

PAPER DETAILS

TITLE: Misir (Zea mays L.) Fidelerinde Kadmiyum Toksisitesi ile Nitrik Oksit Arasindaki
Biyokimyasal Iliskiler

AUTHORS: Songül ÇANAKCI GÜLENGÜL,Didem DEVECİ,Fadime KARABULUT

PAGES: 376-386

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/746801>

Araştırma Makalesi / Research Article

Mısır (*Zea mays* L.) Fidelerinde Kadmiyum Toksisitesi ile Nitrik Oksit Arasındaki Biyokimyasal İlişkiler

Songül ÇANAKCI-GÜLENGÜL*, Didem DEVECİ, Fadime KARABULUT

Fırat Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ

(ORCID: 0000-0002-5731-6175) (ORCID: 0000-0001-8176-8203) (ORCID: 0000-0001-5186-2303)

Öz

Bu çalışmada, 15 günlük mısır (*Zea mays* L.) fidelerine, önceden farklı sodyum nitroprusid (SNP) (25 ve 50 µM) konsantrasyonları uygulandıktan sonra, bu fidelerin farklı kadmiyum (25,50 ve 75 µM) konsantrasyonlarına karşı verdiği biyokimyasal cevaplar araştırıldı. Fidelere yapılan tüm uygulamalar hidroponik ortamda uygulandı. Kadmiyum (Cd) uygulanan mısır fidelerinin köklerinde ve yapraklarında SNP ön uygulamasız fidelerde, kontrole kıyasla okside glutatyon (GSSG) ve redükte glutatyon (GSH) miktarlarında artma ve SNP ön uygulamalı fidelerde ise azalma tespit edildi. Fidelere uygulanan kadmiyum konsantrasyonları arttıkça, hem SNP ön uygulamasız, hem de SNP ön uygulamalı fidelerde kontrol grubu fidelerine kıyasla 16:0 (palmitik asit) yapraklarda ve köklerde artmıştır. Tek başına SNP uygulamalarında, 16:0 üzerinde kontrole kıyasla, 50 µM SNP daha az bulunmuştur. Cd uygulamaları ile SNP ön uygulamasız ve SNP ön uygulamalı fidelerde 16:1 (palmioleik asit) yapraklarda genel olarak artarken, bazı konsantrasyonlarda SNP ön uygulamasıyla bu artış hafifletilmiştir. Cd uygulamaları ile SNP ön uygulamasız ve SNP ön uygulamalı fidelerde 18:0 (stearik asit) köklerde ve 18:2 (linoleik asit) kök ve yapraklarda artmıştır. Cd uygulamaları ile SNP ön uygulamasız fidelerde 18:3 (linolenik asit) yaprakta azalırken; SNP ön uygulamalı bazı fidelerde ise 18:3 miktarı yapraklarda artmıştır. Genel olarak 50 µM SNP ön uygulamasının Cd toksisitesini baskılama da 25 µM SNP' den daha başarılı bulundu.

Anahtar kelimeler: Mısır (*Zea mays* L.), SNP, Nitrik oksit, Kadmiyum toksisitesi.

Investigation of The Relationship Between Cadmium's Toxicity and Nitric Oxide in Corn (*Zea mays* L.) Plants

Abstract

In this study, after 15 day old corn (*Zea mays* L.) seedlings apply firstly to different concentrations (25 and 50 µM) of sodium nitroprusside (SNP), biochemical responses of these seedlings to different concentrations (25, 50 and 75 µM) of cadmium are examined. All applications made to seedlings were in hydroponic surroundings. In the amount of reduced glutathione (GSH) and oxide glutathione (GSSG) were increased in the roots and shoots of cadmium (Cd)-administered corn seedlings in SNP non-pretreatment seedlings once compared to the control and they was decreased in SNP pretreatment seedlings. As the cadmium concentrations applied to the seedlings increased both the SNP non-pretreatment and the SNP pretreatment seedlings, 16:0 (palmitic acid) increased in the roots and shoots once compared to the control group seedlings. Only In SNP applications was found less than 50 µM SNP at 16:0 once compared to control. With Cd applications, SNP non-pretreatment and SNP pretreatment seedlings generally increased at 16:1 (palmioleic acid) shoots, while at some concentrations this increase was alleviated by pretreatment of SNP. With Cd applications, the 18:0 (stearic acid) increased in roots and the 18:2 (linoleic acid) increased in shoots and roots; at the SNP non-pretreatment and the SNP pretreatment seedlings. With Cd applications, 18:3 (linolenic acid) decreased in shoots in the SNP non-pretreatment shoots; in some the SNP pretreatment seedlings, 18:3 increased by an amount of shoots. In general, 50 µM SNP pretreatment was found more successful than 25 µM SNP in suppressing Cd toxicity.

Keywords: Corn (*Zea mays* L.), SNP, Nitric oxide, Cadmium toxicity.

