

**İSPANAK (*Spinacia oleraceae* L. cv. Gladiatör) BİTKİSİNDE  
PESTİSİTLER VE BİTKİSEL HORMONLARIN KARBONİK ANHİDRAZ  
AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

EFFECTS OF PESTICIDES AND PLANT HORMONES ON CARBONIC ANHYDRASE  
ACTIVITY IN SPINACH (*Spinacia oleraceae* L. cv. Gladiatör)

**Fehmi ODABAŞOĞLU\*    Ö. İrfan KÜFREVİOĞLU\*\***

\*Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, ERZURUM.

\*\*Atatürk Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, ERZURUM.

**ÖZET**

*Bu araştırmada 6-7 haftalık Ispanak (*Spinacia oleraceae* L. cv. Gladiatör) filizleri pestisit, hormon ve pestisit+hormon spreylemesi sonrasında 15 gün büyütüldü ve ekstrakte edilen yapraklarda karbonik anhidraz ( CA ) enzim aktiviteleri tayin edildi. Bulunan CA aktiviteleri kontrol ve muamele edilen bitkilerde karşılaştırıldı..*

*CA aktivitesinin bütün pestisitler tarafından inhibe edildiği belirlendi.  $10^{-11}$  M absisik asit (ABA) ve  $10^{-7}$  M kinetin (KIN) haricinde üç farklı konsantrasyonda uygulanan bütün hormonlar CA aktivitesini azalttı. Pestisitler tarafından meydana getirilen inhibisyon etkisinin ise değişik hormon konsantrasyonları ile ortadan kaldırıldığı belirlendi.*

**Anahtar Kelimeler :** Karbonik anhidraz, pestisitler, bitkisel hormonlar.

**ABSTRACT**

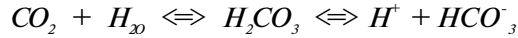
*In this study, the 6-7 weeks old spinach (*Spinacia oleraceae* L. cv. Gladiatör) seedlings were grown up for 15-days after pesticide, hormone and pesticide+hormone had sprayed, and carbonic anhydrase activities were established in the extracted leaves. The established carbonic anhydrase (CA) activities, were compared with treated plants and control plants.*

*We determined that CA activity was inhibited by all pesticides. All hormones which were applied in three different concentrations except  $10^{-10}$  M ABA and  $10^{-7}$  M KIN, decreased the CA activity. It is determined that the inhibition effect made by pesticides, removed with different hormon concentrations.*

*Key Words: Carbonic anhydrase, pesticides, hormones.*

## GİRİŞ

Karbonik anhidraz (=Karbonat hidrolizaz, karbonat dehidrataz EC 4.2.1.1),  $CO_2$ 'nin dönüşümlü hidrasyonunu katalizleyen ve  $Zn^{+2}$  içeren bir enzimdir. Omurgalılarda, omurgasızlarda, yüksek bitkilerde, alglerde ve bazı bakterilerde sürekli olarak bulunur (1). Turnover sayısı en yüksek olan enzimdir (2, 3). Canlılarda aşağıdaki reaksiyonu katalizler;



Karbonik anhidraz (CA), bitkisel dokularda en çok yapraklarda bulunur (4).  $C_3$  tipi fotosentez yapan bitkilerin yapraklarının hücre kloroplastlarında,  $C_4$  tipi fotosentez yapan bitki yapraklarında ise hücre sitoplazmalarında bulunur (5-8). Yapılan araştırmalarda bitki CA'sının çözünür ve bağlı olmak üzere iki formu bulunduğu bildirilmiştir. Çözünür-CA, kloroplast granalarında daha çok bulunurken hücre sitoplazmalarında daha azdır. Buna karşılık bağlı-CA, kloroplast tilakoitlerinde lokalize olmuştur (9-11). Bitkilerde CA'nın fonksiyonu onun lokalizasyonu ile yakından ilişkilidir. Bu lokalizasyona bağlı olarak fotosentezde elektron transportuna katılır ve elektron transport zincirinde (ETZ) elektron vericisi olan  $HCO_3^-$  iyonlarını temin eder (10, 12). Stroma tilakoitlerine bağlı -CA, fotosentez esnasında  $CO_2$  fiksasyonuna katılırken (13, 14), sitoplazmik CA ise  $CO_2$ 'yi transfer ederek hücrede bikarbonat havuzunu devam ettirir (13).

