

Sorgum Tohumlarında Ağır Metal Stresi Etkilerinin Hafifletilmesinde Bazı Bitki Büyüme Regülatörlerinin Rolü

Damla GÜVERCİN*1

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 32260, Isparta

(Alınış / Received: 18.10.2016, Kabul / Accepted: 21.02.2017, Online Yayınlanma / Published Online: 13.03.2017)

Anahtar Kelimeler
Sorgum,
Ağır metal stresi,
Kinetin,
Gibberellik asit

Özet: Bu çalışmada kurşun [Pb(NO₃)₂], çinko [Zn(NO₃)₂.4H₂O] ve kadmiyum [Cd(NO₃)₂.4H₂O] ortamlarındaki *Sorghum bicolor* L. tohumlarının çimlenmesi üzerindeki ağır metal etkilerinde gibberellik asit (GA₃/G), kinetin (K) ve bu iki bitki büyüme regülatörünün (BBR) kombinasyonlarının (K+G) rolü incelenmiştir. Kurşun (Pb), çinko (Zn) ve kadmiyum (Cd) konsantrasyon artışına paralel olarak tohumların çimlenmesini engellemiştir. Çimlenme üzerinde en zararlı etkiyi Cd yapmış bunu sırası ile Pb ve Zn izlemiştir. BBR uygulamaları Pb ile Cd'nin çimlenmeyi engelleyici etkisini çoğunlukla hafifletmezken (yalnızca 3 mM Pb düzeyindeki G uygulaması ve 0.4, 0.5 ve 0.7 mM Cd düzeylerindeki G uygulaması başarılıdır) Zn'nun yol açtığı bu olumsuzlukları değişik derecede ve önemli ölçüde hafifletmişlerdir. Her üç ağır metal de çimlenme aşamasında radikula uzaması başta olmak üzere koleoptil uzamasını belirgin şekilde inhibe etmiştir. Bu ağır metallerle karşı radikula uzaması koleoptil uzamasından daha duyarlı bulunmuştur. BBR uygulamaları bu ağır metallerin radikula uzaması üzerindeki baskısını hafifletmede başarılı olamamışlardır. Pb, Zn ve Cd'nin koleoptil uzaması üzerindeki olumsuz etkilerini hafifletmede K+G başta olmak üzere uygulanan tüm bitki büyüme regülatörleri (BBR) başarı sağlamışlardır. Çalışılan ağır metallerin taze ağırlık ve fidecik su içeriği yüzdesinde yaptıkları olumsuz etkiler K ve K+G başta olmak üzere BBR uygulamaları ile çoğunlukla hafifletilebilmiştir.

The Role of Some Plant Growth Regulators in Alleviation of Heavy Metal Stress During Germination of Sorghum Seeds

Keywords
Sorghum,
Heavy metal stress,
Kinetin,
Gibberellic acid

Abstract: In this study, the roles of gibberelic acid (GA₃/G), kinetin (K) and a combination of these two plant growth regulators (PGR) on the effects of lead [Pb(NO₃)₂], zinc [Zn(NO₃)₂.4H₂O], cadmium [Cd(NO₃)₂.4H₂O] on some growth parameters of the germination of the *Sorghum bicolor* L seeds were studied. Lead (Pb), zinc (Zn) and cadmium (Cd) prevented the germination of the seeds with the increases of their concentrations. The most adverse effect on the germination was done by Cd, and followed by Pb and Zn respectively. PGR pretreatments could not mostly reduce the preventing and delaying effects of Pb and Cd on germination (only the G applications at 3 mM Pb, and at 0.4, 0.5 and 0.7 mM Cd concentrations were successful) while they could reduce these negative effects caused by Zn. All three heavy metals prevented coleoptile growth, especially radicle growth in germination stage. Radicle growth was more sensitive than coleoptile growth against those three heavy metals. PGR failed to reduce the restraining effects of these heavy metals on radicle elongation during germination. All the used PGR, especially K+G were considerably successful at the reducing of the adverse effects of Pb, Zn and Cd on coleoptile growth. Adverse effects of studied heavy metals on fresh weight and water content percentage of the seedlings during germination could mostly be reduced with PGR treatments, mainly K and K+G.

1. Giriş

Doğada bulunan elementlerin çoğu bitki dokularının yapısına girmektedir. Doğadaki elementlerden 19

tanesi [karbon (C), hidrojen (H), oksijen (O), azot (N), fosfor (P), nikel (Ni), sodyum (Na), kalsiyum (Ca), kükürt (S), potasyum (K), magnezyum (Mg), silisyum (Si), demir (Fe), çinko (Zn), manganez (Mn), bakır

(Cu), bor (B), klor (Cl), molibden(Mo)] bitkiler için mutlak gerekli besin maddeleri iken kobalt (Co), selenyum (Se), galyum (Ga), vanadyum(V) gibi bazıları da sadece bazı bitkilere veya proseslere gerekli olduğu kabul edilen yararlı elementlerdir [1, 2]. Bu elementler bitki gelişimi için mutlak gerekli iken kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), arsenik (As), civa (Hg), krom (Cr), demir (Fe) gibi bazı elementler toksik etkilidir. Her ne kadar bitkilerin besin iyonları alımı seçici ise de, yetiştirme ortamında bulunan ve bitki bünyesine pasif yollarla geçebilen bazı ağır metaller besin zincirine dahil olabilmektedir. Bunun sonucu olarak ağır metaller bitkilere ve bitkilerle beslenen insan ve hayvanlara toksik etkiler yapabilmektedirler [3]. Toksikite metaller arasında farklılık gösterebileceği gibi farklı organizmalarda etkisi de farklı olabilmektedir. Ortaya çıkan faydalı veya zararlı etkiler elementin tipi ve konsantrasyonuna bağlı olduğu kadar değişik türlerin genetiklerine bağlı olarak ortaya koydukları fizyolojik davranışlara da bağlıdır [4].

Bitkinin yetiştirme ortamındaki ağır metal toksisitesi ile kök tüyü indeksi azalmakta ve bunun sonucu olarak da topraktan su ve besin maddelerinin alımı engellenerek bitki-su ilişkisi olumsuz yönde etkilenmektedir. Toksik seviyedeki Al, Pb, Cu, Mn, Zn, Cd ve Cr'un lateral köklerde kısalmaya ve bunun sonucu olarak kompakt bir kök sisteminin oluşmasına neden olduklarını gösteren kaynaklar mevcuttur. [5].

