



Araştırma Makalesi

**Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksisitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri**

Ali DOĞRU\*<sup>1</sup>

**ÖZ**

Bu çalışmada, farklı kadmiyum [ $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ] konsantrasyonlarının (0.1 and 1 mM) bir hıyar genotipindeki (*Cucumis sativus* L. cv. Beith Alpha F1) fotosentetik aktivite üzerine etkileri klorofil a floresansı tekniği yardımıyla araştırılmıştır. Hıyar bitkilerinin yapraklarındaki fotosentetik pigment (klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid) miktarı doza bağlı olarak azalmıştır. Bu sonuç karotenoidlerin sağladığı koruyucu bir mekanizmanın eksikliği ile açıklanabilir. Klorofil a floresans ölçümleri ve JIP testi sonuçları, hıyar yapraklarındaki fotosentetik pigment miktarındaki azalmanın fotosentetik aktiviteyi de olumsuz etkilediğini göstermiştir. Klorofil floresansı ve JIP testi parametrelerindeki değişimler, kadmiyum toksisitesinin fotosistem II'nin reaksiyon merkezlerinde yapısal hasara neden olmadığını ancak fotosistem II'nin hem donör hem de akseptör bölgesindeki elektron taşınım reaksiyonlarını engellediğini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca Cd toksisitesinin hıyar yapraklarındaki karbon fiksasyon reaksiyonlarını, fotokimyasal reaksiyonlara göre daha şiddetli bir şekilde engellediği gözlenmiştir. Sonuç olarak, Cd toksisitesi altındaki hıyar yapraklarında fotosentetik aktivitenin öncelikli olarak karbon reaksiyonlarını engellemesinden dolayı azalma gösterdiği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cucumis sativus*, fotosentez, JIP testi, kadmiyum, klorofil floresansı

**Effects of Cadmium Toxicity on Photosynthetic Activity in Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Plants**

**ABSTRACT**

In this study, the effect of different cadmium [ $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ] concentrations (0.1 and 1 mM) on photosynthetic activity in a cucumber genotypes (*Cucumis sativus* L. cv. Beith Alpha F1) was investigated by chlorophyll a fluorescence technique. Photosynthetic pigment (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and total carotenoid) content was decreased by cadmium toxicity in the leaves of cucumber plants in a dose dependent manner. This result may be explained by the absence of the protective mechanism provided by carotenoids. The decreased level of photosynthetic pigment content in the leaves of cucumber led to the impaired photosynthetic activity as demonstrated by chlorophyll a fluorescence measurement and JIP test. Changes in the chlorophyll fluorescence and JIP test parameters clearly showed that Cd toxicity did not result in the structural damages in reaction center of photosystem II but inhibited the photosynthetic electron transport reactions both in the donor and acceptor side of photosystem II. In addition, it has been observed that Cd toxicity inhibited carbon fixation reactions more strongly in the leaves of cucumber than photochemical reactions. Thus, it may be concluded that photosynthetic activity is impaired primarily due to inhibition of carbon reactions in the leaves of cucumber plants under Cd toxicity.

**Keywords:** *Cucumis sativus*, photosynthesis, JIP test, Cadmium, chlorophyll fluorescence

ORCID ID (Yazar sırasına göre)  
0000-0003-0060-4691

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 15.04.2021

Kabul Tarihi: 07.06.2021

<sup>1</sup>Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sakarya, Türkiye

\*E-posta: adogru@sakarya.edu.tr

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksikitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

### Giriş

Doğal ortamlarda madencilik faaliyetleri, lağım atıklarının doğaya verilmesi, tarımsal sulama amacıyla atık suların kullanılması, çeşitli endüstriyel aktiviteler ve fosfatlı gübrelerin kullanımı gibi antropojenik faktörlerin yanı sıra kayaların aşınması gibi çeşitli sebeplerden dolayı ağır metal birikimi meydana gelmektedir (Yousaf ve ark., 2016). Toprakların ve su kaynaklarının ağır metallerle kontamine olması tarımsal aktiviteler için büyük bir sorun oluşturmaktadır (Doğru, 2020). Huang ve ark. (2019) yeryüzündeki tarımsal arazilerin büyük kısmının Cd, Cu, Zn, Ni, Co, Cr, Pb ve As gibi ağır metallerle hafif ve orta derecede kontamine olduğunu bildirmiştir. Al, Cu, Zn, Ni ve Co gibi bazı ağır metaller bitkilerin büyüme ve gelişmeleri için mutlaka gereksinim duydukları elementler arasındadır. Ancak Cd, Cr, Pb ve As gibi ağır metallerin bitki metabolizmasında herhangi bir fonksiyonu bulunmamaktadır. Her iki ağır metal grubu da topraktaki konsantrasyonları belirli bir değerin üzerine çıktığı takdirde bitkiler için toksik etkilere yol açmaktadır. Ağır metal toksisitesi bitkilerde birçok biyokimyasal, morfolojik, fizyolojik, moleküler ve yapısal değişime neden olmaktadır (Ali ve ark., 2015; Gill ve ark., 2015).

Bir ağır metal olan Cd toprakta hareketlidir ve canlılar için toksiktir (Chaney, 2015; Rizwan ve ark., 2016). Cd konsantrasyonu belirli bir eşik değerini (toprakta  $8 \text{ mg kg}^{-1}$ , bitki dokularında  $3-30 \text{ mg kg}^{-1}$ ) aştığı zaman büyümede yavaşlama, klorosis, nekrosis, köklerde kararma ve ölüm gibi Cd toksisitesine bağlı semptomlar gözlenmektedir (Chen ve ark., 2008; Chang ve ark., 2013). Bitki dokularında gerçekleşen Cd birikimi; fotosentez ve solunum (Volland ve ark., 2014), mineral besinlerin alınımı ve taşınımı (Nedjimi ve Daoud, 2008), büyüme ve biyokütle birikimi (Huang ve ark., 2015), kök büyümesi ve kuru madde birikimi (Gratao ve ark., 2009), azot metabolizması (Chang ve ark., 2013), gen ekspresyonu (Irfan ve ark., 2013),

antioksidan sistem (Semane ve ark., 2010) ve su alınımı gibi olayları olumsuz yönde etkilemektedir (Polle ve ark., 2013).