CA aktivitesi üzerine pestisitlerin ve hormonların etkilerinin araştırıldığı çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bir herbisit olan diuronun (13) ve siklohegzimidin (15, 16) CA aktivitesini inhibe ettiği literatürlerde kaydedilmiştir. Ayrıca bitkisel hormonlardan absisik asit(ABA), indol asetik asit(IAA), zeatin ve benzil edeninin CA regülasyonu üzerine etkili oldukları da rapor edilmiştir (16,17).

Bu çalışmada, ürün artışı sağlamak amacıyla tarımsal mücadelede oldukça sık kullanılan pestisitlerin; üretimi artırılmak istenen bitkide CO<sub>2</sub> metabolizmasını etkileyip etkilemeyeceği, olası aksaklıkların ise bitkisel hormonlar tarafından düzeltilip düzeltilemeyeceği araştırıldı. Bu amaçla CO<sub>2</sub> metabolizması üzerinde etkin rol oynayan karbonik anhidraz enzimi üzerinde çalışıldı. Bu araştırma sonuçlarının pestisit ve hormon kullanımına ışık tutacağı inancındayız.

## MATERYAL VE YÖNTEM

Deneylerimizde kullandığımız pestisitlerden deltametrin ve diklofop metil, Hoechst (Agr Evo); siflutrin ve tiram, Bayer; benomil, Gürkim A.Ş.; bitkisel hormonlar, Sigma Chemical Company; diğer kimyasal maddeler Fluka, Sigma ve E. Merc A.G.; ıspanak (*Spinacia oleraceae* L. cv. Gladiatör) tohumları, Asgrow Seed Company'den temin edilmiştir.

**Deney Bitkilerinin Muamele Edilmesi** : Ispanak tohumları, açık araziden temin edilen humusca zengin toprak ve yıkanmış kum (2:1 oranında) karışımına ekilerek sera şartlarında çimlendirildi. Deneylerin ilk serisinde 6-7 haftalık olan çimenlere (5) ticari olarak sebzeler için önerilen dozlarda hazırlanan pestisitler (deltametrin: 12.5 ppm, siflutrin: 25 ppm, benomil: 300 ppm, tiram: 1600 ppm ve diklofop metil: 550 ppm) spreylendi. Deneylerin ikinci serisinde bitkisel hormonlardan absisik asit (ABA), gibberellik asit (GA), indolasetik asit (IAA) ve kinetin (KIN) üç farklı konsantrasyonda ( $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$  ve  $10^{-11}$  M) spreylendi. Deneylerin üçüncü serisinde ise birinci seride uygulanan konsantrasyondaki pestisit çözeltilerine ayrı ayrı olmak üzere son konsantrasyonları  $10^{-8}$  M ABA ve  $10^{-7}$  M GA, IAA, KIN olacak şekilde ilave edilerek spreylendi. Çözeltiler, % 0.01 oranında tween-80 ilave edilerek hazırlandı ve spreylemeye yapraklardan damlayıncaya kadar devam edildi (18). Muamelenin 15. gününde yapraklar kesilerek alüminyum poşetlere 0.5 g tartıldıktan sonra sıvı azot (-60, -70 °C) içerisinde dondurulup -30 °C'ta deneyler yapıncaya kadar saklandı. Bütün kesme ve tartma işlemleri mümkün olduğunca kısa zaman aralığında gerçekleştirildi (en fazla 30 dakika) ve bütün deney serilerinde bir grup kontrol olarak ayrılıp bu gruba yalnızca su verildi.