*Sorumlu yazar: scanakci77@gmail.com

Geliş Tarihi: 12.09.2018, Kabul Tarihi: 04.01.2019

1. Giriş

Ağır metaller, ekolojik dengeyi bozan, canlı büyüme ve gelişimini önemli ölçüde zarara uğratan ve çevreyi kirleten temel sebeplerden biridir [1]. Birçok kirlenmede olduğu gibi ağır metal kirlenmesinde de öncelikle etkilenen grup bitkilerdir [2]. Kadmiyum toprakta hareketli bir elementtir ve bitkiler tarafından kolaylıkla alınabilir [3]. NO (nitrik oksit) düşük molekül ağırlığına sahip olup, lipofilik özellikte olduğundan dolayı hücre membranlarından kolayca difüzyona uğrayabilmektedir. Ayrıca çiftlenmemiş elektron taşıması nedeniyle serbest radikal olarak kabul edilir. NO diğer moleküllerle kuvvetli reaksiyonlara girebilen, birkaç saniye yarı ömrü olan fizyolojik haberci molekül olarak da tanımlanmaktadır [4], [5]. Genellikle bitkiye eksojen olarak uygulanan sodyum nitropurissid (SNP) ve sodyum-nitroso-N-asetil-penisilamin (SNAP), hücre için enzimatik olmayan NO vericileridir [6]. Nitrik oksit (NO), bir azot atomu ve oksijen atomunun birleşmesiyle oluşan, hem suda hem de yağda erime özelliğine sahip, renksiz, gaz yapıda bir moleküldür. Dış yörüngesinde paylaşılmamış bir elektron içermesi nedeniyle NO hem radikal özelliği kazanmakta hem de membranlardan kolaylıkla difüzyon edebilmektedir [7]. Nitrik oksit, oldukça önemli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen nitrojen merkezli bir radikaldir. Paylaşılmamış elektron aslında nitrojen atomuna ait ise de, bu elektronun hem nitrojen hem de oksijen atomu üzerinde delokalize olması nedeniyle tam radikal özelliği taşımamaktadır. Bunun sonucu olarak, bilinen diğer radikallere göre reaktivitesi baskılandığından, oldukça uzun ömürlü bir radikaldir [8]. Ağır metallerden biri olan Kadmiyum (Cd), çevre kirliliğindeki önemli bir unsur olarak gündeme gelmiş bir metaldir [9]. Kadmiyum (Cd) gümüş beyazı renginde bir metaldir ve havada hızla kadmiyum oksite dönüşür. Kadmiyum sülfat, kadmiyum nitrat, kadmiyum klorür gibi inorganik tuzları suda çözünür [10]. Kadmiyum normalde topraklarda düşük konsantrasyonlarda bulunan toksik bir elementtir. Kadmiyumun tarım topraklarında bulunması ana metal kaynaklı olabileceği gibi endüstriyel faaliyetler, fosforlu gübreler, lağım atıkları ve atmosferik depozitler gibi insan faaliyetleri sonucunda da olabilir [11]. İnsan faaliyetleri sonucu toprağa ulaşan Cd'nin % 54-58' i fosforlu gübrelerden, % 2-5' i atık çamur ve çiftlik gübresi uygulamalarından, % 39-41' i ise atmosferik depolanmadan kaynaklanmaktadır [12]. Kadmiyum, bitkilerde strese sebep olan en yıkıcı ağır metallerden birisidir [13]. Aslında kadmiyum biyolojik fonksiyonlar açısından bitkiler için gerekli bir element değildir [14]. İnsan, hayvan ve bitkiler için toksiktir. Diğer ağır metallere göre çok daha fazla (2-20 kat) toksik etkiye sahiptir. Kadmiyum toprakta hareketli bir elementtir ve bitkiler tarafından kolaylıkla alınabilir [3]. Cd (kadmiyum), Cr (krom), Cu (bakır), Ni (nikel) ve Zn (çinko) gibi topraktaki bazı ağır metallerin yüksek konsantrasyonları doğal su ve karasal ekosistemlerinin bozulmasına neden olmaktadır. Bitkiler için bazı ağır metaller düşük konsantrasyonlarda önemli mikro besin elementlerdir. Ancak bunların yüksek konsantrasyonları çoğunlukla bitki türlerinin büyümesini engeller, bu da metabolik düzensizliğe sebep olmaktadır. Bazı araştırmacılar, metal zengini topraklarda yetişen bazı bitki türlerinin endemik olduğunu ve toksik dozlardan daha fazlasını tolere edebildiğini bildirmişlerdir [9]. Bu akümülatör bitkiler ağır metalleri inaktif formda biriktirmekte ve bazı özel enzimlerle beraber kendi yaşamsal faaliyetlerini düzenlemektedirler [15]. Ağır metallerin genel olarak bitkilerdeki toksisitesi yaprakta klorozis ve nekrozis oluşumu, kök ve gövde kısımlarının deformasyonu gibi etkiler görülebilmektedir [16].

Bitkiler, ağır metallerin zararlarını tolere edebilecek; ağır metalotiyenin, aminoasit, ferritin, ve fitokelatin gibi moleküllerle kompleks yapılar yaparak hücre duvarları ve vakuol gibi metabolik yollardan uzak bölgelerde biriktirme, antioksidan enzim aktivitelerinin ve antioksidan moleküllerinin miktarlarının artırılması ve hücre membranlarının onarılması gibi birçok savunma mekanizmalarının olduğu belirtilmiştir [17, 18, 19, 20, 21]. Bir diğer çalışmada, çözünebilir seviyelerde prolin, toplam fenol, GSH ve GSH / GSSG oranı, soğuk stresi altında SNP varlığında belirgin bir şekilde artmıştır [22]. Fasulye (*Vigna radiata* L. cv. BARI Mung-2) fidelerine 5. gün nitrik oksit (SNP 1 mM) ve Cd (CdCl₂ 1.5 mM), 6. gün Cd uygulandı. Fasulye fidelerinin köklerinde ve yapraklarında, Cd stresi altında GSH/GSSG oranı azaldı, MDA (malondialdehit), GSH, GSSG ve prolin içeriğinin arttığı tespit edildi [23]. Soya fasulyesinin hücre süspansiyon kültüründe NO' nun Cd uygulanmasına karşı koruyucu etki göstermiştir. SNP' nin, *Lupinus luteus* L. (acı bakla) köklerinde hücre bölünmesi üzerine ağır metallerin (PbCl₂ ve CdCl₂) inhibitör etkisini azalttığı görülmüştür [24]. Benzer sonuçlar SNP (50 µmol/L)'ye bağlı olarak, kadmiyum (10, 30, 50, 100, 200 ve 500 µmol/L) stresi altındaki pirinç fidelerinde de tespit edilmiştir. Ayrıca tohum çimlenmesi üzerinde de Cd'nin yol açtığı inhibitör etkiyi, SNP' nin azalttığı tespit edilmiştir [25]. 0.2 mmol/L CdCl₂' ye maruz bırakılan pirinç fidelerine farklı (0.05, 0.1, 0.2 ve 0.4