Kurşun bitkiler için gerekli olmayan fakat bütün bitkilerde doğal olarak bulunan bir elementtir [6]. Kurşun bitki yapısındaki makromoleküllerin fonksiyonel gruplarında yer alan metal iyonlarını, topraktan mineral maddelerin alımını ve bitki su kapasitesini düzenleyen çeşitli enzimlerin aktivitesini değiştirerek, çimlenme, sürgün gelişimi, kök ve gövde kuru ağırlığını olumsuz yönde etkiler [7].

Çinkoya maruz bırakılan tohumların sadece çimlenme oranlarının değil hipokotil ve radikula büyümesinin de engellendiği bildirilmiştir [8]. Yüksek konsantrasyondaki çinko; bitkide küçülmeye, tohum sayısında, tohum ağırlığında ve çözünebilir proteinlerde azalmaya sebep olmaktadır [9].

Bitkilerde kadmiyum stresinin en belirgin etkileri ise kök ve gövde büyümesindeki indirgenme, yaprak kuru ağırlığında azalma, klorofil sentezinde engellenme ve oksidatif stres oluşumudur [10,11,12]. Kadmiyumun toksik konsantrasyonları antioksidan enzimlerin aktivitesini engelleyerek oksidatif strese neden olur ve membran hasarları, lipid peroksidasyonuna bağlı hücre ölümleri ve enzim inaktivasyonlarına yol açar [13].

Çalışmamızda kullanılan sorgum (*Sorghum bicolor* L.) bitkisi Poacea familyasından olup Andropogonae takımında yer almaktadır. Sorgum, tropik bölge bitkisi olmakla birlikte mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin

yetiştirilemediği kurak ve sıcak bölgelerde mısır alternatif olarak yetiştirilmektedir. Bu bitki ülkemizde darı olarak bilinmekte ve hem kurak alanların değerlendirilmesinde hem de sulak alanlarda suyun sınırlayıcı olduğu dönemlerde mısır ve diğer kültürü yapılan bitkilere alternatif olması sorgumun önemini arttırmaktadır. Bu bitkinin bir diğer önemi de hem tane hem de saplarının hayvan besini olarak kullanılması ve böylece yem açığımızın giderilmesinde büyük rol oynamasıdır [14].

Gerek normal koşullarda gerekse tuz [15, 16, 17], yüksek sıcaklık [18,19], kuraklık [20] stresi gibi pek çok stres varlığında özellikle gibberellin ve sitokininlerin söz konusu streslerin tohum çimlenmesi üzerindeki olumsuz etkilerini hafifletici roller oynadıkları uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu çalışmada ise ağır metal stresinin sorgum tohumlarının çimlenmesi esnasındaki olumsuz etkisini hafifletmede gibberellin grubundan gibberellik asit ve yapay bir sitokinin olan kinetin etkileri test edilmek istenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Ağır metal ve bitki büyüme regülatörleri çözeltilerinin hazırlanması

Araştırmamızda bitki materyali olarak Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan sorgum (*Sorghum bicolor* L.) tohumları seçilmiştir. Ağır metal olarak da Pb(NO₃)₂, Zn(NO₃)₂.4H₂O, Cd(NO₃)₂.4H₂O kullanılmıştır. Ön denemeler yapılarak tohum çimlenmesinin hafif ve orta şiddette engellendiği kurşun (Pb) düzeyleri 2-3-5 mM; çinko (Zn) düzeyleri 4-5-6-7 mM; kadmiyum (Cd) düzeyleri 0.4-0.5-0.6-0.7 mM olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar saf su ile hazırlanmıştır. Ayrıca kontrol grubu olarak da saf su (0.0 mM) ortamı kullanılmıştır.

Deneylerde kullanılan bitki büyüme regülatörleri gibberellik asit (GA₃/G) ile kinetin (Kin/K) ve bu ikilinin kombinasyonu (Kin+GA₃) olup bunların konsantrasyonları yapılan literatür taraması [21, 22] ve ön çalışmalar sonucunda GA₃ için 0.9 mM, Kin için 0.2 mM olarak saptanmıştır. Kin+GA₃ kombinasyonu ise Kin ve GA₃'ün konsantrasyonları değişmeyecek şekilde stok çözeltilerinden hesaplanan miktarlarda alınarak 1 litreye saf su ile tamamlanmıştır.

2.2. Tohum çimlenmesi

Çimlenme deneyleri 20 °C sabit sıcaklıkta, sürekli karanlıkta ve etüvde yapılmıştır. Önce yeterli sayıda, dolgun görünüşlü, sağlam ve çoğunlukla birbirine benzer büyüklükte olan tohumlar seçilerek 50'şer ml saf su (kontrol), GA₃, Kin ve Kin+GA₃ içeren beherlerde 24 saat oda sıcaklığında ön uygulamaya tabi tutulmuşlardır. Bu ön uygulama sonunda çözeltiler süzülüp tohumlar kurutma kağıdı ile yüzeysel olarak kurutulmuşlardır. Tohumların ekiminde kullanılacak filtre kağıtları, petriler ve diğer

cam malzemeler Pastör fırınında sterilize edilmiştir.

Her uygulamaya ait tohumlar kontrol ve yukarıda belirtilen değişik konsantrasyonlardaki Pb, Zn ve Cd çözeltilerini içeren iki tabaka filtre kağıdı ile kaplı 10 cm çaplı petrilere yerleştirilip 20 °C'ye ayarlı etüvde sürekli karanlıkta 7 gün boyunca çimlenmeye bırakılmışlardır. Çimlenme kriteri olarak 5 mm radikula uzunluğu esas alınmıştır. 24 saatte bir tohumların çimlenme ve koleoptil yüzdeleri saptanmış ve bu işlem 7. güne kadar sürdürülmüştür. Yedinci günün sonunda çimlenme ve koleoptil yüzdesi tespitinin ardından fideciklerin radikula ve koleoptil uzunlukları (mm), taze ve kuru ağırlıkları (mg/fidecik) ile % su içerikleri (% FSİ) saptanmıştır.

