olarak Genotip x Ağır metal interaksiyonu bakımından önemli (p<0.05), yeşil aksam kuru ağırlığı, kök yaş ve kuru ağırlığı, kök boyu üzerine etkisi ise önemsiz bulunmuştur (p>0.05).

Ağır metal uygulamaları patlıcan bitkilerinin yeşil aksam yaş ağırlık değerlerinde kontrol bitkilerine oranla Burdur Bucak çeşidi hariç önemli seviyede azalmalara neden olmuştur (Çizelge 1). Giresun ve Kemer patlıcanları ağır metalden en fazla etkilenen genotipler olarak dikkati çekerken, Burdur Bucak patlıcanında stresin etkisi daha az düzeyde gözlenmiştir. En yüksek yeşil aksam yaş ağırlıkları Burdur Bucak genotipinde Kontrol, I. ve II. Karışım uygulamalarından elde edilmiştir (0.28, 0.27, 0.26 g bitki⁻¹). Ağır metal içeriği yüksek olan II. Karışım, I. Karışım uygulaması ve kontrole göre gelişmeyi en fazla engelleyen uygulama olarak dikkati çekmiştir. Nitekim birçok çalışmada; yüksek dozda Cu, Cd ve Zn'nin fotosentez, solunum, klorofil biyosentezi, stomaların kapanması gibi bazı fizyolojik olayların bozulmasına neden olduğu, buna bağlı olarak bitki yaş ağırlıklarında azalma meydana geldiği ifade edilmiştir (Sossé vd. 2004; Vaillant vd., 2005; Moyo ve Chimbira, 2009).

Çizelge 1. Ağır metal stresi altındaki farklı patlıcan genotiplerinin yeşil aksam-kök yaş ağırlığı, yeşil aksam ve kök kuru ağırlığı, yaprak alanı, gövde ve kök boyunda meydana gelen değişimler

Genotip	Yeşil aksam yaş ağırlığı (g bitki ⁻¹)					Yeşil aksam kuru ağırlığı (g bitki ⁻¹)				
	K	KI	D %	KII	D %	K	KI	D %	KII	D %
B. Merkez	0.22 ef	0.21 eg	-4.55	0.20 fg	-9.09	0.04	0.03	-25.00	0.02	-50.00
B. Bucak	0.28 a	0.27 a	-3.57	0.26 ab	-7.14	0.04	0.03	-25.00	0.02	-50.00
Kemer	0.25 bc	0.23 de	-8.00	0.22 ef	-12.00	0.04	0.03	-25.00	0.02	-50.00
Giresun	0.24 cd	0.20 g	-16.67	0.21 fg	-12.50	0.03	0.02	-33.33	0.02	-33.33
LSD%5	0.02					-				
Genotip	Kök yaş ağırlığı (g bitki ⁻¹)					Kök kuru ağırlığı (g bitki ⁻¹)				
	K	KI	D %	KII	D %	K	KI	D %	KII	D %
B. Merkez	0.04	0.03	-25.00	0.03	-25.00	0.005	0.005	0.00	0.004	-20.00
B. Bucak	0.04	0.03	-25.00	0.03	-25.00	0.005	0.004	-20.00	0.004	-20.00
Kemer	0.04	0.03	-25.00	0.02	-50.00	0.006	0.005	-16.67	0.005	-16.67
Giresun	0.07	0.05	-28.57	0.05	-28.57	0.004	0.003	-25.00	0.002	-50.00
LSD%5	-					-				
Genotip	Gövde boyu (cm)					Kök boyu (cm)				
	K	KI	D %	KII	D %	K	KI	D %	KII	D %
B. Merkez	100.0 a	95.3 b	-4.7	90.0 de	-10.0	20.0	19.3	-3.4	18.7	-6.7
B. Bucak	93.0 c	89.3 e	-3.9	84.0 f	-9.7	21.7	20.0	-7.7	19.3	-10.8
Kemer	98.0 a	90.0 de	-8.2	84.0 f	-14.3	18.0	15.5	-13.9	14.0	-22.2
Giresun	92.0 cd	85.7 f	-6.9	75.3 g	-18.1	18.3	15.3	-16.4	15.3	-16.4
LSD%5	2.02					-				
Genotip	Yaprak alanı (cm ²)									
	K	KI	D %	KII	D %					
B. Merkez	306.33 c	303.67 c	-0.87	256.45 e	-16.28					
B. Bucak	341.36 b	275.38 d	-19.33	250.00 ef	-26.76					
Kemer	307.28 c	238.97 fg	-22.23	212.33 h	-30.90					
Giresun	405.00 a	230.64 g	-43.05	200.00 h	-50.62					
LSD%5	16.40									