Fotosentez olayı bitkilerde ışık enerjisinin biyolojik enerjiye dönüşümünden sorumlu olan en önemli olaydır. Cd toksisitesi bitkilerde suyun kullanım etkinliğini, fotosentetik pigment miktarını, ışık absorpsiyonundan sorumlu fotosistem I (FSI) ve fotosistem II (FSII) gibi birimlerin etkinliğini ve bazı Kalvin döngüsü enzimlerinin aktivitesini azaltarak fotosentez olayını olumsuz yönde etkilemektedir (Leon ve ark., 2002; Cooper ve ark., 2007; Hassan ve ark., 2016; Mesnoui ve ark., 2016). Bunun dışında Cd toksisitesinin bitki hücrelerinde kloroplast yapısını bozduğu da rapor edilmiştir (Sebastian ve Prasad, 2018). Günümüzde fotosentetik aktivitenin ölçülmesi için en modern ve güvenilir tekniğin klorofil a floresansı olduğu bildirilmiştir (Maxwell ve Johnson, 2000; Doğru, 2019, Doğru ve Çakırlar 2020a, 2020b). Klorofil a floresans kinetiklerinin temel prensibi FSII'nin primer elektron akseptörü olan kinon A ( $Q_A$ )'nın redoks durumudur. Buna göre  $Q_A$  okside durumda iken floresans verimi düşük, indirgenmiş durumda iken floresans verimi yüksektir. Bu durumda klorofil floresansı verimi doğrudan doğruya net  $Q_A^-$  konsantrasyonu ile ilgilidir (Govindjee, 2004). Ayrıca minimum floresans ( $F_o$ ), yani "O" noktasında tüm  $Q_A$  molekülleri okside durumdadır, FSII'nin reaksiyon merkezleri açıktır ve primer fotokimyasal olaylar maksimum seviyededir. Maksimum floresans ( $F_m$ ), yani "P" noktasında ise tüm  $Q_A$  molekülleri indirgenmiş durumdadır, FSII'nin reaksiyon merkezleri kapalıdır ve primer fotokimyasal olaylar da minimum seviyededir (Govindjee, 2004). Klorofil a floresansı sinyallerinin zamanın logaritmasına bağlı olarak grafiği çizilirse "OJIP" eğrisi elde edilir. OJIP eğrisinin temel prensibi şu şekilde açıklanabilir: Karanlığa adapte olmuş bir yaprak yüzeyine ışık gönderildiğinde klorofil a floresansı minimum seviyeden ("O") 2 ms içinde

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksikitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

Q<sub>A</sub> moleküllerinin indirgenmesi nedeniyle “J” seviyesine (F<sub>J</sub>) yükselir. Daha sonra tüm plastokinon havuzunun indirgenmesi nedeniyle yaklaşık 30 ms içinde “I” noktasına (F<sub>I</sub>) yükselir. Son aşamada ise klorofil a floresansı, fotosistem I (FSI)’in akseptör bölgesindeki elektron yoğunluğu nedeniyle “I” noktasından maksimum seviyeye (“P” veya F<sub>m</sub>) çıkar (Govindjee, 2004). İşte klorofil a floresans sinyallerinin OJIP eğrisinin “J”, “I” ve “P” noktalarında sergilediği değişimlerin ve bu değişimler arasındaki etkileşimlerin incelenmesini sağlayan tekniğe JIP testi adı verilmektedir (Strasser ve ark., 2004). JIP testi fotosentetik aygıtın birçok farklı çevresel koşul altında verdiği reaksiyonların anlaşılmasını sağlama amacıyla bitki biyolojisi ve ziraat alanında kullanılmaktadır (Yusuf ve ark., 2010). JIP testi tilakoid membranlardaki enerji akış teorileri temeline dayanmaktadır (Force ve ark., 2003). Bu test direkt olarak ölçülen ve bazı eşitlikler yardımıyla hesaplanan parametreler yardımıyla FSII’ye giriş ve çıkış yapan enerji akışının araştırılmasını sağlamaktadır.

Bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı, Sakarya çevresindeki tarımsal topraklarda belirli oranda gözlenen Cd toksisitesinin bu bölgede en çok yetiştirilen ürünlerden biri olan hıyar bitkilerinde fotosentetik aktivite ve fotosistem II etkinliği üzerindeki etkilerini klorofil a floresansı tekniği ile araştırmaktır (Dündar, 2008).

### Materyal ve Yöntem

#### Bitki Materyali, Büyüme Koşulları ve Deneysel Plan

Hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkisinin Beith Alpha F1 genotipine ait tohumlar 10 dakika boyunca %5’lik sodyum hipoklorit içerisinde sterilize edilmiştir. Distile su ile yıkandıktan sonra perlit içeren 14 cm çapındaki her plastik saksıya (1.2 L hacimli) ikişer tohum ekilmiş ve ½ oranında sulandırılmış Hoagland besin çözeltisi ile sulanmıştır. Denemede kullanılan

toplam bitki sayısı 45’dir. Saksılar 200 µmol foton m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık yoğunluğu, 25/18 °C gündüz/gece sıcaklığı, 16 saatlik fotoperiyot ve %40-50’lik oransal neme sahip olan iklim dolabına yerleştirilmiştir. Yirmi sekiz günlük olan hıyar fideleri üç gruba ayrılmıştır. Kontrol grubunu oluşturan bitkiler aynı fiziksel koşullarda büyütülmeye devam edilmiştir. İkinci gruptaki bitkilere 0.1 mM, üçüncü gruptaki bitkilere ise 1 mM konsantrasyonunda kadmiyum [Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O], Hoagland besin çözeltisine ilave edilerek uygulanmıştır. Altı günlük uygulama sonunda hıyar bitkilerinin yapraklarında fotosentetik pigment miktarları belirlenmiş ve klorofil a floresansı ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

#### Klorofil a Floresansı Ölçümleri

Klorofil a floresans parametreleri hem kontrol hem de Cd stresi uygulanan bitkilerin yapraklarında “bitki verimlilik analizatörü” (HandyPEA florometresi, Hansatech Instruments Ltd., Pentney, King’s Lynn, Norfolk, England) yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ölçüm için kullanılacak yapraklar, yaprak klipsleri yardımıyla 45-60 dakika karanlık adaptasyonuna maruz bırakılmıştır. Daha sonra yaprak yüzeylerine 3,500 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> şiddetinde ışık uygulanmış ve elde edilen parametrelerin değerlendirilmesi PeaPlus ve Biolyzer adlı programlarla uygulanan JIP testi ile yapılmıştır (Bussotti ve ark., 2007). Klorofil a floresansı ve JIP testi ile ilgili terminoloji Çizelge 1’de verilmiştir.