İncelenen büyüme parametreleri ile ilgili veriler faktöriyel düzende varyans analizi tekniği ile analiz edilmişlerdir. Deneylerde Pb ortamı söz konusu olduğunda konsantrasyon seviyeleri 2-3-5 mM, Zn ortamında 4-5-6-7 mM, Cd ortamında ise 0.4-0.5-0.6-0.7mM olarak alınmıştır. Uygulama faktöründe ise kontrol (C), kinetin (K), gibberellik asit (G), K+G olmak üzere 4 seviye mevcuttur. Deneyler 4 tekrarlı olarak düzenlenmiş ve çalışmada faktör seviyelerinin ortalamaları arasındaki farklılıkların belirlenmesi SPSS (versiyon 18.0 SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak TUKEY testine göre gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel olarak ortalamalar arasındaki anlamlı olan farklılıklar $P \leq 0.05$ düzeyinde belirlenmiştir.

3. Bulgular

Kurşun, çinko ve kadmiyum konsantrasyon artışına paralel olarak tohum çimlenmesini önlemiştir. Çimlenmeyi engelleyiciliği bakımından en zararlı metal Cd olmuş bunu sırası ile Pb ve Zn izlemiştir. BBR Pb ve Cd'nin bu olumsuz etkilerini hafifletmede başarılı olamazken (yalnızca 3.0 mM Pb düzeyindeki G uygulaması ile 0.4 mM, 0.5 mM ve 0.7 mM Cd ortamlarındaki G uygulaması başarılıdır) Zn'nin yol açtığı inhibisyonları değişik derecelerde ve önemli ölçüde hafifletmişlerdir. 5.0 mM ve 6.0 mM Zn ortamlarında tüm BBR uygulamaları kontrole göre istatistiksel açıdan önemli bulunmuş, 4.0 mM ve 7.0 mM ortamlarında ise K+G uygulaması Zn'nin çimlenmeyi engelleyici etkisini belirgin derecede hafifletebilmiştir (Tablo 2).

Her üç ağır metal de (Pb, Zn ve Cd) radikula uzamasını çarpıcı şekilde inhibe etmiştir. Kontrol ortamında 109.6 mm olan radikula uzunluğu en düşük Pb konsantrasyonu olan 2 mM da bile 20.5 mm'e düşerek yaklaşık %80 oranında (Tablo 1), 4 mM Zn'de 6.1 mm değerine gerileyerek %94 oranında (Tablo 2), 0.4 mM Cd seviyesinde 9.4 mm'ye düşerek yaklaşık %92 oranında (Tablo 3) engellenmiş ancak BBR uygulamaları ile bu engellemeler hafifletilememiştir.

Pb, Zn ve Cd'nin koleoptil uzaması üzerinde yaptığı baskılar çok belirgin ancak radikuladaki kadar keskin değildir. Yani her üç ağır metale karşı radikula uzaması koleoptil uzamasından daha duyarlıdır. Kullanılan tüm Pb konsantrasyonlarında G ve K+G uygulamaları, kontrol (C) grubu üzerindeki ağır metal etkisini hafifletmede istatistiksel olarak önemli oranda başarılı bulunmuş ve K'dan daha etkili olmuşlardır (Tablo 1). Örneğin 3.0 mM Pb düzeyinde C grubunda 43.9 mm olan koleoptil uzunluğu K+G uygulaması ile 66.7 mm'ye yükselerek kontrol ortamındaki koleoptil uzunluğuna (63.1 mm) ulaşmıştır. Tüm BBR uygulamaları Zn'nin koleoptil uzaması üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmede başarılı olmuşlardır. K+G uygulaması koleoptil uzaması üzerinde sinergistik etki göstermiş ve istatistiksel olarak anlamlı olmasa da K ve G'den daha iyi performans sağlamıştır. 5 mM Zn ortamında BBR uygulanmamış (kontrol) tohumlarda 15.7 mm olan koleoptil uzunluğu K+G uygulamasıyla yaklaşık 4 kat artarak 57.9 mm'ye ulaşmıştır (Tablo 2). Tüm Cd seviyelerindeki koleoptil uzunluklarına bakıldığında K ve G uygulamalarının istatistiksel olarak kontrolden önemli derecede farklı olduğu K+G uygulamasının ise diğer uygulamalar ve kontrole göre anlamlı ve belirgin iyileşmeler gösterdiği Tablo 3'te görülmektedir. K+G sinergizmi sayesinde 0.4 mM, 0.5 mM, 0.6 mM Cd ortamlarında büyüyen BBR uygulanmamış tohumların 42.8 mm, 34.8 mm, 40.7 mm olan koleoptil uzunlukları K+G uygulaması ile sırasıyla 59.8 mm, 58.6 mm ve 59.7 mm'lere ulaşarak kontrol grubunun saf su ortamındaki koleoptil değerine (63.1 mm) yaklaşmıştır (Tablo 3). Özetle Zn ve Cd ortamlarındaki koleoptil uzaması üzerinde tüm BBR uygulamaları oldukça başarılı olmuş ancak en olumlu etkiyi Zn'de istatistiksel olarak önemli olmayan artışlar (Tablo 2), Cd'de ise anlamlı ve çarpıcı artışlarla K+G göstermiştir (Tablo 3). K+G sinergizmi Cd'de daha belirgin olarak göze çarpmaktadır.

Çalışılan ağır metallerin tümü taze ağırlığın azalmasına sebep olmuştur. Pb ortamında büyüyen fideciklerin taze ağırlıklarında kontrole göre BBR uygulamaları ile çoğunlukla artışlar olsa da (5.0 mM Pb ortamındaki K ve G uygulamaları dışında) bunlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 1).

Zn'nin engelleyici etkisi ise tüm BBR uygulamaları ile değişik derecelerde hafifletilmiştir. Örneğin 5 mM Zn seviyesinde kontrolde 59.7 mg olan taze ağırlık değeri K+G uygulamasıyla 82.9 mg'a ulaşarak yaklaşık %40 oranında iyileşmeye yol açmıştır (Tablo 2). Cd'nin olumsuz etkisini hafifletmede büyüme regülatörlerinden özellikle K ve K+G'nin G uygulamasına göre daha başarılı olduğu ancak G uygulamasının kontrole nazaran olumlu bir etki gösteremediği tespit edilmiştir. 0.5 mM Cd ortamında çimlenen tohumların taze ağırlıkları incelendiğinde K+G uygulamasının kontrole (C) göre yaklaşık %30 oranında bir iyileşmeye neden olduğu Tablo 3'te görülmektedir. Zn ve Cd'nin taze ağırlık üzerindeki

olumsuz etkisinde K ve K+G'nin iyileştirici etkisi daha belirgin olarak görülmüştür.