mmol/L) SNP konsantrasyonları uygulanmıştır. SNP muamelesi ile bitkideki MDA oranı azalmış ve konsantrasyon artışına paralel olarak GSH miktarındaki artışın inhibe edildiği rapor edilmiştir [26]. Ayçiçeği yapraklarında yapılan bir çalışmada NO' nun kadmiyum stresine karşı koruyucu rol oynadığı tespit edilmiştir. 100 µM SNP uygulanan ayçiçeği fidelerinde GSH içeriği kontrole çok yakın olarak bulunmuştur. Aynı şekilde farklı konsantrasyonlarda SNP ve Cd uygulanan ayçiçeği fidelerinde GSH içeriğinde kontrole oranla çok az bir düşüş meydana geldiği görülmüştür [14]. Köpek dişi ayrığı (*Cynodon dactylon*) fidelerinde yapılan bir çalışmada; SNP' nin (250 µM), Cd (750 µM) toksisitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Yalnız SNP uygulanan fidelere kıyasla, SNP+ Cd uygulanan fidelerde taze ağırlık ve GSH miktarı azalmıştır [27]. Yabani kimyon (*Zygophyllum fabago*) fidelerinde yapılan bir çalışmada, SA (salisilik asit) ve Pb (kurşun) uygulamasına bağlı olarak kontrole kıyasla; yalnız SA uygulanan fidelerde GSH azalmış, GSSG artmış, SA+Pb uygulanan fidelerde ise GSH azalmış, GSSG' de ise fark bulunamamıştır [28]. Salatalık (*Cucumis sativus* L.) fidelerinde yapılan bir çalışmada, SA ve Mn uygulamasına bağlı olarak kontrole kıyasla; yalnız SA uygulanan fidelerde hem GSH hem de GSSG miktarının arttığı, SA+Mn uygulanan fidelerde ise GSH' ın azaldığı, GSSG' nin ise arttığı rapor edilmiştir [29]. *Arabidopsis thaliana* fidelerinde yapılan başka bir çalışmada ise, Cd uygulanan fidelerde GSH ve GSSG içeriğinin kontrole göre, arttığı bildirilmiştir [30]. Kadmiyum toksisitesinin bezelye bitkisinde GSH ve GSSG miktarını kontrole göre azalttığını tespit etmişlerdir [31]. Lin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, fidelerde Cd konsantrasyonları arttıkça kontrole göre; GSSG miktarının arttığı, GSH miktarının ise azaldığı tespit edilmiştir [32].

Biz bu çalışmada, önceden yapılmış araştırmaların ışığında farklı Cd konsantrasyonlarının mısır (*Zea Mays* L. cv) fidelerinde yarattığı toksik etkiye karşı, SNP ön uygulamasının fizyolojik ve biyokimyasal bazı parametreler üzerinde hafifletici ya da teşvik edici etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitki Materyaline Yapılan Uygulamalar

Bu çalışmada kullanılan bitki materyali, Arzuman firmasına ait olup, tür adı haşlamalık mısır olarak geçen (Parti No: TR 42.1082.1102, Paketleme Tarihi: Ocak 2012) standart tohum etiketli mısır bitkisidir. Tamamen homojen olan mısır tohumları seçilerek saf su ile ıslatıldı ve karanlıkta 6 saat 23-25 °C'de bekletildi. Bu sürenin sonunda tohumlar, hava alabilecekleri kapaklı çimlendirme kutularına dizilerek, 3 gün süreyle 23-25 °C'de karanlıkta çimlenmeye bırakıldı. Daha sonra radikula uzunlukları eşit büyüklükte olan çimlenmiş tohumlar seçilerek (homojen) önceden belirli oranlarda hazırlanan kum (3/1) ve tarla toprağı (3/2) karışımıyla doldurulmuş saksılara ekildi. Fidler uzun gün periyodunda (16/8), normal gün ışığında 15 günlük oluncaya kadar eşit miktarda musluk suyu ile haftada iki kez sulandı. Bu fidlerden, tamamen homojen büyüyen fidler seçilerek deney materyali olarak kullanıldı. 15 günlük mısır fiderleri eşit sayıda fide içeren 3 gruba ayrıldı ve hidroponik ortam olarak 250 ml'lik koyu renk cam kaplar içinde bulunan saf su kullanıldı. Fidlerin köklerinden farklı konsantrasyonlarda (25 ve 50 µM) SNP, 2 gün boyunca uygulandı. Daha sonra ayrı ayrı her bir grup, hazırlanan farklı CdCl₂ konsantrasyonlarına (25, 50 ve 75 µM), 2 gün boyunca hidroponik olarak maruz bırakıldı.

2.2. Redükte ve Okside Glutasyon (GSH ve GSSG) Analizi

Mısır fiderlerinin kök ve yapraklarında olmak üzere iki farklı dokuda çalışıldı. Bu amaçla bütün gruplar için ayrı ayrı eşit miktarda doku kullanıldı. 1'er g taze yaprak ve kök dokusu steril bir makasla parçalara bölünerek materyal olarak kullanıldı. Örnekler falkon tüplerine konuldu ve üzerine 10 ml TRİS tampon çözeltisi (TRİS Baz, TRİS HCL, EDTA) eklenerek 4 dakikada homojenize edildi. Falkon tüplerinde olan karışımlar 6000-7000 rpm' de 10 dk santrifüj edildi. Bu süreç sonunda faz ayrımı oldu. Ayırdığımız üst fazlardan her bir örnekten 5 ml cam deney tüplerine alındı. Ayırdığımız bu üst fazlardan her bir örnekten 5 ml cam deney tüplerine alındı. Üzerine 1 ml % 10' luk perklorik asit eklenerek 5000 rpm' de 10 dk. santrifüj edildi. Daha sonra 1' er ml alınarak viallere konuldu. HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)' de ölçüldü [33].