**Ekstrakt Hazırlanması ve Aktivite Tayini** : 1 g yaprak soğuk havan içerisinde bir havan eli yardımıyla övütüldü. Övütülerek un haline getirilen yaprak örnekleri üzerine 0.001 M EDTA, 0.005 M 2-Merkaptoetanol içeren 0.025 M veronal tamponundan (pH=8.2) 5 ml ilave edilerek

örnekler tampona alındı. 15000 x g'de 4 °C'ta 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar ayrı ayrı tüplere alınarak ağızları kapatıldı ve aktivite ölçümü yapılmaya kadar 0-4 °C'ta saklandı (5, 19-21).

CA Aktivitesi, "CO<sub>2</sub>-hidrataz aktivitesi" ölçülmek suretiyle belirlendi. Bu metod çalışmamızda, Wilbur-Anderson Yönteminin (Wilbur ve Anderson, 1948) Rickli ve ark. (1964) tarafından modifiye edildiği şekilde uygulandı (22, 23). Aktivite tayin işlemlerinde şu prosedür takip edildi: 0.025 M veronal tamponundan (pH = 8.2) 2 ml, %0.04'lük brom timol mavisi çözeltisinden 0.2 ml alınarak karıştırıldı. Bu karışıma enzim ekstraktından 0.2 ml ve doygün CO<sub>2</sub> çözeltisinden 2 ml ilave edildi. CO<sub>2</sub> çözeltisi katıldığı andan itibaren indikatörün mavi renginin sarımsı yeşil renge dönüşmesi (pH = 6.3) için geçen süre (tc) belirlendi. Aynı süre enzim ekstraktı olmaksızında belirlendi (to). Enzim ünitesi (EÜ), 10 (tc/to) - 1 formülünden hesaplandı (21) ve seyrelme faktörü olan 5 ile çarpılarak EÜ/g yaprak olarak ifade edildi. Kontrol grubu ve muamele grupları için 3 tekerrür ile sonuçlar verildi. Bütün veriler Minitab Paket Programı ile teste tabii tutularak ortalama, SS ve P değerleri tespit edildi.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu araştırmada 6-7 haftalık ıspanak çimenleri, pestisitler ve bitkisel hormonlar ile muamel edilmiş ve karbonik anhidraz enzim aktiviteleri tayin edilmiştir. Muamele edilen bitkilerden ve kontrol bitkilerden elde edilen veriler Tablo 1-3'te sunulmuştur.

Çeşitli pestisit gruplarına ait 5 farklı pestisit (insektisitler: Deltametrin, siflutrin; fungusitler: Benomil ve tiram; herbisit: Diklofop metil) CA aktivitesi üzerine etkilerini gösteren sonuçlar Tablo 1'de gösterildi. Elde edilen verilerden, bütün pestisitlerin değişen oranlarda CA aktivitesini azalttığı tespit edildi. Bu sonuçlara göre bir insektisit olan deltametrin'in ve bir fungusit olan tiram'ın çok önemli oranda (P<0.01) aktiviteyi azalttığı sonucuna varıldı.

**Tablo 1.** Karbonik anhidraz enziminin aktivitesi üzerine pestisitlerin etkisini gösteren sonuçlar.

Pestisitler		CA aktivitesi (EÜ/g yaprak)	
		Ort.	%
İnsektisitler	Deltametrin	141.7 ± 7.5 **	57.7
	Siflutrin	180.0 ± 19,5	73.4
Fungusitler	Benomil	208.3 ± 14,4	85.0
	Tiram	42.3 ± 4.0 **	17,3
Herbisit	Diklofop	154.0+ 19,3	62.9
<b>KONTROL</b>		<b>235.0 ± 17,3</b>	<b>100.0</b>

P>0.05(önemsiz), \*\*P<0.01(çok önemli)

Araştırmamızda bitkisel hormonlar (büyüme engelleyici hormonlardan: Absisik asit (ABA); büyüme teşvik eden hormonlardan: GA, IAA ve KIN  $10^{-7}$ ,  $10^{-9}$  ve  $10^{-9}$  M konsantrasyonlarında uygulandı. Bitkisel hormonlar ile muameleye ilişkin veriler Tablo 2'de sunuldu.