Üç ağır metal de %FSİ'nin kontrole göre dalgalı bir seyir izlemesine yol açmıştır. Pb içeren ortamlarda gelişen fideliklerin su içeriği yüzdeleri incelendiğinde K uygulamasının %FSİ üzerindeki Pb engellemesini tüm konsantrasyonlarda oldukça hafiflettiği görülmüştür. 3 ve 5 mM Pb düzeyinde bu olumlu etkiye K+G uygulaması da katılmıştır. Örneğin 3 mM Pb düzeyinde BBR uygulanmamış kontrol (C) grubunda %79.0 olan FSİ %'si K uygulaması ile %83.9'a, K+G ile %83.1'e yükselmiş ve bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo 1).

BBR uygulamaları Zn'nin FSİ %'si üzerindeki olumsuz etkisini bir derece hafifletebilmişlerdir. 5mM Zn'de %72 olan C'e ait % FSİ, K, G ve K+G uygulamaları ile sırasıyla istatistiksel olarak önemli bulunan %76.7, %77.5 ve %80.9 değerlerine ulaşmıştır (Tablo 2). Cd ortamında ise taze ağırlık parametresine benzer şekilde % FSİ'de de K ve K+G uygulamalarının G'e göre daha başarılı olduğu görülmüştür. 0.5 mM Cd seviyesinde kontrolde 78.4 olan FSİ %'si K uygulamasıyla %85.3'e ulaşarak %10 civarında artış göstermiştir (Tablo 3). Özetle BBR uygulamaları % FSİ üzerinde çoğunlukla olumlu etki yapmıştır. Cd başta olmak üzere Pb ve Zn'de K ve K+G'nin iyileştirici etkisi çarpıcı şekilde görülmektedir.

Tablo 1. Çeşitli BBR ön uygulamalarından sonra farklı konsantrasyonlardaki kurşun ortamlarında çimlendirilen sorgum tohumlarından çıkan fidelerin 7. gün sonundaki çeşitli büyüme parametreleri

Pb (mM)	Uygulama	7. gün çimlenme yüzdesi (%)	7. gün koleoptil yüzdesi (%)	Radikula uzunluğu (mm)	Koleoptil uzunluğu (mm)	Taze ağırlık (mg/fidecik)	Kuru ağırlık (mg/fidecik)	Fidecik su içeriği %'si (% FSİ)
0.0	C	96.8±1.5 a*	96.0±1.2 a	109.6±3.0 a	63.1±3.0 b	118.1±1.2 ab	15.5±0.2 a	86.9±0.1 a
	K	89.6±0.9 b	88.8±0.8 b	55.7±1.7 c	59.6±1.3 b	111.2±2.3 bc	15.5±0.1 a	86.1±0.1 ab
	G	92.8±1.9 ab	92.8±1.9 ab	102.1±3.9 b	96.0±1.6 a	127.4±1.3 a	16.3±0.2 a	87.2±0.2 a
	K+G	94.4±0.9 ab	94.4±0.9 ab	55.2±1.7 c	59.6±0.5 b	103.0±1.7 c	16.2±0.1 ba	84.3±0.3 b
2.0	C	75.2±5.1 a	75.2±5.1 a	20.5±1.3 a	43.6±1.7 c	83.5±1.9 a	17.0±0.4 a	79.6±0.9 b
	K	79.2±7.2 a	79.2±7.2 a	6.7±0.2 b	56.5±0.3 b	88.5±1.9 a	14.8±0.6 b	83.3±0.6 a
	G	78.3±2.4 a	78.3±2.4 a	8.6±0.7 b	65.4±0.6 a	90.1±1.2 a	17.6±0.4 a	80.5±0.5 ab
	K+G	80.0±3.8 a	80.0±3.7 a	6.8±0.4 b	63.4±0.7 ab	87.4±1.7 a	16.8±0.8 a	80.8±0.7 ab
3.0	C	49.7±2.1 a	49.7±2.1 a	9.2±0.3 a	43.9±1.8 c	78.6±2.1 b	16.5±0.3 ab	79.0±0.8 b
	K	50.0±2.5 a	50.0±2.5 a	6.1±0.3 a	58.1±3.2 b	89.7±3.6 a	14.4±0.1 c	83.9±0.7 a
	G	64.0±4.5 a	64.0±4.5 a	6.6±0.3 a	60.0±1.5 ab	79.6±0.9 b	17.1±0.3 a	78.5±0.6 b
	K+G	46.4±4.6 a	40.8±1.9 a	6.9±0.1 a	66.7±1.3 a	87.5±2.2 ab	14.8±0.3 bc	83.1±0.8 a
5.0	C	20.9±1.7 a	20.9±1.7 a	6.5±0.2 a	44.4±1.4 b	81.5±0.4 a	14.5±0.4 a	82.3±0.5 b
	K	14.4±0.9 a	14.4±0.9 a	6.0±0.2 a	34.1±3.2 c	76.2±1.9 a	11.7±0.6 b	84.7±1.2 ab
	G	24.0±2.2 a	24.0±2.2 a	6.4±0.3 a	62.2±4.0 a	79.6±2.0 a	12.2±0.4 b	84.7±0.2 ab
	K+G	17.6±1.6 a	17.6±1.6 a	7.3±0.2 a	66.5±2.4 a	82.1±7.4 a	12.0±0.9 b	85.4±1.1 a

*Her bir parametre sütununda aynı konsantrasyondaki benzer harflerle gösterilen değerler arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemsizdir (p<0.05).