2.3. Yağ Asidi (FA) Analizi

Falkon tüplerinde olan karışımlar 6000-7000 rpm' de 10 dk. santrifüj edildi. Bu süreç sonunda faz ayrımı oldu. Üst faz ayrı bir tüpe alındı ve yağ asidi için alt fazda kalan falkon tüplerinde kalan pelet üzerine 10 ml BHT' li hexan/izopropil alkol (3/2, v/v) eklendi ve homojenize edildi. Homojenizasyondan sonra numune 7000 rpm' de 10 dk. santrifüj edildi. Üst fazlar tüplere alındı. Sıvı üzerine % 2'lik metanol sülfürik asitten 5 ml örneklerin üzerine ilave edildi. Sonra bu örnekler 55 °C etüvde 12-15 saat bekletildikten sonra etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Soğuduktan sonra çıkarılan örneklerin üzerine 5 ml % 5' lik NaCl (Sodyum Klorür) çözeltisi eklendi ve hemen ardından 5 ml n-Hexan ilave edildi ve vorteksle karıştırıldı. Oda sıcaklığında 3-5 saat bekledi. Süre sonunda üst faz alındı, alt faz döküldü ve üst faz aynı deney tüpüne alındı ve üzerine 5 ml %2' lik KHCO_3 (Potasyum bikarbonat) ilave edildi ve 2-3 saat oda sıcaklığında bekletildi. Süre sonunda üst faz küçük tüplere alındı ve alt faz döküldü ve örnekler 37-40 °C etüvde uçmaya bırakıldı. Uçma meydana geldikten sonra örnek kalıntılarının olduğu deney tüplerine 1 ml heptan eklendi ve örnekler vortekslelendikten sonra 1 ml örnek viallere alınıp GC (Gaz Kromatografisi)'de analiz edildi [34, 35]. Yağ asidi miktarları ağırlığın % değeri olarak verildi.

2.4. İstatistik Analizler

Çalışmamızdaki bütün parametreler 3 tekrarlı olarak analiz edildi. Verilerin doğruluk değerleri SPSS 15 paket programı kullanılarak ortalama ve One-way ANOVA ile test edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar $p \leq 0.05$ önemlilik seviyesinde ayırt edildi.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Bulgular

3.1.1. SNP ve Kadmiyum' un GSH Üzerine Etkisi

Uygulama yapılan fidelerin köklerinde kontrol grubuna kıyasla; 25 μM SNP, 50 μM SNP, 25 μM SNP+25 μM Cd, 25 μM SNP+50 μM Cd, 25 μM SNP+75 μM Cd, 50 μM SNP+25 μM Cd, 50 μM SNP+50 μM Cd ve 50 μM SNP+75 μM Cd gruplarında sırasıyla; % 35.14, % 50.70, % 10.42, % 4.84, % 13.18, % 9.83, % 10.72 ve % 17.57 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 50 μM Cd ve 75 μM Cd gruplarında sırasıyla % 11.09 ve % 1.49 oranlarında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+25 μM Cd ve 50 μM SNP+25 μM Cd gruplarında sırasıyla % 5.53 ve % 6.22 oranında artış; 50 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+50 μM Cd ve 50 μM SNP+50 μM Cd gruplarında sırasıyla % 7.21 ve % 0.58 oranında artış; 75 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+75 μM Cd ve 50 μM SNP+75 μM Cd grubunda sırasıyla % 7.07 ve % 1.65 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca uygulama yapılan köklerde, 25 μM Cd grubundaki fark istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Uygulama yapılan fidelerin yapraklarında kontrol grubuna kıyasla; 25 μM SNP+25 μM Cd, 25 μM SNP+50 μM Cd, 25 μM SNP+75 μM Cd, 50 μM SNP+25 μM Cd, 50 μM SNP+50 μM Cd ve 50 μM SNP+75 μM Cd gruplarında sırasıyla % 21.44, % 17.12, % 21.29, % 22.38, % 19.64 ve % 21.76 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 50 μM Cd ve 75 μM Cd gruplarında sırasıyla % 11.53 ve % 10.53 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+25 μM Cd ve 50 μM SNP+25 μM Cd gruplarında sırasıyla % 5.60 ve % 4.33 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$) (Tablo 1). Ayrıca uygulama yapılan fidelerde, 25 μM Cd, 25 μM SNP ve 50 μM SNP gruplarındaki farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$).

3.1.2. SNP ve Kadmiyum' un GSSG Üzerine Etkisi

Uygulama yapılan fidelerin köklerinde kontrole kıyasla; 75 μM Cd, 25 μM SNP, 50 μM SNP, 25 μM SNP+ 25 μM Cd, 25 μM SNP+50 μM Cd, 25 μM SNP+75 μM Cd, 50 μM SNP+25 μM Cd, 50 μM SNP+50 μM Cd ve 50 μM SNP+75 μM Cd gruplarında sırasıyla; % 16.80, % 9.61, % 47.09, % 33.97, % 43.32, % 51.29, % 49.07, % 55.32 ve % 57.31 oranlarında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+ 25 μM Cd ve 50 μM SNP+25 μM Cd grubunda sırasıyla %

34.65 ve % 49.60 oranında azalma; 50 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+50 μM Cd ve 50 μM SNP+50 μM Cd gruplarında sırasıyla % 47.96 ve % 58.98 oranında azalma; 75 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+75 μM Cd ve 50 μM SNP+75 μM Cd gruplarında sırasıyla % 41.46 ve % 48.69 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 25 μM Cd ve 50 μM Cd gruplarında artış tespit edilse de istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır ($P > 0,05$). Uygulama yapılan fidelerin yapraklarında kontrole kıyasla; 25 μM SNP, 50 μM SNP, 25 μM SNP+ 25 μM Cd, 25 μM SNP+50 μM Cd, 25 μM SNP+75 μM Cd ve 50 μM SNP+75 μM Cd gruplarında sırasıyla; % 37.66, % 33.17, % 38.32, % 38.49, % 46.34 ve % 28.46 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 50 μM Cd ve 50 μM SNP+50 μM Cd gruplarında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+ 25 μM Cd ve 50 μM SNP+25 μM Cd grubunda sırasıyla % 46.79 ve % 25.88 oranında azalma; 50 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+50 μM Cd grubunda % 52.89 oranında azalma; 75 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+75 μM Cd ve 50 μM SNP+75 μM Cd gruplarında sırasıyla % 40.26 ve % 20.37 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). 25 μM Cd, 75 μM Cd ve 50 μM SNP+25 μM Cd gruplarındaki farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo-1).