#### Fotosentetik Pigment Analizleri

Fotosentetik pigment ekstraksiyonu yaprak parçacıkları kullanılarak %100’lük aseton içerisinde yapılmıştır. Özütlar 10 000 g ve 4 °C’de 10 dk santrifüj edildikten sonra absorbans değerleri Shimadzu mini 1240 UV visible spektrofotometre kullanılarak 470, 644.8 ve 661.6 nm’de ölçülmüştür. Klorofil a, klorofil b,

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksisitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarları Lichtenthaler (1987)'ye göre mg g<sup>-1</sup> taze ağırlık olarak hesaplanmıştır.

### İstatistiksel Analizler

Denemeler tesadüf blokları deneme desenine göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin aritmetik ortalama ve standart hataları hesaplanmış, daha sonra verilere SPSS 22.0 paket programı kullanılarak varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulamaların kontrole göre neden olduğu farkın önem kontrolü Duncan testi ile %5 seviyesinde hesaplanmıştır.

### Bulgular ve Tartışma

Cd toksisitesinin patates, marul, domates, soya ve bezelye gibi bitki türlerinde yapraklardaki klorofil miktarını azalttığı bildirilmiştir (Xu ve ark., 2013; Monteiro ve ark., 2009; Hassan ve ark., 2016; Xu ve ark., 2014; Agrawal ve Mishra, 2009). Benzer şekilde çalışmamızda hıyar yapraklarındaki klorofil a ve klorofil b miktarı, uygulanan Cd konsantrasyonunun artışına bağlı olarak kontrollere göre istatistiksel olarak önemli derecede azalmıştır (Şekil 1A ve B) (P<0.05). 0.1 mM'lık Cd uygulaması yapraklardaki klorofil a ve klorofil b miktarını

sırasıyla %19 ve %11 oranında azaltmıştır. 1 mM'lık Cd uygulaması sonucunda ise hıyar yapraklarındaki klorofil a ve klorofil b miktarı kontrollerle karşılaştırıldığında sırasıyla %53 ve %52 oranında azalmıştır. Bu sonuçlar Cd toksisitesinin hıyar yapraklarındaki kloroplast proliferasyonunu olumsuz yönde etkilediğini açıkça göstermektedir (Chen ve ark., 2008). Bitki yapraklarındaki klorofil pigmentlerinin miktarının, bu pigmentlerin sentez ve parçalanma reaksiyonları arasındaki denge ile sağlandığı bilinmektedir. Bunun dışında Cd toksisitesinin klorofil sentez reaksiyonlarını, Mg iyonlarının protoporfirin moleküllerine şelasyonunu engelleyerek inhibe ettiği ve tetrapireol halkasındaki Mg atomları ile yer değiştirerek klorofil moleküllerinin doğrudan parçalanmasına yol açtığı ortaya çıkarılmıştır (Dhir ve ark., 2009; Xin ve ark., 2020). Buna göre Cd toksisitesinin çalışmamızda kullanılan hıyar genotipinin yapraklarındaki klorofil metabolizmasını parçalanma lehine bozduğu söylenebilir. Klorofil a ve klorofil b miktarındaki azalma, Cd toksisitesine maruz bırakılan hıyar yapraklarında toplam klorofil miktarının da konsantrasyona bağlı olarak kontrole göre önemli derecede azalmasına yol açmıştır (Şekil 1C) (P<0.05).

**Çizelge 1.** Bazı klorofil a floresansı ve JIP testi parametrelerinin tanımı (Kalaji ve ark., 2011).

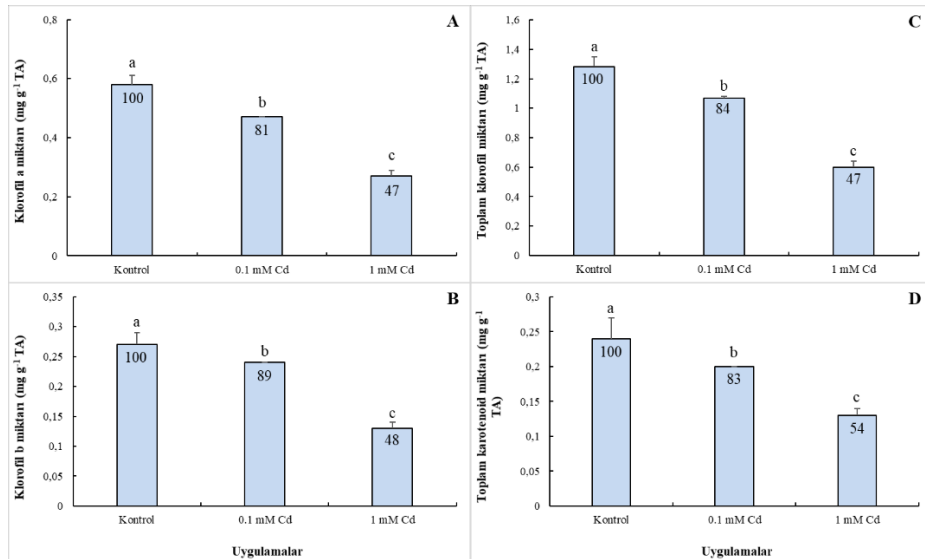
Parametreler	
<i>F<sub>o</sub></i>	Karanlık adaptasyonu sağlanmış örnekte tüm FS II reaksiyon merkezlerinin açık olduğu andaki minimum floresans
<i>F<sub>m</sub></i>	Karanlık adaptasyonu sağlanmış örnekte tüm FS II reaksiyon merkezlerinin kapalı olduğu andaki maksimum floresans
<i>F<sub>v</sub></i>	Fotokimyasal olmayan tüm prosesler minimum seviyede iken maksimum değişken floresans
<i>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub></i>	FS II' nin maksimum kuantum etkinliği
<i>F<sub>v</sub>/F<sub>o</sub></i>	Hill reaksiyonu (fotoliz) etkinliği
<i>ET<sub>o</sub>/RC</i>	FS II'de reaksiyon merkezi başına Q <sub>A</sub> 'dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı
<i>TR<sub>o</sub>/RC</i>	FS II'de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve Q <sub>A</sub> 'nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji
<i>DI<sub>o</sub>/RC</i>	FS II'de reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olaylar dışında kaybedilen dissipasyon enerjisi
<i>RC/ABS</i>	FS II'deki anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi miktarı
<i>Alan</i>	OJIP eğrisinin üzerinde kalan, F <sub>o</sub> ile F <sub>m</sub> arasında bulunan ve indirgenmiş plastokinon (PQ) havuzunun boyutunu ifade eden bölge
<i>ΔV/Δt<sub>o</sub></i>	Kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı
<i>N</i>	F <sub>m</sub> 'ye ulaşıncaya kadar geçen sürede Q <sub>A</sub> 'nın indirgenme sayısı
<i>PI<sub>ABS</sub></i>	Performans indeksi