Tablo 2'de sunulan veriler, ABA'nın  $10^{-7}$  ve  $10^{-9}$  M konsantrasyonunda önemsiz ( $P>0.05$ ) bir inhibisyona sebep olduğunu,  $10^{-11}$  M'da ise aktiviteyi etkilemediğini; GA'nın  $10^{-7}$  ve  $10^{-9}$  M konsantrasyonda önemli ( $P<0.05$ ),  $10^{-9}$  M'da ise önemsiz ( $P>0.05$ ) bir inhibisyona sebep olduğunu; IAA'nın bütün konsantrasyonlarda aktiviteyi azalttığını ve bu azalmanın seyren konsantrasyona paralel olduğunu; KIN'in  $10^{-7}$  ve  $10^{-9}$  M konsantrasyonda aktiviteyi etkilemezken,  $10^{-11}$  M'da aktiviteyi önemsiz oranda azalttığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre: ABA'nın seyreltik konsantrasyonda; GA, IAA ve KIN'in ise düşük konsantrasyonlarda aktivite üzerinde daha az etkili oldukları sonucuna varıldı.

**Tablo 2.** Karbonik anhidraz enziminin aktivitesi üzerine bitkisel hormonların etkisini gösteren sonuçlar.

Hormon	Konsantrasyonları	CA aktivitesi (E Ü/g yaprak)	
		Ort.	%
ABA	10-7 M	142 ± 16.5	88.9
	10-9 M	135 ± 14.5	84.4
	10-11 M	162 ± 10.4	101.2
GA	10-7 M	105 ± 14.7 *	66.0
	10-9 M	133 ± 17.9	83.4
	10-11 M	104 ± 2.3 *	65.3
IAA	10-7 M	137 ± 5.8 *	85.5
	10-9 M	132 ± 8.1 *	82.8
	10-11 M	122 ± 6.9 *	76.4
KIN	10-7 M	164 ± 12.0	102.5
	10-9 M	159 ± 0.0	99.3
	10-11 M	135 ± 8,7	84.5
<b>KONTROL</b>		<b>160 ± 10.4</b>	<b>100.0</b>

P>0.05(önemsiz), \*P<0.05(önemli)

Pestisitler ile birlikte ABA 10-11 M; GA, IAA ve KIN 10<sup>-7</sup> M konsantrasyonlarda uygulandı. Sonuçlar Tablo 3'te gösterildi. Pestisitler ile birlikte uygulanan ABA, tüm muamelelerde %22-55 oranında inhibisyona sebep olurken GA, bütün muamelelerde % 19-49 oranında bir inhibisyona sebep oldu. IAA; insektisit siflutrin ve herbisit diklofop ile birlikte uygulandığında %24 oranında aktiviteyi azaltırken fungusit tiram ile birlikte %5, insektisit deltametrin ile birlikte %15.1 ve fungusit benomil ile birlikte %98 oranında CA aktivitesini arttırdı. Diğer taraftan KIN, bütün muamelelerde %4-49 oranında aktiviteyi azaltırken insektisit deltamethrin (%6) ve fungusit benomyl (%4) ile birlikte uygulandığında meydana gelen inhibisyonun önemsiz (P>0.05) olduğu tespit edildi.