Tablo 1. SNP ön uygulamalı ve ön uygulamaz mısır (*Zea mays* L.) fidelerinde, kadmiyumun kök ve yaprakta GSH ve GSSG miktarları üzerine etkileri

GRUPLAR	GSH ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{TA}$)		GSSG ($\mu\text{g.g}^{-1}\text{TA}$)	
	KÖK	YAPRAK	KÖK	YAPRAK
KONTROL	13.43 $\pm$ 0.43	12.73 $\pm$ 0.62	115.85 $\pm$ 7.48	112.35 $\pm$ 2.32
25 μM SNP	6.96 $\pm$ 0.06* $\square$	7.90 $\pm$ 0.84	104.71 $\pm$ 1.95*	70.04 $\pm$ 9.37*
50 μM SNP	5.29 $\pm$ 0.04* $\square$	8.01 $\pm$ 0.94	61.31 $\pm$ 0.90*	75.08 $\pm$ 6.51*
25 μM Cd	11.40 $\pm$ 0.60	9.47 $\pm$ 0.61	117.07 $\pm$ 7.86	130.22 $\pm$ 8.36
50 μM Cd	11.92 $\pm$ 0.59*	10.06 $\pm$ 0.14*	126.20 $\pm$ 6.47	146.65 $\pm$ 10.20*
75 μM Cd	10.89 $\pm$ 0.12*	9.97 $\pm$ 0.08*	96.39 $\pm$ 2.05*	100.93 $\pm$ 3.44
25 μM SNP - 25 Cd	12.03 $\pm$ 0.1* $\square$	9.97 $\pm$ 0.08*	76.51 $\pm$ 1.88* $\square$	69.30 $\pm$ 6.75* $\square$
25 μM SNP - 50 Cd	12.78 $\pm$ 0.72* $\square$	10.55 $\pm$ 0.18*	65.67 $\pm$ 1.21* $\square$	69.12 $\pm$ 0.77* $\square$
25 μM SNP - 75 Cd	11.66 $\pm$ 0.02* $\square$	10.02 $\pm$ 0.19*	56.43 $\pm$ 0.20* $\square$	60.29 $\pm$ 1.97* $\square$
50 μM SNP - 25 Cd	12.11 $\pm$ 0.08* $\square$	9.88 $\pm$ 0.41* $\square$	59 $\pm$ 0.21 $\square$	96.52 $\pm$ 3.44* $\square$
50 μM SNP - 50 Cd	11.99 $\pm$ 0.07* $\square$	10.23 $\pm$ 0.42*	51.76 $\pm$ 0.48*	131.68 $\pm$ 9.63*
50 μM SNP - 75 Cd	11.07 $\pm$ 0.03* $\square$	9.96 $\pm$ 0.11*	49.47 $\pm$ 0.28* $\square$	80.38 $\pm$ 2.50* $\square$

*:Kontrole kıyasla $\square$: Gruplar arası; $p \leq 0.05$ olasılık seviyelerinde önemli. Verilerin ortalaması $\pm$ SE (n: 3)

3.1.3. SNP ve Kadmiyum' un Yağ Asitleri Üzerine Etkisi

3.1.3.1. Palmitik asit (16:0)

Uygulama yapılan fidelerin köklerinde kontrol grubuna kıyasla; 75 μM Cd, 25 μM SNP, 25 μM SNP+50 μM Cd, 25 μM SNP+75 μM Cd ve 50 μM SNP+50 μM Cd gruplarında sırasıyla % 25.91, % 30.08, % 28.64, % 24.78 ve % 61.55 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 50 μM Cd' ye göre 50 μM SNP+50 μM Cd grubunda % 36.38 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 25 μM Cd, 50 μM Cd, 50 μM SNP, 25 μM SNP+25 μM Cd, 50 μM SNP+25 μM Cd ve 50 μM SNP+75 μM Cd gruplarındaki farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır ($P > 0,05$). Uygulama yapılan fidelerin yapraklarında kontrol grubuna kıyasla; 25 μM Cd, 50 μM Cd, 75 μM Cd, 25 μM SNP, 25 μM SNP+25 μM Cd, 25 μM SNP+75 μM Cd ve 50 μM SNP+50 μM Cd gruplarında sırasıyla % 21.77, % 24.32, % 31.04, % 15.13, % 25.64, % 24.86 ve % 13.90 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 μM Cd'ye göre 50 μM SNP+25 μM Cd grubunda % 14.20 azalma; 50 μM Cd' ye göre 25 μM SNP+50 μM Cd ve 50 μM SNP+50 μM Cd gruplarında sırasıyla % 12.92 ve % 8.38 oranında azalma;

75 µM Cd' ye göre 50 µM SNP+75 µM Cd grubunda % 17.44 azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 50 µM SNP, 25 µM SNP+50 µM Cd, 50 µM SNP+25 µM Cd ve 50 µM SNP+75 µM Cd gruplarındaki farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 2-A).

3.1.3.2. Palmiölek asit (16:1)

Uygulama yapılan fidelerin yapraklarında kontrol grubuna kıyasla; 75 µM Cd, 25 µM SNP ve 50 µM SNP+50 µM Cd gruplarında sırasıyla % 14.76, % 18.33 ve % 11.55 oranında artış; 50 µM SNP+75 µM Cd grubunda ise % 15.30 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 50 µM Cd' ye göre 25 µM SNP+50 µM Cd grubunda % 9.87 oranında azalma; 75 µM Cd' ye göre 25 µM SNP+75 µM Cd ve 50 µM SNP+75 µM Cd gruplarında sırasıyla % 18.21 ve % 26.20 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 25 µM Cd, 50 µM Cd, 50 µM SNP, 25 µM SNP+25 µM Cd, 25 µM SNP+50 µM Cd, 25 µM SNP+75 µM Cd ve 50 µM SNP+25 µM Cd gruplarındaki farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır ($P > 0,05$). Uygulama yapılan fidelerin köklerinde yapılan analizlerde 16:1 yağ asidine rastlanmamıştır (Tablo 2-A).