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksikitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

$SFI_{ABS}$	FS II'nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü
$S_M$	Tüm reaksiyon merkezlerinin kapanması için gereken enerji
$\Psi_0$	Yakalanan bir eksitonun bir elektronu $Q_A$ 'dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği
$\phi_{E_0}$	$Q_A$ 'dan PQ'ya elektron taşınımının kuantum verimi
$\phi_0/(1-\phi_0)$	Fotokimyasal olayların performans indeksi
$\Psi_0/(1-\Psi_0)$	Fotokimyasal olmayan olayların performans indeksi

Karotenoid grubu pigmentler bitkilerde antioksidan sistemin enzimatik olmayan bileşenleri arasında yer almakta ve stres altındaki bitkilerde hem tekli uyarılmış oksijen hem de triplet klorofil oluşumunu engelleyerek klorofil pigmentleri de dahil çeşitli hücre yapısının korunmasını sağlamaktadır (Trebst, 2003). Çalışmada hıyar yapraklarındaki toplam

karotenoid miktarı uygulanan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre belirgin derecede azalmıştır (Şekil 1D) ( $P < 0.05$ ). Buna göre hıyar yapraklarında Cd toksisitesi koşullarında karotenoidlere bağlı koruyucu mekanizmanın aktifleşmediği ve klorofil pigmentlerinin fotooksidasyona uğradığı söylenebilir (Doğru ve Bildiren, 2020).



**Şekil 1.** Cd toksisitesinin hıyar yapraklarındaki (A) klorofil a, (B) klorofil b, (C) toplam klorofil ve (D) toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi (farklı harfler uygulamaların kontrollerine göre  $P=0.05$  seviyesinde farklı olduğunu göstermektedir, barların içindeki rakamlar kontrole göre değişim yüzdelere ifade etmektedir, kontrol=100).

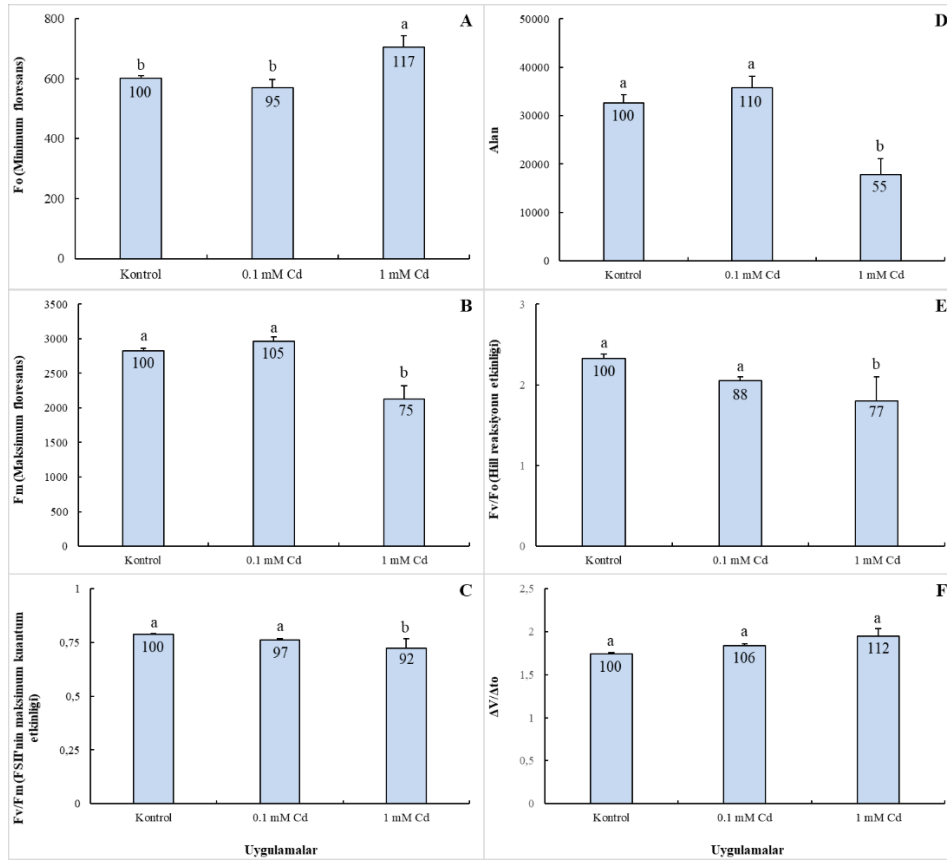
Klorofil floresans kinetiklerinin farklı stres faktörlerinin fotosentez üzerindeki etkilerini araştırmak için son derece uygun bir teknik olduğu rapor edilmiştir (Kalaji ve ark., 2011; Doğru, 2019). Bu nedenle Cd toksisitesine maruz bırakılan hıyar bitkilerinin yapraklarında

fotosentetik aygıtın fizyolojik durumunu incelemek için *in vivo* klorofil a floresansı tekniği kullanılmıştır. Fv/Fm oranı (fotosistem II'nin maksimum kuantum etkinliği) uygun koşullar altında yetiştirilen birçok bitki türünde 0.83 civarındadır ve fotosentetik etkinliğin

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksikitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

derecesini yansıtmaktadır (Kalaji ve ark., 2011). Bu değerde meydana gelen azalmalar ortamda herhangi bir stres faktörünün varlığını işaret etmektedir. Çalışmada 0.1 mM'lık Cd uygulaması hıyar yapraklarındaki Fv/Fm değerinde kontrolle karşılaştırıldığında önemli bir değişime yol açmazken, 1 mM'lık Cd uygulaması bu değer %8 oranında ve önemli oranda azalmasına yol açmıştır (Şekil 2C). Bu sonuç 1 mM'lık Cd toksisitesinin hıyar yapraklarındaki elektron taşınım reaksiyonlarını belirgin şekilde engellediğini göstermektedir (Meravi ve Prajapati, 2018). Benzer şekilde Fo (minimum floresans) ve Fm (maksimum floresans) 0.1 mM'lık Cd toksisitesi altında kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında önemli bir değişim göstermemiştir (Şekil 2A ve B)

( $P>0.05$ ). Ancak 1 mM'lık Cd uygulaması hıyar yapraklarındaki Fo değerinin belirgin derecede artmasına, Fm değerinin ise azalmasına yol açmıştır ( $P<0.05$ ). Maxwell ve Johnson (2000) Fo değerindeki artıştan farklı faktörlerin sorumlu olabileceğini bildirmiştir. Örneğin Kalaji ve ark. (2011), Fo değerindeki artışın nedenlerinin elektronların kinonA'dan kinonB'ye taşınım hızının azalması ve/veya fotosistem II'nin ışık enerjisini yakalama verimliliğinin azalması olabileceğini bildirmiştir. Aynı Cd konsantrasyonu altında Fm değerinde gözlenen azalma ise, Cd toksisitesinin fotosistem II'nin akseptör bölgesindeki elektron taşınım reaksiyonlarını yavaşlatmasından kaynaklanmaktadır (Doğru ve Çakırlar, 2020a, 2020b).