**Tablo 3.** Pestisitler ile birlikte uygulanan bitkisel hormonların karbonik anhidraz aktivitesi üzerine etkileri.

Hormon+Pestisit Muamelesi			CA aktivitesi (EÜ/g yaprak)	
			Ort.	%
ABA+	İnsektisitler	Deltametrin	380 ± 0.0	77.7
		Siflutrin	308 ± 0.00*	63.0
	Fungusitler	Benonil	219 ± 17.9**	44.8
		Tiram	141 ± 10.4 **	28,9
	Herbisit	Diklofop	233 ± 15.0 **	47.7
KONTROL			488 ± 44.5	100.0
GA+	İnsektisitler	Deltametrin	154 ± 0.0	73.7
		Siflutrin	170 ± 13,5	81.1
	Fungusitler	Benomil	127 ± 20.5*	60.8
		Tiram	151 ± 18,8	72.2
	Herbisit	Diklofop	107 ± 11.0*	51.0
KONTROL			209 ± 27,1	100.0
IAA+	İnsektisitler	Deltametrin	388 ± 1.00**	115.1
		Siflutrin	257 ± 16.17**	76.2
	Fungusitler	Benomil	669 ± 70.40**	198.5
		Tiram	355 ± 1.00**	105.3
	Herbisit	Diklofop	259 ± 1.00**	76.8
KONTROL			337 ± 0.58	100.0
KIN+	İnsektisitler	Deltametrin	318 ± 26,6	94.4
		Siflutrin	180 ± 20.2 *	53.4
	Fungusitler	Benomil	321 ± 28,3	95.2
		Tiram	238 ± 32.9 *	70.6
	Herbisit	Diklofop	172 ± 17.5 **	51.0
KONTROL			337 ± 0.0	100.0

P>0.05(önemsiz), \*P<0.05(önemli), \*\*P<0.01(çok önemli)

Bu araştırmada uygulanan bütün pestisitlerin karbonik anhidraz aktivitesini değişen oranlarda inhibe ettikleri belirlendi (Tablo 1). Pestisitler içerisinde bir fungusit olan tiramın en yüksek oranda, insektisitlerden deltametrin ve siflutrin ile herbisit diklofop'un değişen oranlarda ve fungusit benomylin en düşük oranda aktiviteyi azalttığı tespit edildi.

Karbonik anhidraz aktivitesi üzerine etkilerini araştırdığımız pestisitler ile ilgili olan çalışmaların yapıldığı literatür kayıtlarına rastlanmamıştır. Ancak fotosentez inhibitörleri siklohegzimid ve kloramfenikol (16) ve herbisit diuron (13) ile bezelye yapraklarının; bir herbisit olan atrazin (24) ile karanlıkta mısır yapraklarının muamele edilmesi sonucunda CA aktivitesinin azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca bir insektisit olan siflutrinin sığır (BCA) ve insan CA izoenzimleri (CAI ve CAII) üzerine *in vitro* inhibisyon etkisi gösterdiği literatürlerde kayıtlıdır (25). Bulgularımız, uygulanan pestisitlerin CA aktivitesini inhibe etmek suretiyle dolaylı yoldan fotosentez üzerinde olumsuz etkiye sahip olabileceklerine işaret etmektedir. Zira CA, fotosentezin ışık reaksiyonlarına katılır (26) ve spesifik inhibitörleri fotosentezi de inhibe eder (21, 26, 27). Diğer yandan uygulanan pestisitlerin herbirinin farklı kimyasal yapıya sahip olması nedeniyle CA aktivitesini değiştiren oranlarda inhibe ettikleri kanaatindeyiz.

Araştırmamızda bitkisel hormonlardan ABA, GA, IAA ve KIN üç farklı konsantrasyonda uygulandı. Hormonlardan yalnızca ABA'nın seyreltik ( $10^{-11}$  M) ve KIN'in derişik (10) konsantrasyonda CA aktivitesini etkilemezken diğer bütün konsantrasyonlarda uygulandıklarında CA aktivitesini azalttıkları tespit edildi (Tablo 2). Bizim ABA ve IAA ile ilgili bulgularımız Sugiharto ve ark. (1992)'nin mısırdaki yaptıkları çalışmadan elde ettikleri bulgular ile benzerlik göstermektedir (17). Bu araştırmacılar, ABA ve IAA'nın karbonik anhidraz mRNA'sını bir miktar azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışma ışığında ABA ve IAA'nın, DNA'dan mRNA sentezini engellemek suretiyle CA aktivitesini azalttıkları söylenebilir.