Tablo 2-A. SNP ön uygulamalı ve ön uygulamasız mısır (*Zea mays* L.) fidelerinde, kadmiyumun kökte yağ asidi bileşiminin (%) değişimi üzerine etkileri

GRUPLAR	Yağ asidi bileşiminin (%) değişimi üzerine etkileri					
	16:00		16:01		18:00	
	KÖK	YAPRAK	KÖK	YAPRAK	KÖK	YAPRAK
KONTROL	36.20 ± 3.76	12.95 ± 0.40	-	10.92 ± 0.45	30.13 ± 3.08	-
25 µM SNP	47.09 ± 2.30*	14.92 ± 0.09*	-	12.91 ± 0.33*	-	-
50 µM SNP	39.67 ± 1.54	12.52 ± 0.00	-	11.84 ± 0.00	39.79 ± 3.86*	-
25 µM Cd	39.92 ± 1.92	15.77 ± 0.46*	-	10.88 ± 0.06	40.07 ± 2.23*	-
50 µM Cd	42.88 ± 1.76	16.10 ± 0.06*	-	11.75 ± 0.31	54.53 ± 0.48*	-
75 µM Cd	45.57 ± 1.55*	16.98 ± 0.54*	-	12.52 ± 0.18*	54.79 ± 1.32*	-
25 µM SNP - 25 Cd	40.67 ± 2.07	16.28 ± 0.42*	-	11.41 ± 0.58	33.85 ± 0.35	-
25 µM SNP - 50 Cd	46.57 ± 2.35*	14.02 ± 0.20 [□]	-	10.59 ± 0.63 [□]	32.93 ± 5.42 [□]	-
25 µM SNP - 75 Cd	45.17 ± 5.69*	16.17 ± 0.13*	-	10.24 ± 0.14 [□]	16.36 ± 1.62* [□]	-
50 µM SNP - 25 Cd	32.84 ± 2.76	13.53 ± 0.13 [□]	-	11.03 ± 0.07	28.63 ± 3.47 [□]	-
50 µM SNP - 50 Cd	58.48 ± 5.00* [□]	14.75 ± 0.04* [□]	-	12.18 ± 0.38*	-	-
50 µM SNP - 75 Cd	44.67 ± 2.71	14.01 ± 0.94 [□]	-	9.24 ± 0.36* [□]	-	-

*:Kontrolle kıyasla [□]: Gruplar arası; $p \leq 0.05$ olasılık seviyelerinde önemli. Verilerin ortalaması ±SE (n: 3)

3.1.3.3. Stearik asit (18:0)

Uygulama yapılan fidelerin köklerinde kontrol grubuna kıyasla; 25 µM Cd, 50 µM Cd, 75 µM Cd ve 50 µM SNP gruplarında sırasıyla % 32.99, % 80.98 ve % 81.84 oranlarında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 25 µM SNP+75 µM Cd grubunda % 45.70 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 µM Cd'ye göre 50 µM SNP+25 µM Cd grubunda % 28.55 oranında azalma; 50 µM Cd' ye göre 25 µM SNP+50 µM Cd grubunda % 39.61 oranında azalma; 75 µM Cd' ye göre 25 µM SNP+75 µM Cd grubunda % 70.14 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). 25 µM SNP, 25 µM SNP+25 µM Cd, 25 µM SNP+50 µM Cd ve 50 µM SNP+25 µM Cd gruplarındaki farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır ($P > 0,05$). Uygulama yapılan fidelerin yapraklarında, yapılan analizlerde 18:0 yağ asidine rastlanmamıştır (Tablo 2-A).

3.1.3.4. Linoleik asit (18:2)

Uygulama yapılan fidelerin köklerinde kontrol grubuna kıyasla; 50 µM Cd, 75 µM Cd, 25 µM SNP+25 µM Cd, 25 µM SNP+50 µM Cd, 25 µM SNP+75 µM Cd ve 50 µM SNP+50 µM Cd gruplarında sırasıyla % 56.36, % 60.85, % 99.62, % 73.49, % 85.15 ve % 99.92 oranlarında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 µM Cd'ye göre 25 µM SNP+25 µM Cd grubunda % 61.89 oranında artış; 50 µM

Cd' ye göre 50 µM SNP+50 µM Cd grubunda % 27.86 oranında artış; 75 µM Cd' ye göre 25 µM SNP+75 µM Cd grubunda % 15.10 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 50 µM SNP, 25 µM Cd ve 50 µM SNP+25 µM Cd gruplarındaki farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır ($P > 0,05$). Uygulama yapılan fidelerin yapraklarında kontrol grubuna kıyasla; 25 µM Cd, 50 µM Cd, 75 µM Cd, 25 µM SNP, 25 µM SNP+25 µM Cd, 25 µM SNP+50 µM Cd, 25 µM SNP+75 µM Cd, 50 µM SNP+25 µM Cd, 50 µM SNP+50 µM Cd ve 50 µM SNP+75 µM Cd gruplarında sırasıyla % 24.66, % 34.07, % 44.61, % 14.25, % 10.90, % 17.22, % 40.02, % 14.12, % 10.04 ve % 54.64 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Ayrıca 50 µM SNP grubunda % 7.31 oranında azalma tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 µM Cd'ye göre 25 µM SNP+25 µM Cd ve 50 µM SNP+25 µM Cd grubunda sırasıyla % 11.03 ve % 8.45 oranında azalma; 50 µM Cd' ye göre 25 µM SNP+50 µM Cd ve 50 µM SNP+50 µM Cd grubunda sırasıyla % 12.57 ve % 17.93 oranında azalma; 75 µM Cd' ye göre 50 µM SNP+75 µM Cd grubunda % 6.95 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$) (Tablo 2-B).