K: Kontrol, KI: I. Karışım, KII: II. Karışım, D: Değişim, Harfler GxA interaksiyonu arasındaki farklılıkların önemli olduğunu ($p < 0.05$) göstermektedir.

Ağır metal uygulamalarının patlıcan genotiplerinin yeşil aksam kuru ağırlık ile kök yaş ve kuru ağırlık değeri üzerine etkisi önemli olmamakla birlikte, tüm genotiplerin kontrol bitkilerine oranla daha düşük değerlere sahip oldukları saptanmıştır (Çizelge 1). Bununla birlikte en yüksek yeşil aksam kuru ağırlık değerleri; Burdur Merkez, Burdur Bucak ve Kemer genotiplerinin kontrol konularında belirlenmiştir (0.04 g bitki⁻¹). Kök yaş ağırlık değerleri bakımından yüksek değerler Giresun genotipinde kontrol uygulaması ile elde edilmiştir (0.07 g bitki⁻¹). Kök kuru ağırlık değerleri

bakımından da benzer durum görülmüş ve Kemer çeşidinin kontrol konusuna ait bitkilerinde en yüksek değerler ölçülmüştür (0.006 g bitki⁻¹). İncelenen parametreler bakımından düşük konsantrasyonda ağır metal içeren I. Karışım uygulamasının Kontrol bitkilerinin değerlerine yakın değerler verdiği, II. Karışımın tüm genotiplerde toksik etki gösterdiği anlaşılmıştır. Fargašová (2001), Pb stresine maruz kalmış bitkilerin kök yaş ağırlıklarında azalma meydana geldiğini, Jiang ve Liu (2000) sarımsakta kurşunun kökte biriktiğini ve kök kuru ağırlık değerlerinde azalmalara yol açtığını, Bouazizi vd. (2010) fasulyede yüksek dozda bakırın yeşil aksam kuru ağırlık değerlerinde düşüslere yol açtığını bildirmişlerdir.

Ağır metal koşulları altında patlıcan bitkilerinin gövde ve kök boylarında meydana gelen değişimler Çizelge 1’de gösterilmiştir. Buna göre; en yüksek gövde boyları kontrol bitkilerinde görülürken, istatistiksel olarak aynı harfi alacak şekilde en yüksek değerler; Burdur Merkez ve Kemer genotiplerinde kontrol uygulamalarında saptanmıştır (sırasıyla 100.0 cm ve 98.0 cm). Yüksek dozda ağır metal uygulaması tuza duyarlı Kemer ve Giresun genotiplerinde gövde ve kök boylarında azalmaya neden olmuştur (Çizelge 1). Salt vd. (1995), yüksek dozdaki kadmiyum elementinin sürgün gelişimini olumsuz yönde etkilediğini, Manivasagaperumal vd. (2011), bakırın hücre bölünmesini olumsuz yönde etkilediğini ve gövde boyunda azalmalara neden olduğunu bildirmişlerdir. Kök boyu bakımında da benzer durum görülmüş, ancak bu durum istatistiksel bakımdan önemli düzeyde bulunmamıştır. Ağır metal konsantrasyonlarındaki artışa paralel olarak kök boyu değerlerinde azalma görülmüştür. En düşük kök boyu değerleri II. Karışım uygulanan bitkilerde belirlenmiştir. Kurşunun bitki köklerinde sürgünlere göre daha fazla biriktiği ve hücre bölünmesini engellediği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Verma ve Dubey, 2003).