Araştırmamızın son bölümünde  $10^{-11}$  M ABA;  $10^{-7}$  M GA, IAA ve KIN hormonları pestisitler ile birlikte ıspanak çimenlerine spreylendi. ABA, pestisitlerin azalttığı CA aktivitesini deltametrin haricinde daha da azalttı. GA, tiramın azalttığı CA aktivitesini 4 kat arttırmasına rağmen artış kontrol seviyesine ulaşmadı. IAA; deltametrin, benomil ve tiram tarafından azaltılan CA aktivitesini arttırarak kontrol seviyesinin üzerine çıkarırken KIN'm de IAA'ya benzer etki gösterdiği tespit edildi (Tablo 3). Fotosentez inhibitörlerinden siklohegzimid ile muamele edilen bezelye yapraklarında meydana gelen CA inhibisyonunun ABA muamelesi ile çok az miktarda kontrole yaklaştığı, fakat kloramfenikol ile muamele edilen yapraklarda CA aktivitesinin ABA vasıtasıyla azaldığı literatürlerde kaydedilmiştir (16). Tiram ve deltametrin tarafından meydana getirilen CA inhibisyonunun pestisitler ile birlikte uygulanan bütün hormonlar tarafından azalması, buna mukabil  $10^{-7}$  M IAA tarafından kontrol seviyesine gelmesi, bu araştırmanın en dikkate değer sonucudur.



Bu araştırmaya dayanarak, insektisitlerden deltametrinin ve fungusitlerden tiramın tarımsal alanlarda kullanımını esnasında  $10^{-7}$  M IAA ile birlikte kullanımının faydalı olacağını öneriyoruz. Mısır CA'sı üzerindeki regüle edici etkisi göz önüne alınarak zeatin (17) hormonunun ispanakta pestisitler ile birlikte uygulanarak CA aktivitelerinin belirlenmesi ile hem daha olumlu neticeler alınabileceğini, hem de CA regülasyonunun aydınlatılması ile ilgili önemli bir mesafe alınacağını düşünüyörüz.

### KAYNAKLAR

1. **Johansson, I. and Forsman, C.** "Kinetic studies of pea carbonic anhydrase" *Eur. J. Biochem.*, 218: 439-446, (1993).
2. **Fridlyand, L.E. and Kaler, V.L.** "Possible CO<sub>2</sub> concentrating mechanism in chloroplasts of C<sub>3</sub> plants" *Gen. Physiol. Biophys.*, 6: 617-636, (1987).
3. **Keha, E.E. ve Küfrevioğlu, Ö.İ.** *Biyokimya*, "Enzimler", Derya Kitabevi, 3.Baskı, Trabzon,(1997).
4. **Majeau, N. and Coleman, J.R.** "Correlation of carbonic anhydrase and ribulose -1.5-bisphosphate carboxylase / oxygenase expression in pea" *Plant Physiol.*, 104: 1393-1399, (1994).
5. **Poincelot, R.P.** "Intracellular distribution of carbonic anhydrase in spinach leaves" *Biochim. Biophys. Acta*, 258: 637-642, (1972).
6. **Reed, M.L.** "Intracellular location of carbonat dehydratase (carbonic anhydrase) in leaf tissue" *Plant Physiol.*, 63: 216-217, (1979).
7. **Yagawa, Y., Muto, S. and Miyachi, S.** "Carbonic anhydrase of a unicellular red alga *Porphyridium cruentum* R-1" *Plant Cell Physiol.*, 28 (8): 1509-1516, (1987).
8. **Majeau, N. and Coleman, J.R.** "Isolation and characterization of a cDNA coding for pea chloroplastic carbonic anhydrase" *Plant Physiol.*, 95: 264-268, (1991).
9. **Kachru, R.B. and Anderson, L.E.** "Chloroplast and cytoplasmic enzymes" *Planta*, 118: 235-240,(1974).
10. **Lazova, G.** "Influence of electron transport inhibitors (DCMU and hydroxylamine) on the carbonic anhydrase activity in green pea plants" *Comptes Rendus de l'Academie Bulgar e des Sciences*, 46 (3): 99-102, (1993).