Tablo 2. Çeşitli BBR ön uygulamalarından sonra farklı konsantrasyonlardaki çinko ortamlarında çimlendirilen sorgum tohumlarından çıkan fidelerin 7. gün sonundaki çeşitli büyüme parametreleri

Zn (mM)	Uygulama	7. gün çimlenme yüzdesi (%)	7. gün koleoptil yüzdesi (%)	Radikula uzunluğu (mm)	Koleoptil uzunluğu (mm)	Taze ağırlık (mg/fidecik)	Kuru ağırlık (mg/fidecik)	Fidecik su içeriği %'si (% FSİ)
0.0	C	96.8±1.5 a*	96.0±1.3 a	109.6±3.1 a	63.1±3.0 b	118.1±1.2 b	15.5±0.3 a	86.9±0.1 a
	K	89.6±0.9 b	88.8±0.8 b	55.7±1.7 c	59.6±1.3 b	111.2±2.3 c	15.5±0.1 a	86.1±0.1 ab
	G	92.8±1.9 ab	92.8±1.9 ab	102.1±3.9 b	96.0±1.6 a	127.4±1.3 a	16.3±0.2 a	87.2±0.2 a
	K+G	94.4±0.9 ab	94.4±0.9 ab	55.2±1.7 c	59.6±0.5 b	103.0±1.7 d	16.2±0.1 ba	84.3±0.3 b
4.0	C	76.0±2.6 b	76.0±2.6 ab	6.1±0.1 a	30.6±1.5 b	76.1±1.3 a	17.8±0.6 a	76.6±0.4 a
	K	73.8±2.6 b	73.8±2.6 b	7.1±0.2 a	46.1±3.9 a	78.5±1.6 a	15.9±0.6 a	79.7±1.0 a
	G	78.7±2.2 ab	78.7±2.2 ab	7.0±0.1 a	46.4±1.6 a	74.2±0.3 a	16.7±0.4 a	77.5±0.4 a
	K+G	86.0±3.5 a	85.3±3.9 a	7.1±0.1 a	52.2±2.7 a	76.7±2.2 a	16.2±0.4 a	78.9±1.1 a
5.0	C	50.5±4.1 b	50.5±4.1 b	5.7±0.0 a	15.7±0.8 c	59.7±1.3 c	16.7±0.3 a	72.0±0.1 c
	K	69.8±3.1 a	69.7±3.1 a	6.1±0.2 a	33.0±1.9 b	73.8±3.1 b	17.2±0.4 a	76.7±1.1 b
	G	70.8±3.1 a	70.8±3.1 a	5.7±0.0 a	51.3±1.7 a	73.8±1.3 b	16.6±0.2 a	77.5±0.2 ab
	K+G	78.3±2.7 a	78.3±2.7 a	7.0±0.5 a	57.9±0.9 a	82.9±0.9 a	15.8±0.6 a	80.9±0.9 a
6.0	C	41.0±3.3 b	40.5±3.5 b	5.2±0.0 a	24.5±0.4 b	63.9±2.1 b	17.5±0.7 a	72.6±2.0 a
	K	68.0±2.1 a	68.0±2.1 a	5.9±0.1 a	39.4±1.3 a	73.8±1.3 a	18.4±0.2 a	75.1±0.5 a
	G	65.7±4.0 a	65.7±4.0 a	5.5±0.1 a	46.4±2.0 a	69.2±1.6 ab	17.7±0.3 a	74.4±0.8 a
	K+G	66.4±3.1 a	66.4±3.1 a	6.1±0.1 a	40.2±1.0 a	73.7±2.5 a	18.0±0.5 a	75.6±1.1 a
7.0	C	38.8±3.3 b	38.8±3.3 b	5.4±0.0 a	17.2±0.7 c	61.2±0.7 b	17.4±0.2 b	71.6±0.4 a
	K	45.1±2.9 b	45.1±2.9 b	5.2±0.0 a	32.5±2.9 b	76.1±2.3 a	21.1±1.3 a	72.3±2.0 a
	G	45.8±4.2 b	45.8±4.2 b	5.2±0.0 a	30.6±1.5 a	62.2±1.2 b	17.4±0.8 b	72.0±1.1 a
	K+G	62.8±3.4 a	62.8±3.4 a	5.6±0.0 a	43.3±0.6 a	65.1±0.3 b	17.1±0.3 b	73.7±0.6 a

*Her bir parametre sütununda aynı konsantrasyondaki benzer harflerle gösterilen değerler arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemsizdir (p<0.05).

Tablo 3. Çeşitli BBR ön uygulamalarından sonra farklı konsantrasyonlardaki kadmiyum ortamlarında çimlendirilen sorgum tohumlarından çıkan fidelerin 7. gün sonundaki çeşitli büyüme parametreleri

Cd (mM)	Uygulama	7. gün çimlenme yüzdesi (%)	7.gün koleoptil yüzdesi (%)	Radikula uzunluğu (mm)	Koleoptil uzunluğu (mm)	Taze ağırlık (mg/fidelik)	Kuru ağırlık (mg/fidelik)	Fidelik su içeriği %'si, (% FSİ)
0.0	C	96.8±1.5 a*	96.0±1.3 a	109.6±3.0 a	63.1±3.0 b	118.1±1.2 b	15.5±0.2 a	86.9±0.1 a
	K	89.6±0.9 b	88.8±0.8 b	55.7±1.7 c	59.6±1.3 b	111.2±2.3 c	15.5±0.1 a	86.1±0.1 ab
	G	92.8±1.9 ab	92.8±1.9 ab	102.1±3.9 b	96.0±1.6 a	127.3±1.3 a	16.2±0.2 a	87.2±0.2 a
	K+G	94.4±0.9 ab	94.4±0.9 ab	55.2±1.7 c	59.6±0.5 b	103.0±1.7 d	16.2±0.1 a	84.3±0.3 b
0.4	C	54.0±3.8 a	54.0±3.8 a	9.4±0.2 a	42.8±0.8 c	82.0±0.6 b	16.9±0.3 a	79.4±0.3 a
	K	64.0±3.4 a	64.0±3.4 a	7.6±0.4 a	53.3±0.7 b	86.5±3.6 b	15.2±0.9 ab	82.4±0.4 a
	G	64.5±3.7 a	64.5±3.7 a	10.0±0.4 a	49.7±1.3 b	75.1±2.0 c	14.5±0.3 b	80.7±0.2 a
	K+G	52.0±4.2 a	52.0±4.2 a	6.9±0.2 a	59.8±0.6 a	90.8±1.9 a	15.8±0.5 ab	82.6±0.3 a
0.5	C	45.3±5.7 ab	45.3±5.7 ab	6.1±0.1 a	34.8±0.6 c	69.9±0.6 b	15.2±0.1 a	78.3±0.1 b
	K	44.6±2.9 ab	44.6±2.9 ab	5.8±0.2 a	50.2±0.3 b	86.1±0.7 a	15.4±0.4 a	82.1±2.4 a
	G	57.1±3.4 a	57.1±3.4 a	7.6±0.3 a	51.1±0.6 b	74.2±1.3 b	15.9±0.7 a	78.6±0.7 b
	K+G	38.4±4.8 b	37.6±4.1 b	5.5±0.1 a	58.6±0.7 a	89.1±0.8 a	14.5±0.7 a	83.7±0.6 a
0.6	C	41.3±4.5 a	41.3±4.5 a	6.2±0.0 a	40.7±0.5 c	80.2±0.9 b	16.9±0.3 a	78.9±0.5 b
	K	34.3±2.3 a	33.1±2.9 ab	5.6±0.2 a	50.0±0.4 b	88.4±1.6 a	15.6±0.5 ab	82.4±0.3 a
	G	39.5±1.8 a	39.5±1.8 ab	6.3±0.1 a	49.9±0.4 b	74.4±0.1 b	15.1±0.3 ab	79.7±0.4 b
	K+G	28.0±4.3 a	28.0±4.3 b	5.5±0.1 a	59.7±1.6 a	88.7±2.6 a	13.9±0.3 b	84.3±0.1 a
0.7	C	32.0±4.7 ab	32.0±4.7 ab	5.8±0.2 a	36.3±0.7 c	72.7±1.0 b	14.0±0.1 a	80.7±0.2 b
	K	22.4±1.2 bc	22.4±1.2 bc	5.5±0.2 a	43.4±1.1 b	83.4±3.1 a	13.3±1.2 a	84.1±0.8 a
	G	41.3±2.9 a	41.3±2.9 a	6.1±0.3 a	45.8±0.2 b	76.3±1.6 b	13.5±0.3 a	82.3±0.8 ab
	K+G	17.1±1.4 c	17.1±1.4 c	5.6±0.2 a	53.7±2.3 a	86.1±1.3 a	14.2±0.7 a	83.5±1.0 a