Yaprak alanındaki değişimlerin de incelendiği çalışmada; ağır metal uygulamaları yaprak alanı değerlerinde önemli seviyede düşüslere yol açmış, olumsuz etki özellikle Giresun genotipinde belirgin şekilde ortaya çıkmıştır (Çizelge 1). Burdur Merkez genotipinde I. Karışım uygulaması istatistiksel bakımdan kontrol grubuyla aynı seviyede değerler vermiştir. En yüksek değer; Giresun çeşidinde kontrol uygulamasıyla elde edilmiştir (405.00 cm²). Dunand vd. (2002) hıyarda Cu toksisitesinin yaprak alanı değerlerinde azalmaya neden olduğunu bildirirken, Sharma ve Dubey (2005) Pb’nin hücre turgoru ve hücre duvarı stabilitesini, stoma hareketlerini ve yaprak alanını azalttığını ifade etmişlerdir.

Farklı ağır metal uygulamalarının patlıcan genotiplerinin klorofil içeriği üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Klorofil miktarı, tüm genotiplerde stres koşullarında istatistiksel bakımdan kontrol konusuna yakın değerler verirken, en düşük klorofil içeriği Burdur Merkez genotipinin kontrol konusunda tespit

edilmiştir (0.29 ppm) (Çizelge 2). Ağır metal dozundaki artışlar Burdur Merkez, Kemer ve Giresun genotiplerinde kontrole göre bir miktar azalmalara yol açmıştır. Ağır metal stresine yüksek konsantrasyonlardaki Zn ve Cd'nin klorofil sentezini engellediği, bunun nedeni olarak; yeterli Fe bulunması halinde bitkinin bundan yararlanmasını engellemesi ve klorofilin yapısında bulunan Mg'nin yerine geçmesi olarak gösterildiği bildirilmektedir (Van Assche ve Clijsters, 1990; Sun vd., 2010). Bununla birlikte Burdur Bucak genotipinin klorofil içeriğinde kontrol bitkilerine göre artışlara neden olmuştur. Mangal ve Lal (1988) stres koşullarında bitkilerin büyüme hızının düşük olup bodur bir yapı sergilediklerini, yaprakların ise çoğunlukla küçük ve koyu yeşil renkte olabileceğini ifade etmektedir.

Malondialdehit miktarının ölçülmesi lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılan bir stres indikatörüdür (Taulavuori vd., 2001). MDA miktarı, SOD, CAT, GR ve APX enzim aktivitelerinin, ağır metal stresinden etkilenme durumları ile ilgili elde edilen sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir. Ağır metaller, doymamış yağ asitlerinden reaktif oksijen türleri yoluyla hidrojen çıkartarak şiddetli bir biçimde hücre duvarındaki lipidlerde peroksidasyona neden olmaktadır (Zhou vd., 2009).

Malondialdehit miktarları bakımından ağır metal uygulamaları önemli düzeyde artışlar meydana getirirken, kontrol bitkileri düşük MDA değerlerine sahip olmuşlardır. Peroksidasyon ürünü olan MDA miktarı tüm genotiplerin II. Karışım uygulanan bitkilerinde yüksek seviyelerde sentezlenmiştir. En yüksek MDA miktarı Giresun genotipinde II. Karışım uygulanan bitkilerde tespit edilmiştir (9.39 $\mu\text{mol g}^{-1}$ Y.A.). Chaoui vd. (1997) Zn stresi, Dey vd. (2007), Cd ve Cu stresi koşullarında MDA miktarlarının artabileceğini bildirmişlerdir.