**Şekil 2.** Cd toksisitesinin hıyar yapraklarındaki (A) Fo, (B) Fm, (C) Fv/Fm, (D) alan, (E) Fv/Fo ve (F)  $\Delta V/\Delta t_0$  üzerine etkisi (farklı harfler uygulamaların kontrollere göre  $P=0.05$  seviyesinde farklı olduğunu göstermektedir, barların içindeki rakamlar kontrole göre değişim yüzdelere ifade etmektedir, kontrol=100).

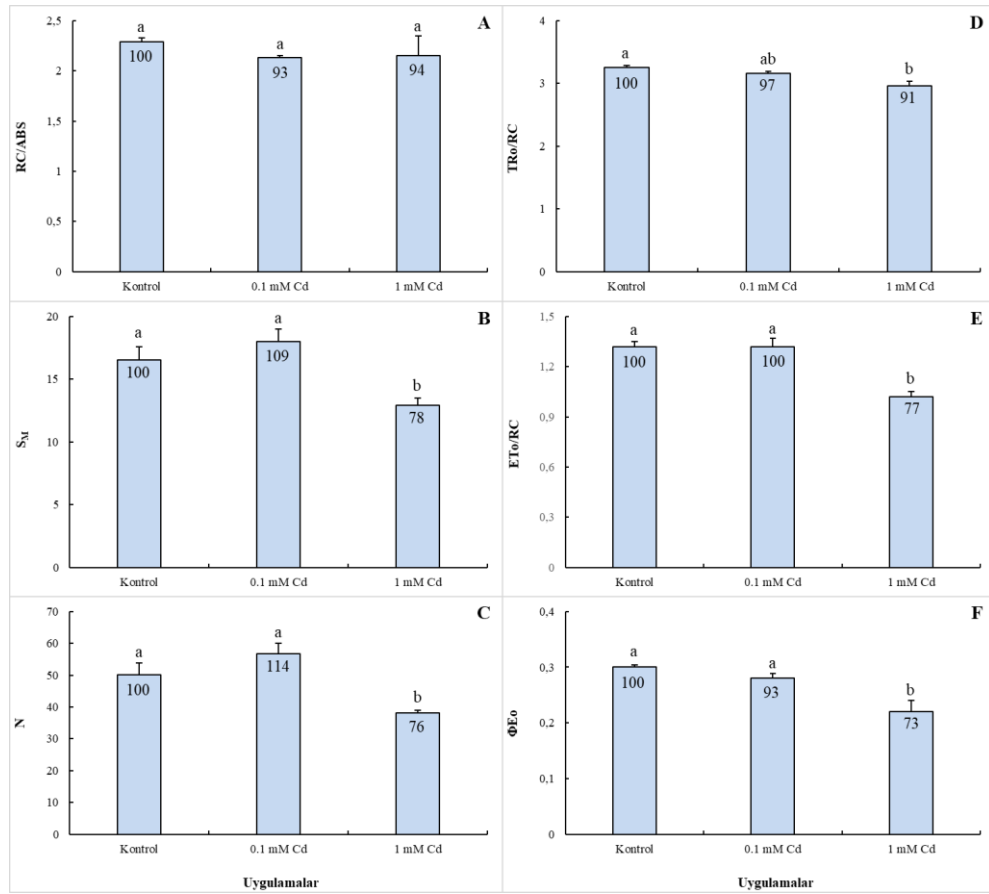
## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksisitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

Fotosistem II'nin donör bölgesinde bulunan ve suyu parçalamaktan sorumlu olan (Hill reaksiyonu) birimin etkinliğini gösteren  $F_v/F_o$  oranı, 0.1 mM'lık Cd uygulanmasından etkilenmemiş (Şekil 2E) ( $P>0.05$ ), 1 mM'lık Cd uygulaması sonucunda ise kontrole göre belirgin oranda (%23) azalma göstermiştir ( $P<0.05$ ). Bu birimin fotosentetik elektron taşınım sisteminin stres faktörlerine en duyarlı bölgesi olduğu rapor edilmiştir (Kalaji ve ark., 2011). Pereira ve ark. (2000)  $F_v/F_o$  oranındaki azalmanın fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarındaki bozulmadan kaynaklanabileceğini bildirmiştir. Çalışmada Cd toksisitesinin suyu parçalayan sistem üzerindeki engelleyici etkisi belirlenmiştir. Buna göre Cd toksisitesi altındaki hıyar yapraklarında suyu parçalayan sistemden  $Q_A$ 'ya doğru gerçekleşen elektron taşınımını belli oranda engellediği söylenebilir. Alan parametresinde (OJIP eğrisinin üzerinde kalan ve  $F_o$  ile  $F_m$  arasındaki alan) meydana gelen değişimler de bu görüşü destekler niteliktedir. Çalışmada alan parametresi 0.1 mM'lık Cd toksisitesinden etkilenmemiş ( $P>0.05$ ) ancak 1 mM'lık Cd uygulaması alan parametresinin kontrole göre önemli derecede ve %45 oranında azalmasına yol açmıştır (Şekil 2D) ( $P<0.05$ ). Bu sonuç elektronların  $Q_A$ 'ya doğru taşınımının belli oranda engellendiğini göstermektedir (Oukarroum ve ark., 2015). Çalışmada hıyar bitkilerine uygulanan her iki Cd konsantrasyonu da  $\Delta V/\Delta t_o$  (kapalı reaksiyon merkezlerinin birikim hızı) değerini kontrole karşılaştırıldığında istatistiksel olarak etkilememiştir (Şekil 2F) ( $P>0.05$ ). Bu sonuç Cd

stresi altındaki hıyar yapraklarında reaksiyon merkezlerinin kolayca okside olduğunu göstermektedir (Gupta, 2020).