*Her bir parametre sütununda aynı konsantrasyondaki benzer harflerle gösterilen değerler arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemsizdir (p<0.05).

Cd ağır metali Pb ve Zn'nin neredeyse onda biri konsantrasyonunda kullanılmış olmasına rağmen bütün parametrelerde en olumsuz etkiyi yaparak sorgum tohumları üzerinde en zararlı ağır metal olduğunu göstermiştir. Pb ve Zn'nin etkinlik sırası ise bahsedildiği gibi parametreye göre değişiklik göstermektedir.

4. Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada oldukça yaygın biçimde doğaya bırakılan Pb [Pb(NO₃)₂], Zn [Zn(NO₃)₂.4H₂O] ve Cd [Cd(NO₃)₂.4H₂O]'un sorgum bitkisinin tohum çimlenmesine olumsuz etkilerinin hafifletilmesinde kuraklık, yüksek sıcaklık, tuzluluk stresi gibi pek çok çevresel stresin yenilmesi veya hafifletilmesinde sıklıkla kullanılan gibberellinler grubundan gibberellik asit (GA₃) ve sitokininler grubundan yapay bir sitokinin olan kinetin etkileri test edilmiştir. Bu ağır metaller çimlenmeye çeşitli yollarla ket vurabilir. Bitkinin kökleri ağır metallerle ilk ve en yoğun maruz kalan kısımları olduğundan en hızlı yanıt burada verilir. Kök büyümesinin inhibisyonu beklenildiği üzere her üç ağır metalin de toksik etkilerinin en başta gelen semptomudur [23, 24, 25, 26, 27]. Çalışmamızda her üç ağır metal de kök uzamasını büyük ölçüde engellemişlerdir. Öte yandan gövde inhibisyonunun daha düşük olduğu yönündeki bulgular kök uzamasını engelleyen bu metallerin kökten gövdeye geçişinin engellendiğinin bir işareti olabilir [28].

Pb, Zn ve Cd ortamlarında çimlenen tohumlardan çıkan fidelerin taze ağırlık ve % FSİ değerlerinde azalmalar gözlenmiştir. Bu durum çimlenmenin ilk şartı olan tohumların su alarak şişmesinin her üç ağır metal tarafından engellendiğinin göstergesidir. Bu

engelleme kurşunla, çinkoyle ve kadmiyumla çalışan araştırmacılar tarafından da benzer bulgularla rapor edilmiştir [29, 30, 31].

Yedi günlük çimlenme deneyleri sonucunda fideliklerin kuru ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı olmayan değişikliklerin olması normaldir. Çünkü bu sürede etüvde karanlıkta çimlenen tohumlar fotosentez yapamadığı için herhangi bir kuru madde birikimi olmamış ve kuru ağırlıklarında artış gözlenmemiştir. Her üç ağır metal de taze ağırlığın düşmesine yol açarak FSİ %'sini de azaltmıştır.

Araştırmamızda kullanılan ağır metallerin muhtemelen tohumda içsel artışına neden olduğu ABA'ya karşı antagonist olarak dışarıdan verilen kinetin, GA₃ ve K+G kombinasyonu uygulamalarının % tohum çimlenmesi, koleoptil uzaması, fideliklerin taze ağırlık ve % su içeriği parametreleri üzerinde ağır metallerin yol açtığı indirgeyici etkilerin özellikle Zn ve kısmen de Pb ve Cd stresleri varlığında değişik derecelerde hafifletildiği gözlenmiştir.

Gibberellin yokluğunda çimlenmenin sınırlandığı stres koşullarında miktarı artan içsel ABA'nın etkisini sitokininlerin hafifletemediği ortaya konmuştur [32]. Bu model çalışmamızda elde ettiğimiz G ve K+G uygulamalarının K'ye göre daha pozitif etki gösterdiği bulgusuyla örtüşmektedir.