3.1.3.5. Linolenik asit (18:3)

Uygulama yapılan fidelerin yapraklarında kontrol grubuna kıyasla; 50 µM Cd, 75 µM Cd ve 25 µM SNP gruplarında sırasıyla % 13.13, % 16.83 ve % 12.80 oranında azalma ve 50 µM SNP+25 µM Cd grubunda % 9.13 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$). Gruplar arasında; 25 µM Cd'ye göre 50 µM SNP+25 µM Cd grubunda % 15.68 oranında artış; 50 µM Cd' ye göre 25 µM SNP+50 µM Cd ve 50 µM SNP+50 µM Cd grubunda sırasıyla % 21.29 ve % 16.73 oranında artış; 75 µM Cd' ye göre 25 µM SNP+75 µM Cd ve 50 µM SNP+75 µM Cd grubunda sırasıyla % 23.83 ve % 23.93 oranında artış tespit edilmiştir ($P \leq 0,05$) (Tablo 2-B). Ayrıca 25 µM Cd, 50 µM SNP, 25 µM SNP+25 µM Cd, 25 µM SNP+50 µM Cd, 25 µM SNP+75 µM Cd, 50 µM SNP+50 µM Cd ve 50 µM SNP+75 µM Cd gruplarındaki farklar istatistiki açıdan anlamlı bulunamamıştır ($P > 0,05$). Uygulama yapılan fidelerin köklerinde, yapılan analizlerde 18:3 yağ asidine rastlanmamıştır.

Tablo 2-B. SNP ön uygulamalı ve ön uygulamaz mısır (*Zea mays* L.) fidelerinde, kadmiyumun kökte yağ asidi bileşiminin (%) değişimi üzerine etkileri

GRUPLAR	Yağ asidi bileşiminin (%) değişimi üzerine etkileri			
	18:02		18:03	
	KÖK	YAPRAK	KÖK	YAPRAK
KONTROL	13.13 ± 2.80	8.08 ± 0.10*	-	60.56 ± 1.35
25 µM SNP	-	9.22 ± 0.01*	-	52.81 ± 1.53*
50 µM SNP	17.18 ± 1.74	7.48 ± 0.00*	-	60.98 ± 0.00
25 µM Cd	16.19 ± 1.26	10.06 ± 0.11*	-	57.13 ± 1.82
50 µM Cd	20.53 ± 1.49*	10.83 ± 0.11*	-	52.61 ± 1.61*
75 µM Cd	21.12 ± 2.55*	11.67 ± 0.26*	-	50.36 ± 0.35*
25 µM SNP - 25 Cd	26.21 ± 2.49*□	8.96 ± 0.23*□	-	58.68 ± 2.81
25 µM SNP - 50 Cd	22.78 ± 2.76*	9.46 ± 0.24*□	-	63.80 ± 1.80□
25 µM SNP - 75 Cd	24.31 ± 0.63*□	11.30 ± 0.09*	-	62.26 ± 0.10□
50 µM SNP - 25 Cd	14.45 ± 2.28	9.21 ± 0.18*□	-	66.08 ± 0.39*□
50 µM SNP - 50 Cd	26.25 ± 0.40*□	8.88 ± 0.12*□	-	61.41 ± 0.49□
50 µM SNP - 75 Cd	-	12.49 ± 0.47*□	-	62.41 ± 0.11□

*:Kontrolle kıyasla □: Gruplar arası; $p \leq 0.05$ olasılık seviyelerinde önemli. Verilerin ortalaması ±SE (n: 3)

3.2. Tartışma

Genel anlamda Cd uygulanan mısır fidelerinin köklerinde ve yapraklarında SNP ön uygulamasız [36], [37], [38] fidelerde, kontrole kıyasla redükte glutasyon değerlerinde artma; SNP ön uygulamalı [14], [26], [27] fidelerde ise azalma tespit edildi. Bu konuda 50 µM SNP ön uygulamasının hem kökte hemde yaprakta Cd' nin GSH üzerindeki arttırıcı etkisini hafifletme çabası anlamlı bulunmuştur [39], [40], [22]. Tek başına SNP uygulamalarında, redükte glutasyon miktarı üzerinde kontrole kıyasla, 50 µM SNP daha azaltıcı bulunmuştur. Genel anlamda, Cd uygulanan mısır fidelerinin köklerinde ve yapraklarında SNP ön uygulamasız [41], [32], [42] fidelerde, kontrole kıyasla okside glutasyon değerlerinde artma ve SNP ön uygulamalı [29], [28] fidelerde ise azalma tespit edildi. Bu konuda SNP ön uygulamasının hem kökte (50 µM SNP) hem de yaprakta (25 µM SNP), Cd' nin GSSG miktarı üzerindeki arttırıcı etkisini