Çalışmada RC/ABS oranı (fotosistem II'de anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezi miktarı) Cd uygulamalarından istatistiksel olarak etkilenmemiştir (Şekil 3A) ( $P>0.05$ ). Bu sonuç  $\Delta V/\Delta t_o$  ve  $F_o$  parametrelerinde meydana gelen değişimlerle birlikte değerlendirildiğinde, hıyar bitkilerinde Cd toksisitesinin reaksiyon merkezlerinde herhangi bir hasara yol açmadığı şeklinde yorumlanabilir (Kan ve ark., 2017). Bu sonuçlara uygun olarak 1 mM Cd stresi altındaki hıyar yapraklarındaki  $S_M$  (tüm reaksiyon merkezlerinin kapanması için gereken enerji) de azalmıştır (Şekil 3B) ( $P<0.05$ ). N ( $F_m$ 'ye ulaşıncaya kadar geçen sürede  $Q_A$ 'nın indirgenme sayısı) ve  $TR_o/RC$  (fotosistem II'de reaksiyon merkezi başına yakalanan ve  $Q_A$ 'nın indirgenmesini sağlayan maksimum enerji) 1 mM'lık Cd uygulaması sonucunda kontrole göre %24 oranında azalmıştır (Şekil 3C ve D) ( $P<0.05$ ). Bu da reaksiyon merkezlerinden  $Q_A$ 'ya doğru elektron taşınımının Cd toksisitesi etkisiyle azaldığını göstermektedir. Çalışmada  $ET_o/RC$  (fotosistem II'de reaksiyon merkezi başına  $Q_A$ 'dan sonraki basamaklardaki maksimum elektron taşınımı) ve  $\Phi E_o$  ( $Q_A$ 'dan plastokinona elektron taşınımının kuantum verimi) 1 mM'lık Cd uygulaması sonucunda kontrollere göre sırasıyla %23 ve %27 oranında belirgin şekilde azalmıştır (Şekil 3E ve F) ( $P<0.05$ ).

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksikitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri



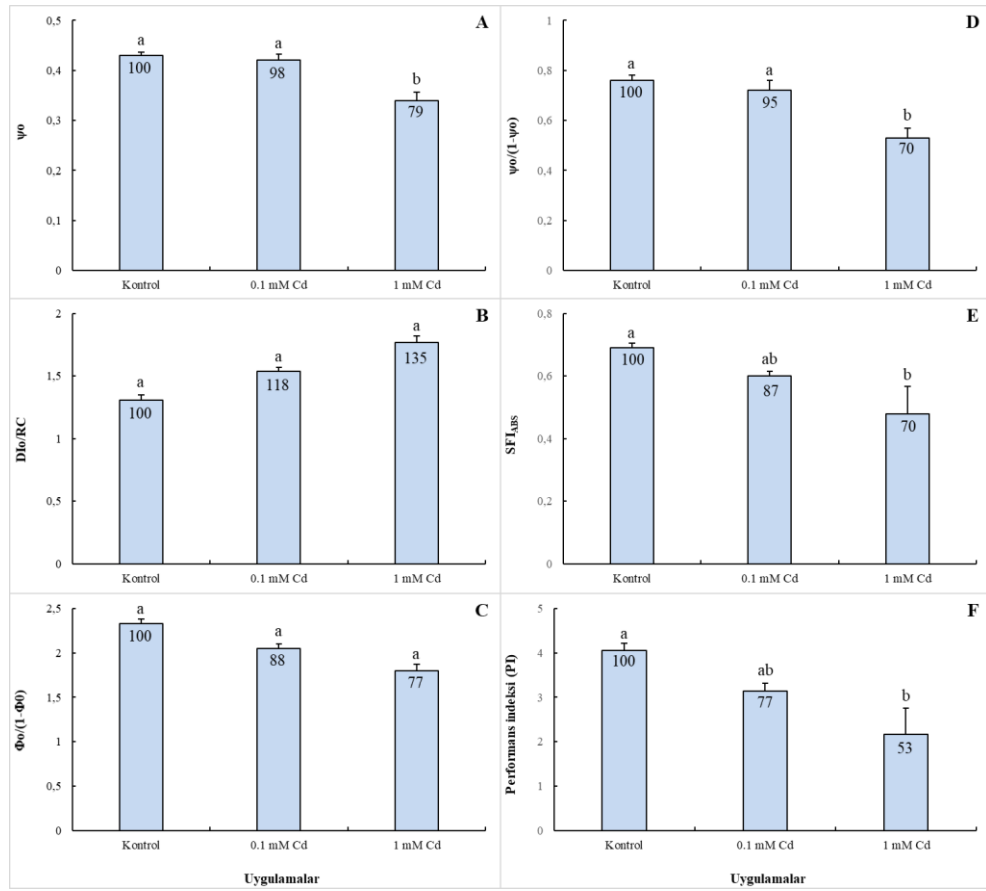
**Şekil 3.** Cd toksisitesinin hıyar yapraklarındaki (A) RC/ABS, (B)  $S_M$ , (C) N, (D) TRo/RC, (E) ET<sub>0</sub>/RC ve (F)  $\Phi E_0$  üzerine etkisi (farklı harfler uygulamaların kontrollere göre P=0.05 seviyesinde farklı olduğunu göstermektedir, barların içindeki rakamlar kontrole göre değişim yüzdelerini ifade etmektedir, kontrol=100).

Çalışmada  $\phi_0$  (yakalanan bir eksitonun bir elektronu  $Q_A$ 'dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme yeteneği) değeri 0.1 mM'lık Cd uygulaması sonucunda kontrole karşılaştırıldığında belirgin derecede etkilememiş ( $P>0.05$ ), 1 mM'lık Cd uygulaması ise önemli oranda (%21) azaltmıştır (Şekil 4A) ( $P<0.05$ ). Bu sonuç 1 mM'lık Cd stresi altındaki hıyar yapraklarında fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarının  $Q_A$ 'dan sonraki basamaklarda belli derecede engellendiğini göstermektedir. D<sub>I0</sub>/RC (fotosistem II'de reaksiyon merkezi

başına fotokimyasal olaylar dışında kaybedilen enerji) her iki Cd konsantrasyonundan etkilenmemiştir (Şekil 4B) ( $P>0.05$ ). Stres altındaki bitkilerde fotokimyasal olmayan mekanizma ile gerçekleşen enerji kaybı metabolik bir savunma mekanizması olarak kabul edilmektedir (Doğru ve Çakırlar 2020a ve 2020b). Ancak çalışmada kullanılan hıyar bitkilerinde Cd uygulamaları sonucunda D<sub>I0</sub>/RC değerinin değişmemesi böyle bir savunma mekanizmasının aktifleşmediğini göstermiştir.



## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksikitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri



**Şekil 4.** Cd toksisitesinin hıyar yapraklarındaki (A)  $\psi_o$ , (B)  $D_{I_o}/RC$ , (C)  $\Phi_o/(1-\Phi_o)$ , (D)  $\psi_o/(1-\psi_o)$ , (E)  $SFI_{ABS}$  ve (F) PI üzerine etkisi (farklı harfler uygulamaların kontrollere göre  $P=0.05$  seviyesinde farklı olduğunu göstermektedir, barların içindeki rakamlar kontrole göre değişim yüzdesini ifade etmektedir, kontrol=100).

Çalışmada  $\Phi_o/(1-\Phi_o)$  (fotokimyasal olayların performans indeksi) Cd uygulamaları sonucunda kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak değişmemiştir (Şekil 4C) ( $P>0.05$ ).  $\psi_o/(1-\psi_o)$  (Fotokimyasal olmayan (karanlık) reaksiyonların performans indeksi) değeri ise 0.1 mM'lık Cd uygulamasından etkilenmemiş ( $P>0.05$ ), 1 mM'lık Cd uygulaması ise önemli derecede azaltmıştır (Şekil 4D) ( $P<0.05$ ). Buna göre Cd toksisitesinin fotosentezin enzimatik karbon fiksasyon reaksiyonlarını daha olumsuz yönde etkilediği söylenebilir. Özellikle 1 mM'lık Cd uygulaması hıyar bitkilerinde  $SFI_{ABS}$  (fotosistem II'nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü) ve PI (performans

indeksi) değerlerinin de önemli derecede azalmasına yol açmıştır (Şekil 4E ve F) ( $P<0.05$ ).

### Sonuç

Araştırma sonuçlarına göre; Cd toksisitesinin muhtemelen karotenoid miktarının azalması ve  $D_{I_o}/RC$ 'nin etkilenmemesi nedeniyle hıyar bitkilerinin yapraklarındaki fotosentetik pigment miktarını azalttığı belirlenmiştir. Klorofil a floresansı ve JIP testi sonuçları ise Cd toksisitesinin hıyar bitkilerinin yapraklarındaki reaksiyon merkezlerinde yapısal bir hasar oluşturmadığını, ancak fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarını belirli bölgelerde engellediğini göstermiştir. Bunun dışında Cd

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksisitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

toksisitesinin hıyar bitkilerinde fotosentetik karbon fiksasyon reaksiyonlarını daha olumsuz etkilediği de belirlenmiştir.

### Kaynaklar

- Agrawal, S. B., Mishra, S. (2009) Effects of supplemental ultraviolet-B and cadmium on growth, antioxidants and yield of *Pisum sativum* L. *Ecotoxicol Environ Safety* 72: 610-618.
- Ali, B., Gill, R. A., Yang, S., Gill, M. B., Farooq, M. A., Liu, D., Daud, M. K., Ali, S., Zhou, W. (2015) Regulation of cadmium-induced proteomics and metabolic changes by 5-aminolevulinic acid in leaves of *Brassica napus* L. *PLOS One* 10: 328.
- Bussotti, F., Strasser, R. J., Schaub, M. (2007) Photosynthetic behaviour of woody species under high ozone exposure probed with the JIP test: a review. *Environ Pollut* 147: 430-437.
- Chaney, R. L. (2015) How does contamination of rice soils with Cd and Zn cause high incidence of human Cd disease in subsistence rice farmers. *Curr Pollut Rep* 1: 13-22.
- Chang, Y. S., Chang, Y. J., Lin, C. T., Lee, M. C., Wu, C. W., Lai, Y. H. (2013) Nitrogen fertilization promotes the phytoremediation of cadmium in *Pentstemon lenceolata*. *Int Biodet Biodeg* 85: 709-714.
- Chen, F., Wang, F., Zhang, G., Wu, F. (2008) Identification of barley varieties tolerant to cadmium toxicity. *Biol Trace Element Res* 121: 171-179.
- Cooper, J., Bolbot, J. A., Saini, S., Setford, S. J. (2007). Electrochemical method for the rapid on site screening of cadmium and lead in soil and water samples. *Water Air Soil Pollut* 179: 183-195.
- Dhir, B., Sharmila, P., Saradhi, P. P., Nasim, A. S. (2009) Physiological and antioxidant responses of *Salvinia natans* exposed to chromium rich wastewater. *Ecotoxicol Environ Safety* 72: 1790-1797.
- Doğru, A. (2019) Bazı arpa genotiplerinde kurşun toleransının klorofil a floresansı ile değerlendirilmesi. *Bartın Uni Int JONAS* 2(2): 228-238.
- Doğru, A. (2020) Antioxidant responses of barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes to lead toxicity. *Biologia* 75: 1265-1272.
- Doğru, A., Bildiren, Ş. (2020) Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde foliar bor uygulamalarının neden olduğu fizyolojik ve biyokimyasal değişimler. *Bor Dergisi*, 5: 100-107.
- Doğru, A., Çakırlar, H. (2020a). Effects of leaf age on chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes activity in winter rapeseed leaves under cold acclimation conditions. *Braz J Bot* 43: 11-20.
- Doğru, A., Çakırlar, H. (2020b). Is leaf age a predictor for cold tolerance in winter oilseed rape plants? *Funct Plant Biol* 47(3): 250-262.
- Dündar, M. Ş. (2008). Aşağı Sakarya Nehri su ve sediment kalitesinin belirlenmesi. TÜBİTAK projesi (Proje no: 106Y037).
- Force, L., Critchley, C., van Rensen, J. J. S. (2003) New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. 1. The effect of illumination on the fluorescence parameters of the JIP test. *Photosynth Res* 78: 17-33.
- Gill, R. A., Zang, L., Ali, B., Farooq, M. A., Cui, P., Yang, S., Ali, S., Zhou, W. (2015). Chromium-induced physio-chemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. *Chemosphere* 120: 154-164.