Gibberellinlerin tohum çimlenmesinde başrol oyuncusu olmalarına karşılık sitokininler çimlenmede ikincil ve izin verici rol oynarlar [33]. Bu yüzden bu hormonların stresin söz konusu olmadığı normal koşullardaki çimlenmede dışarıdan uygulanmalarına gerek yoktur. Ancak çimlenmede

ABA gibi stres kaynaklı inhibitörlerin neden olabileceği engellemeleri kaldırmada/hafifletmede önem teşkil edebilirler. Dolayısıyla çalışmamızda % FSİ'de görülen K ve K+G'nin iyileştirici etkisi tesadüf değildir. K ve K+G'nin tohum çimlenmesi sırasında su alımını arttırdığı ile ilgili bulgularımız bunların taze ağırlık artışı üzerinde pozitif etki yaptıklarını göstermektedir. Su alımındaki artış taze ağırlık artışının bir göstergesidir. GA₃'ün tohum gıda depolarında hidrolitik aktiviteyi artırması [34, 35] sonucu ortaya çıkan monomerler gerek tohumun şişmesini gerekse çimlenme sonucu oluşan fideciğin ortamdaki daha fazla su almasını sağlamak suretiyle taze ağırlık dolayısıyla fide su içeriğini arttırmış ve böylece ağır metallerin su alımını engelleyici etkisini hafifletmiş olabilirler.

GA₃'ün radikula uzamasını teşvik ettiği birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir [36,37]. Bu hormonun uzamayı teşvik edici etkisinin evrensel olduğu [38] kabul edilmesine rağmen çalışmamızda GA₃'ün radikula üzerindeki bu iyileştirici etkisi görülmemektedir. Her ne kadar BBR uygulamaları ağır metallerin radikula uzaması üzerindeki baskısını hafifletmede etkin olamamışlar ise de koleoptil uzaması üzerindeki etkilerinin azalmasında oldukça belirgin biçimde başarılı olmuşlardır. Bu başarı ağır metallerin yukarıda işaret edilen mitotik aktivite, hücre uzaması, DNA duplikasyonu, protein sentezi gibi çimlenme ve büyüme gelişme için gerekli temel olaylar üzerindeki baskılarına karşı GA₃ ve/veya kinetin karşı atak yapmasının bir sonucu olabilir. Ayrıca bu iki büyüme maddesi kombinasyon halinde uygulandığında yukarıda bahsedilen benzer mekanizmalarla bilhassa koleoptil uzaması üzerindeki ağır metal baskısının hafifletilmesinde rol oynamış olabilirler.

Ağır metal stresinin koleoptil uzaması üzerindeki etkilerini hafifletmede kullanılan büyüme regülatörlerinin tamamı başarılı etki yapmış ve en olumlu etkiyi K+G göstermiştir. Adı geçen büyüme regülatörleri (K, G ve K+G) DNA, RNA ve protein sentezini arttırarak [39, 40], su alımını [41] ve mitoz bölünmeyi [42, 43] arttırarak ya da GA₃'ün longitudinal uzamayı teşvik etmesiyle [44, 45] olumlu etkilerini göstermiş olabilirler.

Sonuç olarak ağır metallerin çimlenme üzerinde meydana getirdiği engelleyici etkilerin BBR uygulanarak hafifletilebilmesi muhtemeldir. Bu konunun net olarak açıklığa kavuşturulması için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynakça

[1] Yıldız, N. 2003. Toprak Kirlenici Ağır Metaller ve Toprak Bitki İlişkileri. I. Ulusal Çevre Sempozyumu. Atatürk Üniversitesi Çevre Sorunları Araştırma Merkezi Müdürlüğü, 18-20 Ekim 2002, Erzurum.

- [2] Türkan, İ. ed. 2008. Bitki Fizyolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara, 690 s.
- [3] Yıldız, N. 2004. Toprak ve Bitki Ekosistemindeki Ağır Metaller. ZT-531. Yüksek Lisans Ders Notları. Erzurum.
- [4] Haktanır, K., Arcak, S. 1998. Çevre Kirliliği. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, Ankara, 323s.
- [5] Breckle, S.W. 1989. Growth Under Stres: Heavy Metal In: Plant Roots. The Hidden Half (Eds.), New York, 351-373.
- [6] Kabata-Pendias, A., Pendias, H. 1984. Trace Elements in Soils and in Plants. CRC Pres, Inc., Boca Raton, Florida, 315s.
- [7] Lamhamdi, M., Bakrim, A., Aarab, A., Lafont, R., Sayah, F. 2011. Lead Phytotoxicity and Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seed Germination and Seedlings Growth. *Comptes Rendus Biologies*, 334(2), 118-126.
- [8] Brown, MT., Wilkins, DA. 1986. The Effects of Zinc on Germination, Survival and Growth of *Betula* Seed. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 41 (1), 53-61.
- [9] Khurana, N., Chatterjee, C. 2001. Influence of Variable Zinc on Yield, Oil Content, and Physiology of Sunflower. *Communications in soil Science and Plant Analysis*, 32(19-20), 3023-3030.
- [10] John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., Sharma, S., 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*, 3 (3), 65-76.
- [11] Padmaja, K., Prasad, D.D.K., Prasad, A.R.K., 1990. Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* seedlings by cadmium acetate. *Photosynthetica*, 24, 399-405.
- [12] Thamayanthi, D., Sharavanan, P.S., Vijayaragavan M., 2011. Effect of cadmium on seed germination, growth and pigments content of Zinnia plant. *Current Botany*, 2(8): 08-13.
- [13] Farooq, M.A., Ali, S., Hameed, A., Ishaque, W., Mahmood, K., Iqbal, Z., 2013. Alleviation of cadmium toxicity by silicon is related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes; suppressed cadmium uptake and oxidative stress in cotton. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 96, 242-249.
- [14] Tiryaki, İ. 2005. Sorgum: Genetik Kökeni, Kullanımı, Yetiştirme Teknikleri ve Biyoteknolojik Gelişmeler. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(1), 84-90.
- [15] Kabar, K., Baltepe, S. 1987. Alleviation of Salinity Stress on Germination of Barley Seeds by Plant Growth Regulators. *Doga TU J. Biol.*, 3, 108-117.