Metal fitotoksitesi oksidatif strese neden olmaktadır (Gallego vd., 1996). SOD, CAT, GR ve APX antioksidatif enzimleri oksidatif stres koşullarında etkin enzimler arasında yer almaktadır. Ağır metal stresi sonucunda oluşan ve yüksek düzeylere ulaşan serbest oksijen radikallerini zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidatif enzim aktiviteleri, bitkilerde oksidatif strese karşı etkili olan en önemli dayanım mekanizmaları olarak işlev görmektedir (Liu vd., 2007). Çalışmada SOD enzim aktivitesi bakımından en yüksek değer, Burdur Merkez genotipinin II. Karışım uygulanan bitkilerinde elde edilmiştir (347.1 $\text{U dak}^{-1} \text{mg}^{-1}$ Y.A.). SOD enzim aktivitesi tuza tolerant Burdur Merkez ve Burdur Bucak genotiplerinde diğer genotiplere göre daha fazla uyarılarak, ağır metal toksitesinin olumsuz etkisinden bitkileri daha fazla koruyabilmiştir. Prasad vd. (1999) ve Ahmed vd. (2010) Cu, Cd, Pb ve Zn toksitesi koşullarında SOD enzim aktivitesinin etkinlik gösterdiğini ifade ederken, Morela vd. (2007) marulda Pb stresinin SOD enzim aktivitesinde artışlara yol açtığını bildirmişlerdir.

Çizelge 2. Ağır metal stresi altındaki farklı patlıcan genotiplerinin klorofil ve MDA miktarı, SOD , CAT, GR ve APX enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler

Genotip	Klorofil (ppm)					MDA ($\mu\text{mol g}^{-1} \text{Y.A.}$)				
	K	KI	D %	KII	D %	K	KI	D %	KII	D %
B.Merkez	0.31 a	0.31 a	0.0	0.31 a	0.0	2.32	4.06	75.0	5.61	141.8
B. Bucak	0.29 b	0.30 ab	3.5	0.29 b	0.0	1.74	2.22	27.6	4.26	144.8
Kemer	0.31 a	0.30 ab	-3.2	0.31 a	0.0	1.06	5.42	411.3	7.55	612.3
Giresun	0.31 a	0.31 a	0.0	0.31 a	0.0	1.15	3.13	172.2	9.39	716.5
LSD%5	0.02					-				
Genotip	SOD ($\text{U dak}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{Y.A.}$)					CAT ($\mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{Y.A.}$)				
	K	KI	D %	KII	D %	K	KI	D %	KII	D %
B.Merkez	92.1 j	159.0 g	72.6	296.0 b	221.4	162.2 f	203.0 d	25.2	253.3 a	56.2
B. Bucak	158.2 g	256.3 c	61.9	347.1 a	119.4	116.2 j	126.3 h	8.7	177.2 e	52.6
Kemer	104.0 i	244.1 c	134.8	165.2 f	58.8	125.1 i	214.1 b	71.2	157.3 g	25.8
Giresun	103.2 i	192.0 e	86.0	150.2 h	45.6	127.2 h	211.2 c	66.0	96.2 k	-24.4
LSD%5	1.81					1.82				
Genotip	GR ($\mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{Y.A.}$)					APX ($\mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{Y.A.}$)				
	K	KI	D %	KII	D %	K	KI	D %	KII	D %
B.Merkez	127.0 d	170.3 ac	34.1	154.4 bc	21.6	81.1 i	1107.2 f	1265.9	1269.0 e	1465.5
B. Bucak	70.0 g	150.8 cd	115.4	182.1 at	160.2	6822.0 j	1015.1 g	48.8	1776.2 b	160.4
Kemer	112.1 e	83.3 fg	-25.8	133.1 d e	18.7	626.0 k	1753.2 c	180.1	1292.0 d	106.4
Giresun	132.4 d	190.3 a	43.7	117.2 e	-11.49	964.2 h	1269.0 e	31.6	1827.1 a	89.5
LSD%5	30.09					1.73				

K: Kontrol, KI: I. Karışım, KII: II. Karışım, D: Değişim

Harfler GxA interaksyonu arasındaki farklılıkların önemli olduğunu ($p < 0.05$) göstermektedir.