11. **Williams, T.G. and Colman, B.** "Identification of distinct internal and external isozymes of carbonic anhydrase in *Chlorella saccharophila*" *Plant Physiol.*, 103: 943-948, (1993).
12. **Vaklinova, S.G., Goushtina, L.M. and Lazova, G.N.** "The role of carbonic anhydrase in the electron transport during photosynthesis" *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 37 (5): 677-680, (1984).
13. **Vaklinova, S.G., Goushtina, L.M. and Lazova, G.N.** "Carboanhydrase activity in chloroplasts and chloroplast fragments" *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 35 (12): 1721-1724, (1982).
14. **Pesheva, I.S., Vassileva, V.S., Dimitrova, A.P., Lazova, G.V. and Vaklinova, S.G.** "Photosynthesis and activity of some photosynthetic enzymes in *Chlorella* and *Scenedesmus* adapted to different CO<sub>2</sub> concentrations" *Comptes Rendus l'Academie Bulgare des Sciences*, 41 (7): 91-94, (1988).
15. **Spencer, K.G., Kimpel, D.L., Fisher, M.L., Togasaki, R.K. and Miyachi, S.** "Carbonic anhydrase in *Chlamydomonas reinhardtii* II" *Plant & Cell Physiol.*, 24(2):301-304, (1983).
16. **Lazova, G.N. and Popova, L.P.** "Effect of abscisic acid and jasmonic acid on carbonic anhydrase activity of etiolated pea seedlings treated with cycloheximide and chloramphenicol" *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences*, 46 (1): 101-104, (1993).
17. **Sugiharto, B., Burnell, J.N. and Sugiyama, T.** "Cytokinins is required to induce the nitrogen-dependent accumulation of mRNAs for phosphoenolpyruvate carboxylase and carbonic anhydrase in detached maize leaves" *Plant Physiol.*, 100: 153-156, (1992).
18. **Kocaçalışkan, İ. and Kabar, K.** "Effect of salinity on polyphenol oxidase during seed germination" *Doğa-Tr. J. of Botany*, 15: 41-49, (1990).
19. **Atkins, C.A., Patterson, B.D. and Graham, D.** "Plant carbonic anhydrases I, II" *Plant Physiol.*, 50: 214-223, (1972).
20. **Rathnam, C.K.M. and Das, V.S.R.** "Inter-and intracellular distribution of carbonic anhydrase, PEP-carboxylase and RuDP-carboxylase in leaves of *Eleusine coracana*, AC-4 plant" *Z. Pflanzenphysiol.*, 75: 360-364, (1975).

21. **Newman, J.R. and Rawen, J.A.** "Carbonic anhydrase in *Ranunculus penicillatus* spp. pseudofluitans: activity, location and implications for carbon assimilation" *Plant, Cell and Environment*, 16: 491-500, (1993).
22. **Wilbur, K.M. and Anderson, N.G.** "Electrometric and colorimetric determination of carbonic anhydrase" *J. Biol. Chem.*, 176: 147-154, (1948).
23. **Rickly, E.E., Ghanzanfar, S.A.S., Gibbons, B.H. and Edsall, J.T.** "Carbonic anhydrases from human erythrocytes. Preparations and properties of two enzymes" *J. Biol. Chem.*, 239: 1065-1078, (1964).
24. **Stemler, A.** "Carbonic anhydrase associated with thylakoids and Photosystem II particles from maize" *Biochim. Biophys. Acta.*, 850: 97-107, (1986).
25. **Çelik, İ., Çamaş, H., Arslan, O. and Küfrevioğlu, Ö.İ.** "Effect of some pesticides on human and bovine erythrocyte carbonic anhydrase enzyme activities in vitro" *J. Environ. Sci. Health, A* 31: 2651-2657, (1996).
26. **Lazova, G.** "Influence of bicarbonate ions and electron transport inhibitors (DCMU and hydroxylamine) on the carbonic anhydrase activity and Hill's Reaction in intact chloroplasts and thylakoid membranes enriched with PS II" *Comptes Rendus l'Academei Bulgar e des Sciences*, 46 (4): 101-104, (1993).
27. **Randal, P.J. and Bouma, D.** "Zinc deficiency, carbonic anhydrase, and photosynthesis in leaves of spinach" *Plant Physiol.*, 52 : 229-232, (1973).

**Başyuru Tarihi: 25.07.2001**

**Kabul Tarihi: 20.10.2001**