- [16] Kaur, S., Gupta, A.K., Kaur, N. 1998. Gibberellin A₃ Reverses the Effect of Salt Stress in Chickpea (*Cicer arietinum*) Seedlings by Enhancing Amylase Activity and Mobilization of Starch in Cotyledons. *Plant Growth Regulation*, 26, 85-90.
- [17] Gulzar, S., Khan, M.A. 2002. Alleviation of Salinity-Induced Dormancy in Perennial Grasses. *Biologia Plantarum*, 45(4), 617-619.
- [18] Gonai, T., Kawahara, S., Tougou, M., Satoh, S., Hashiba, T., Hirai, N., Kawaide, H., Kamiya, Y., Yoshioka, T. 2004. Abscisic Acid in the Thermoinhibition of Lettuce Seed Germination and Enhancement of its Catabolism by Gibberellin. *Journal of Experimental Botany*, 55(394), 111-118.
- [19] Akman, Z. 2009. Comparison of High Temperature Tolerance in Maize, Rice and Sorghum Seeds by Plant Growth Regulators. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(2), 358-361.
- [20] Pospíšilová, J., Synková, H., Rulcová, J. 2000. Cytokinins and Water Stress. *Biologia Plantarum*, 43(3), 321-328.
- [21] Tuna, A.L., Kaya, C., Dikilitas, M., Higgs, D., 2008. The combined effects of gibberellic acid and salinity on some antioxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. *Environmental and Experimental Botany*, 62 (1), 1-9.
- [22] Khan, M.N, Siddiqui, M.H, Mohammad, F., Naeem, M., Khan, M.M.A., 2010. Calcium chloride and gibberellic acid protect Linseed (*Linum usitatissimum* L.) from NaCl stress by inducing antioxidative defence system and osmoprotectant accumulation. *Acta Physiol Plant*, 32:121-132.
- [23] Fargasova, A. 1994. Effect of Pb, Cd, Hg, As and Cr on Germination and Root Growth of *Sinapis alba* Seeds. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52(3), 452-456.
- [24] El -Ghamery, A.A., El-Kholy, M.A., El-Yousser, A. 2003. Evaluation of Cytological Effects of Zn⁺² in Relation to Germination and Root Growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L.. *Mutation Research*, 537(1), 29-41.
- [25] Rout, G.R., Das, P. 2003. Effect of Metal Toxicity on Plant Growth and Metabolism : I. Zinc. *Agronoöie*, 23(1), 3-11.
- [26] Thakur, S., Singh, L., Wahid, Z, Siddiqui, M.F., At Naw, S. M., Md Din, M.F., 2016. Plant-driven removal of heavy metals from soil: uptake, translocation, tolerance mechanism, challenges, and future perspectives. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188:206.
- [27] Sharma, P., Dubey, R.S. 2005. Lead Toxicity in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 35-52.
- [28] Jarvis, SC., Jones, LHP., Hopper, MJ. 1976. Cadmium Uptake From Solution by Plants and its Transport from Roots to Shoots. *Plant and Soil*, 44(1), 179-191.
- [29] Mukherji, S., Maitra, P. 1977. Growth and Metabolism of Germinating Rice (*Oryza sativa* L.) Seeds as Influenced by Toxic Concentrations of Lead. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 81(1), 26-33.
- [30] Muller, H.D., Oorta, F.V., Gélieb, B., Balabanea, M. 2000. Strategies of Heavy Metal Uptake by Three Plant Species Growing Near a Metal Smelter. *Environmental Pollution*, 109(2), 231-238.
- [31] Poschenrieder, Ch., Gunse, B., Barcelo, J. 1989. Influence of Cadmium on Water Relations, Stomatal Resistance and Abscisic Acid Content in Expanding Bean Leaves. *Plant Physiology*, 90, 1365-1371.
- [32] Khan, A. A. 1971. Cytokinins: Permissive Role in Seed Germination. *Science*, 171(3974), 853-859.
- [33] Khan, A.A. 1975. Primary, Preventive and Permissive Role of Hormones in Plant Systems. *Bot. Rev.*, 41, 391-420.
- [34] Akazawa, T., Yamaguchi, J., Hayashi, M. 1990. Rice-Amylase and Gibberellin Action-A Personal View, In: Takahashi N., Phinney B.O. and MacMillan J. Eds, *Gibberellins*, 114-124.
- [35] Bialecka, B., Kepczynski, J. 2003. Regulation of α -Amylase Activity in *Amaranthus Caudatus* Seeds by Methyl Jasmonate, Gibberellin A₃, Benzyladenine and Ethylene. *Plant Growth Regulation*, 39, 51-56.
- [36] Karssen, C.M., 1995. Hormonal regulation of seed development, dormancy, and germination studied by genetic control. In *Seed Development and Germination*, J. Kigel and G. Galili, eds (New York: Marcel Dekker), s. 333-350.
- [37] Sharma AD, Thakur M, Rana M, Singh K (2004). Effect of Plant Growth Hormones and Abiotic Stresses on Germination, Growth and Phosphatase Activities in *Sorghum bicolor* (L.) Moench Seeds. *Afr. J. Biotechnol.*, 3: 308-312.
- [38] Colebrook, E.H., Thomas, S.G., Phillips, A.L., Hedden, P., 2014. The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *Journal of Experimental Biology*, 217, 67-75.
- [39] Srivastava, B.I., Ware, G. 1965. The Effect of Kinetin on Nucleic Acids and Nucleases of Excised Barley Leaves. *Plant Physiology*, 40(1), 62-64.
- [40] Lin, P.P. 1984. Polyamine Metabolism and Relation to Response of the Aleurone Layers of Barley Seeds to Gibberellic Acid. *Plant Physiol*, 74, 975-983.
- [41] Esashi, Y., Okazaki, M., Yanai, N., Hishinuma, K. 1978. Control of the germination of secondary

dormant cocklebur seeds by various germination stimulants. *Plant Cell Physiol.* 19, 1497-1506.

- [42] Guadinova A, Sussenbekova H, Vojtechnova M, Kaminek M, Eder J, Kohout L. 1995. Different effects of two brassinosteroids on growth, auxin and cytokinin concentrations in tobacco callus tissue. *Plant Growth Regulation*, 17, 121-126.
- [43] Khamlichi, C. R., Huntley, R., Jacqmard, A., Murray, JAH. 1999. Cytokinin Activation of Arabidopsis Cell Division Through a D-Type Cyclin. *Science*, 283(5407), 1541-1544.
- [44] Braun, J.W., Khan, A.A. 1976. Alleviation of Salinity and High Temperature Stress by Plant Growth Regulators Permeated into Lettuce Seeds via Acetone. *Journal American Society for Horticultural Science*, 101, 716-721.
- [45] Steffens, G.L., Byun, J.K., Wang, S.Y. 1985. Controlling Plant Growth via the Gibberellin Biosynthesis System-I. Growth Parameter Alterations in Apple Seedlings. *Physiologia Plantarum*, 63(2), 163-168.