Ağır metal uygulamaları karşısında genotiplerin CAT enzim aktivitesi bakımından ortaya koydukları değişimler farklılık göstermekle birlikte, genel olarak artış meydana gelmiştir. Burdur Merkez genotipinin II. Karışım uygulamasında kombinasyonu $253.3 \mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{Y.A.}$ değeriyle en yüksek aktivasyona sahip olmuştur. Stres koşulunda en fazla CAT aktivasyonunu sağlayan genotip olarak Burdur Merkez dikkati çekmiştir. El-Beltagi vd. (2010) turpta Cd toksisitesi, Sbartai vd. (2011) ve Saeed vd. (2013) domateste Zn ve Cd toksisiteleri üzerine yaptıkları çalışmalarında ağır metal stresinin CAT enzim aktivitesinde artışa neden olabileceğini bildirmiştir.

Ağır metal uygulamaları, ağır metal dozlarına ve genotiplere göre değişmekle birlikte genel olarak GR enzim aktivitesinde artışlara yol açmıştır. GR enzim aktivitesi, en yüksek değerleri Giresun genotipinde I. Karışım ve Burdur Merkez genotipinde II. Karışım uygulamalarında vermiştir (sırasıyla

190.25 $\mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg}^{-1}$ Y.A. ve 182.1 $\mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg}^{-1}$ Y.A.). Çalışmada elde edilen bulgular Dey vd. (2007) ve Gratão vd. (2008)'ninki ile uyum içindedir.

APX enzim aktivitesi diğer enzim aktivitelerinde olduğu gibi ağır metal uygulamaları karşısında kontrol bitkilerine göre önemli seviyede artışlar göstermiştir. Tuz stresine dayanıklı olarak önceki çalışmalar ile belirlenmiş olan Burdur Bucak patlıcanının APX enzim aktivitesi ağır metal stresi karşısında diğer genotiplere göre daha yüksek olmuştur. Genel olarak en yüksek dozda ağır metalleri içeren II. Karışım uygulamalarında APX enzim aktivitesi daha yüksek seviyelerde gerçekleşmiş ve 1827.1 $\mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg}^{-1}$ Y.A. değeri ile Giresun genotipinin II. Karışım uygulamasında ölçülmüştür. Weck ve Clijsters (1997) çinko uygulamalarının fasulyede, Hegedus vd. (2001) Cd uygulamalarının tütünde, Thounaojam vd. (2012) Cu uygulamalarının çeltikte, APX enzim aktivitesinde artışa yol açabileceğini bildirmişlerdir.

4. Sonuç

Tuz stresine tolerans düzeyleri farklı patlıcan genotiplerinin bitkisel materyal ve Cu, Cd, Pb ve Zn ağır metal karışımlarını içeren sulama sularının da uygulamalar olarak kullanıldığı çalışmada; özellikle II. Karışımında bulunan yüksek konsantrasyonlardaki ağır metallerin tüm genotiplerde bitki büyüme ve gelişmesinde engelleyici bir faktör oluşturduğu anlaşılmıştır. Genel olarak yeşil aksam ve köklerin yaş ve kuru ağırlıklarında, kök ve gövde boyunda, yaprak alanı ve klorofil değerlerinde ağır metal uygulama dozuna bağlı olarak düşüş meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca ağır metaller MDA ve antioksidatif enzim (SOD, CAT, GR ve APX) aktivitelerinde artışa yol açmıştır. Tuz ve kuraklık stresine tolerant Burdur Merkez ve Burdur Bucak genotipleri aynı faktörlere duyarlı Kemer ve Giresun genotiplerine göre antioksidatif enzim aktivitelerini daha ileri düzeyde kullanarak ağır metal stresi karşısında daha yüksek dayanım performansı sergilemişlerdir. Diğer abiyotik stres faktörlerinde olduğu gibi ağır metal stresinde de antioksidatif enzimlerin bitkiyi korumak için önemli bir savunma sistemi olabileceği gözlemlenmiştir. Ağır metal içeren sulama sularının henüz genç dönemdeki tuz ve kuraklığa hassas bitkilerde hasar oluşturan etkilere sahip olduğu görülmüştür. İnsan ve hayvan beslenmesinde kullanılan bitkilerde ağır metal birikiminin zararlı etkileri konusunda dikkatli olunması ve bu konuda çalışmaların ileri gelişme düzeylerinde de yapılması gerekli görülmektedir.