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksisitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

- Govindjee. (2004). Chlorophyll a fluorescence: a bit of basics and history. Springer, Dordrecht.
- Gratao, P. L., Monteiro, C. C., Rossi, M. L., Martinelli, A. P., Peres, L. E., Medici, L. O., Lea, P. J., Ezevado, R. A. (2009) Differential ultrastructural changes in tomato hormonal mutants exposed to cadmium. *Environ Exp Bot* 67: 387-394.
- Gupta, R. (2020). Manganese repairs the oxygen-evolving complex (OEC) in maize (*Zea mays* L.) damage during seawater vulnerability. *J Soil Sci Plant Nutr* 20: 1387-1396.
- Hassan, W., Bano, R., Bashir, S., Aslam, Z. (2016) Cadmium toxicity and soil biological index under potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivation. *Soil Res* 54: 460-468.
- Huang, B., Xin, J., Dai, H., Liu, A., Zhou, W., Yi, Y., Liao, K. (2015) Root morphological responses of three hot pepper cultivars to Cd exposure and their correlations with Cd accumulation. *Environ Sci Pollut Res* 22: 1151-1159.
- Huang, Y., Wang, L., Wang, W., Li, T., He, Z., Yang, X. (2019) Current status of agricultural soil pollution by heavy metals in China: a meta-analysis. *Sci Total Environ* 651: 3034-3042.
- Irfan, M., Hayat, S., Ahmad, A., Alyemeni, M. N. (2013) Soil cadmium enrichment: allocation and plant physiological manifestations. *Saudi J Biol Sci* 20: 1-10.
- Kalaji, H. M., Govindjee, Bosa, K., Koscielniak, J., Zuk-Golaszewska, K. (2011) Effects of salt stress on photosystem II efficiency and CO<sub>2</sub> assimilation of two Syrian barley landraces. *Environ Exp Bot* 73: 64-72.
- Kan, X., Ren, J., Chen, T., Cui, M., Li, C., Zhou, R., Zhang, Y., Liu, H., Deng, D., Yin, Z. (2017) Effects of salinity on photosynthesis in maize probed by prompt fluorescence, delayed fluorescence and P700 signals. *Environ Exp Bot* 140: 56-64.
- Leon, A. M., Palma, J. M., Corpas, F. J., Gomes, M., Romero-Puertas, M. C., Chatterjee, D., Mateos, R. M., Luis, A., Sandalio, L. M. (2002) Antioxidative enzymes in cultivar of pepper plants with different sensitivity to cadmium. *Plant Physiol Biochem* 40: 813-820.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. *Meth Enzymol* 148: 350-382.
- Maxwell, K., Johnson, N. G. (2000) Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *J Exp Bot* 51: 659-668.
- Meravi, N., Prajapati, S. K. (2018) Temporal variation in chlorophyll fluorescence of different tree species. *Biol Rhythm Res* 49: 1-7.
- Mesnoui, M., Naranja, E. M., Barcia-Piedras, J. M., Perez-Romero, J. A., Lotmani, B., Redondo-Gomez, S. (2016) Physiological and biochemical mechanisms preventing Cd toxicity in the hyperaccumulator *Atriplex halimus* L. *Plant Physiol Biochem* 106: 30-38.
- Monteiro, M. S., Santos, C., Soares, A. M. V. M., Mann, R. M. (2009). Assessment of biomarkers of cadmium stress in lettuce. *Ecotoxicol Environ Safety* 72: 811-818.
- Nedjimi, B., Daoud, Y. (2008). Cadmium accumulation in *Atriplex hakimus* subsp. *schweinfurthii* and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. *Flora* 204: 316-324.
- Oukarroum, A., Bussotti, F., Goltsev, V., Hazem, M. H. (2015) Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II

## Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Bitkilerinde Kadmiyum Toksisitesinin Fotosentetik Aktivite Üzerindeki Etkileri

- in *Lemma minor* L. plants under salt stress. *Environ Exp Bot* 109: 80-88.
- Pereira, W. E., de Siqueira, D. L., Martinez, C. A., Puiatti, M. (2000) Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four citrus rootstocks under aluminium stress. *J Plant Physiol* 157: 513-520.
- Polle, A., Klein, T., Kettner, C. (2013) Impact of cadmium on young plants of *Populus euphratica* and *P. x canescens*, two poplar species that differs in stress tolerance. *New Forests* 44: 13-22.
- Rizwan, M., Meunier, J. D., Davidian, J. C., Pokrovsky, O. S., Bovet, N., Keller, C. (2016). Silicon alleviates Cd stress of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L. cv. Claudio) grown in hydroponics. *Environ Sci Pollut Res* 23: 1414-1427.
- Sebastian, A., Prasad, M. N. V. (2018) Exogenous citrate and malate alleviate cadmium stress in *Oryza sativa* L.: probing role of cadmium localization and iron nutrition. *Ecotoxicol Environ Safety* 166: 215-222.
- Semane, B., Dupae, J., Cuypers, A., Noben, J. P., Tuomainen, M., Tervahauta, A., Karenlampi, S., Van Belleghem, F., Smeets, K., Vangronsveld, J. (2010) Leaf proteome responses of *Arabidopsis thaliana* exposed to mild cadmium stress. *J Plant Physiol* 167: 247-254.
- Strasser, R. J., Tsimilli-Mitchael, M., Srivastava, A. (2004) Analysis of chlorophyll a fluorescence transient. Springer, Dordrecht.
- Trebst, A. (2003) Function of  $\beta$ -carotene and tocopherol in photosystem II. *Z Naturforsch* 58: 609-620.
- Volland, S., Bayer, E., Baumgartner, V., Andosch, A., Lütz, C., Sima, E., Lutz-Meindl, U. (2014) Rescue of heavy metal effects on cell physiology of the algal model system *Micrasterias* by divalent ions. *J Plant Physiol* 171: 154-163.
- Xin, J. P., Ma, S., Zhao, C., Li, Y., Tian, R. (2020) Cadmium phytotoxicity, related physiological changes in *Pontederia cordata*: antioxidative, osmoregulatory substances, phytochelatins, photosynthesis, and chlorophyll fluorescence. *Environ Sci Pollut Res* DOI: 10.1007/s11356-020-10002-z.
- Xu, D., Chen, Z., Sun, K., Yan, D., Kang, M., Zhao, Y. (2013) Effect of cadmium on the physiological parameters and the subcellular cadmium localization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ecotoxicol Environ Safety* 97: 147-153.
- Xu, Z., Gao, H., Zhao, S. (2014) Effects of cadmium on the photosynthetic activity in mature and young leaves of soybean plants. *Environmen Sci Pollut Res* 21: 4656-4664.
- Yousaf, B., Liu, G., Wang, R., Imtiaz, M., Zia-ur Rehman, M., Munir, M. A. M., Niu, Z. (2016) Bioavailability evolution, uptake of heavy metals and potential health risks via dietary exposure in urban-industrial areas. *Environ Sci Pollut Res* 23: 22443-22453.
- Yusuf, M. A., Kumar, D., Rajwanshi, R., Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Govindjee, Sarin, V. B. (2010) Overexpression of  $\gamma$ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll fluorescence measurements. *Biochim Biophys Acta* 1797: 1428-1438.