Kaynaklar

- Ahmed, A., Hasnain, A., Akhtar, S., Hussain, A., Ullah, A., Yasin, G., Wahid, A., & Mahmood, S. (2010). Antioxidant enzymes as bio-markers for copper tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *African Journal of Biotechnology*, 9(33):5441-5444.
- Bouazizi, H., Jouili, H. A., & El Ferjani, E. (2010). Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: Antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(6):1304-1308.
- Çakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and highlight intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, 98(4):1222-1226.
- Çakmak, I. (1994). Activity of ascorbate-dependent H₂O₂ scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium deficient leaves, but not in phosphorus deficient leaves. *Journal of Experimental Botany*, 45(9):1259-1266.
- 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.). *Plant Science*, 127(2):139-147.
- Daşgan, H.Y., & Koç, S. (2009). Evaluation of salt tolerance in common bean genotypes by ion regulation and searching for screening parameters. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 77:363-372.
- Dey, S.K., Dey, J., Patra, S., & Pothal, D. (2007). Changes in the antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in wheat seedlings exposed to cadmium and lead stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(1):53-60.
- Dunand, V.F., Epron, D., Sossé, A.B., & Badot, P.M. (2002). Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Science*, 163(1):53-58.
- El-Beltagi, H.S., Mohamed, A.A., & Rashed, M.M. (2010). Response of antioxidative enzymes to cadmium stress in leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.). *Notulae Scientia Biologicae*, 2(4):76-82.
- FAO (1985). Water Quality for Agriculture. FAO Irrigation and Drainage Paper. 29, Rev.1. Rome. <http://www.fao.org>. Erişim tarihi: 10 Mart 2014.
- Fargašová, 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.
- Freed, R., Einensmith, S.P., Guets, S., Reicosky, D., Smail, V.W., & Wolberg, P. (1989). User's Guide to MSTAT-C, An Analysis of Agronomic Research Experiment. Michigan State University, USA.
- Gallego, S.M., Benavides, M.P., & Tomaro, M.L., (1996). Effect of heavy metal ion excess on sunflower leaves: Evidence for involvement of oxidative stress. *Plant Science*, 121 (2):151-159.
- Gasic, K., & Korban, S.S. (2006). Heavy Metal Stress. In: Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants. Eds: Madhava Rao, K.V., Raghavendra A.S. & Janardhan Reddy, K. pp: 219-254. Springer, Netherlands.

- Gratão, P.L., Monteiro, C.C., Antunes, A.M., Peres, L.E.P., & Azevedo, R.A. (2008). Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. *Annals of Applied Biology*, 153(3):321-333.
- Hall, J.L. (2001). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 53(366):1-11.
- Hegedus, A., Erdei, S., & Horvath, G. (2001). Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Science*, 160(6):1085-1093.
- Jiang, W., & Liu, D. (2000). Effects of Pb⁺² on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 65(6):786-793.
- Kıran, S., Özkay, F., Ellialtıoğlu, Ő., & Kuşvuran, Ő. (2014). Tuz stresine tolerans seviyeleri belirlenmiş bazı genotiplerin kuraklık stresine tepkilerinin belirlenmesi. TAGEM Sonuç Raporu. Proje No: A-02.P-04, Ankara.
- Kuşvuran, Ő. (2010). Kavunlarda kuraklık ve tuzluluğa toleransın fizyolojik mekanizmaları arasındaki bağlantılar. Doktora Tezi, ukurova Üniversitesi, Adana.
- Liu, Y., Wang, X., Zeng, G., Qu, D., Gu, J., Zhou, M., & Chai, L. (2007). Cadmium-induced oxidative stress and response of the ascorbate-glutathione cycle in *Bechmeria nivea* (L.) Gaud. *Chemosphere*, 69(1):99-107.
- Luna, C., Seffino, L.G., Arias, C., & Taleisnik, E. (2000). Oxidative stress indicators as selection tools for salt tolerance in *Chloris gayana*. *Plant Breeding*, 119(4): 341-345.
- Lutts, S., Kinet, J.M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annual Botany*, 78(3):389-398.
- Mangal, J.L., & Lal, S. (1988). Salt tolerance behavior of Khorif onion variety N.53. *Haryana Journal Horticultural Science*, 17(1-2):78-82.
- Manivasagaperumal, R., Vijayarangan, P., Balamurugan, S., & Thiyagarajan, G. (2011). Effect of copper on growth, dry matter yield and nutrient content of *Vigna radiata* (L.) Wilczek. *Journal of Phytology*, 3(3):53-62.
- Morela, V.R.F., Capraru, G., Bara, I., & Artenie, V. (2007). Lead acetate effect on superoxide dismutase activity in *Lactuca sativa* L., Mona and Syrena cultivars. *Genetics and Molecular Biology*, 8 (2):115-118.
- Moyo, D.Z., & Chimbira, C. (2009). The effect of single and mixed treatments of lead and cadmium on soil bioavailability, uptake and yield of *Lactuca sativa* irrigated with sewage effluent under greenhouse conditions. *American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Science*, 6(5):526-531.
- Prasad, K.V.S.K., Paradha, S.P., & Sharmila, P. (1999). Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. *Journal Environmental and Experimental Botany*, 42(1):1-10.
- Pahlsson, A.M.B. (1989). Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants: A Literature Review. *Water Air Soil Pollution*, 47(3):287-319.
- Raskin, I., & Ensley, B.D. (2000). Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up The Enviroment. John Wiley and Sons, 304 pp., NewYork.

- Saeed, A., Sohail, M., Rashi, N., & Iqbal, N. (2013). Effects of heavy metals toxicity on the biochemical response in tomato plants grown in contaminated silt-soil. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 48(4): 229-236.
- Salt, D., Price, R., Pickering, I., & Raskin, I. (1995). Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology*, 109:1427-1433
- Sbartai, H., Djebbar, M.R., Rouabhi, R., Sbartai, I., & Berrebbah, H. (2011). Antioxidative response in tomato plants *Lycopersicon esculentum* L. roots and leaves to zinc. *American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences*, 3(1):41-46.
- Sharma, P., & Dubey, R.S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1):35-52.
- Sossé, B.A., Genet, P., Dunand-Vinit, F., Toussaint, L.M., Epron, D., & Badot, P.M. (2004). Effect of copper on growth in cucumber plants (*Cucumis sativus*) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. *Plant Science*, 166(5): 1213-1218.
- Sun, T., Sha, W., & Jing, J. (2010). Effects of Zn stress on physiological characteristics of melon seedlings. *Northern Horticulture*, 16:51-53.
- Taulavuori, E., Hellström, E-K., Taulavuori, K., & Laine, K. (2001). Comparison of two methods used to analyse lipid peroxidation from *Vaccinium myrtillus* L. during snow removal, reclamation and cold acclimation. *Journal of Experimental Botany*, 52(365):2375-2380.
- Thounaojam, T. C., Panda, P., Mazumdar, P., Kumar, D., Sharma, G. D., Sahoo, L., & Panda, S. K. (2012). Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. *Plant Physiology and Biochemistry*, 53:33-39.
- TÜİK (2014). Bitkisel üretim İstatistikleri. <http://tuikrapor.tuik.gov.tr>. Erişim tarihi: 6 Ağustos 2015.
- Weck, J.E.J., & Clijsters, H.M.M. (1997). Zn phytotoxicity induces oxidative stress in primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 35 (5): 405-410.
- Vaillant, N., Monnet, F., Hitmi, A., Sallanon, H., & Coudret, A. (2005). Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. *Chemosphere*, 59:1005-1013.
- Van Assche, F.V., & Clijsters, H. (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environment*, 13(3):95-206.
- Verma, S., & Dubey, R.S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, 164(4):645-655.
- Yaşar, F. (2003). Tuz stresi altındaki patlıcan genotiplerinde bazı antioksidant enzim aktivitelerinin *in vitro* ve *in vivo* olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.
- Zhou, D.X., Liu, Y.F., & Liu, X.B. (2009). Effects of waterlogging stress on physiological and biochemical index in *Alternant philloxeroides* Hubei. *Agricultural Sciences*, 48(3):585-587.