hafifletme çabası anlamlı bulunmuştur. Tek başına SNP uygulamalarında, GSSG miktarı üzerinde kontrole kıyasla, 25µM SNP daha azaltıcı bulunmuştur. NO, etilenin senesens-arttırıcı etkilerine karşı müdahale eder ve PAS' nin katılımının başka bir ilgi alanı olduğu ABA' da yer almaktadır. PAS, NO arasındaki çoğu durumların hormonlar ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir [23]. Yağ asitlerini mısır üzerinde veya başka bir bitki üzerinde SNP ile Cd' ye bağlı olarak çalışan bir makaleye rastlamadık. Bu nedenle tartışmamızı çok derinleştirmeden stresi hafifleten bir haberci molekül olan salisilik asit üzerinden ele alacağız. Farklı bitkilerde Cd' nin yol açtığı toksik stres veya oksidatif stresin fidelerin yapraklarındaki membranlarda yağ asidi profilini etkilediği bildirilmiştir [43], [44]. Genel olarak fidelere uygulanan kadmiyum konsantrasyonları arttıkça, hem SNP ön uygulamasız [45], [46], [47] hem de SNP ön uygulamalı [46], fidelerde kontrol grubu fidelerine kıyasla 16:0 yaprak ve köklerde artmıştır. Bu konuda SNP ön uygulamasının (50 µM SNP), Cd' nin palmitik asit miktarı üzerindeki arttırıcı etkisini hafifletme çabası anlamlı bulunmuştur [46]. Tek başına SNP uygulamalarında, palmitik asit üzerinde kontrole kıyasla, 50 µM SNP daha az bulunmuştur. Cd uygulamaları ile SNP ön uygulamasız [45] ve SNP ön uygulamalı fidelerde; 16:1 yapraklarda genel olarak artarken, bazı gruplarda SNP ön uygulamasıyla bu artış hafifletilmiştir. Bu konuda SNP ön uygulamasının (50 µM SNP), Cd' nin 16:1 üzerindeki arttırıcı etkisini hafifletme çabası anlamlı bulunmuştur [45]. Cd uygulamaları ile SNP ön uygulamasız [45], [46], [47] ve SNP ön uygulamalı [39] fidelerde 18:0 köklerde artmıştır. Bu konuda SNP ön uygulamasının (50 µM SNP), Cd' nin 18:0 üzerindeki arttırıcı etkisini hafifletme çabası anlamlı bulunmuştur [46]. Cd uygulamaları ile SNP ön uygulamasız [45], [48], [47] ve SNP ön uygulamalı fidelerde 18:2 köklerde ve yapraklarda artış tespit edilmiştir. Bu konuda SNP ön uygulamasının (50 µM SNP), Cd' nin 18:2 miktarı üzerindeki arttırıcı etkisini hafifletme çabası anlamlı bulunmuştur [46]. Cd uygulamaları ile SNP ön uygulamasız [45], [46], [48] fidelerde 18:3 yaprakta azalırken; SNP ön uygulamalı [46] bazı fidelerde ise 18:3 miktarı yapraklarda artmıştır. Bu konuda SNP ön uygulamasının (25 µM SNP), Cd' nin 18:3 miktarı üzerindeki arttırıcı etkisini hafifletme çabası anlamlı bulunmuştur [46]. Kontrole kıyasla, yaprakta 16:0, 18:2, 18:3 yağ asitleri artarken; 16:1' de azalma meydana gelmiştir. Kökte, 16:1 ve 18:3'e rastlanmamıştır. Yapraklarda ise 18:0' a rastlanmamıştır. Diğer yağ asitleri için de benzer sonuçlar tespit edilmiştir.

4. Sonuç ve Öneriler

Elde edilen bulgulara göre, düşük Cd konsantrasyonlarının dahi mısır fideleri üzerinde negatif etkilerinin olduğu tespit edildi. SNP' nin doza bağlı olarak Cd' ye karşı hafifletici etki yarattığı bulundu. Sonuç olarak elde edilen veriler; seçilen konsantrasyonlara, planlanan uygulama şekline ve süresine bağlı olarak mısır fidelerinde SNP' nin, Cd' nin belirli parametreler üzerinde sebep olduğu oksidatif stresi sınırlı ölçüde de olsa düzenleyebildiğini düşündürmektedir. Literatür taramalarımızda mısır bitkisinde, SNP ve Cd'yi birlikte çalışan bir makaleye rastlamadığımız için parametreleri çoğunlukla dolaylı makaleler üzerinden tartışmaya çalışıldı. Ancak konunun tam anlaşılması açısından, enzimatik olan ve olmayan antioksidan temizleyici unsurların da çalışılmasının çalışmamıza katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

Teşekkür

Bu proje çalışmasında bize maddi destek sağlayan FÜBAP'a, bilgi ve teknik imkânlarını bize sunan Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ hocamıza teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- [1] Ruis-Jiménez J., Luque-Garcia J.L., Luque de Castro M.D. 2003. Dynamic ultrasound-assisted extraction of cadmium and lead from plants prior to electrothermal atomic absorption spectrometry. Anal. Chim. Acta, 480: 231-237.
- [2] Ayhan B. 2006. Mısır (*Zea mays* L.)'ın Bazı Çeşitlerinde Ağır Metal (Cd, Pb) Stresinin Etkilerinin Belirlenmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- [3] Öktüren Asri F., Sönmez S., Çıtak S. 2007. Kadmiyumun çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri, Dergi Park Akademik, 24 (1): 32-39.

- [4] Durner J., Klessig D.F. 1999. Nitric Oxide as a Signal in Plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 369-374.
- [5] Neill S.J., Desikan R., Clarke A., Hancock J.T. 2002a. Nitric Oxide is a Novel Component of Abscic Acid Signalling in Stomatal Guard Cell. *Plant Physiology*, 128: 13-16.
- [6] Leshem Y.Y., Haramaty E. 1996. The Characterisation and Contrasting Effects of the Nitric Oxide Free Radical in Vegetative Stress and Senescence of *Pisum sativum* L. Foliage, *Journal of Plant Physiology*, 148: 258-263.
- [7] Stöhr C., Ullrich W.R. 2002. Generation and Possible Roles of NO in Plant Roots and Their Apoplastic Space. *Journal of Experimental Botany*, 53 (379): 2293-2303.
- [8] Selçukcan Ç. 2005. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinde senesens ile nitrik oksit arasındaki ilişkinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [9] Okçu M., Tozlu E., Kumlay A.M., Pehlivan M. 2009. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri, *Alinteri Dergisi*, 17 (B), 14- 26, ISSN: 1307-3311.
- [10] Sonsuz B., Kargioğlu A.F., Şıpka M., Oruç M.M., Hepşen Ö., Selvi E., Mustak H., Kargı H. Karafazlıoğlu M. 2011. Adapazarı ilçesindeki endüstriyel kaynaklı emisyonların envanterlenmesi. Bitirme Tezi, Müh. Fak. Çevre Müh., Sakarya Üniversitesi.
- [11] Öktüren Asri F., Sönmez S., Çıtak S. 2007. Kadmiyumun çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, Antalya.
- [12] Yost K.J., Miles L.J. 1979. Environmental Health Assessment for Cadmium: A Systems Approach, *Journal of Environmental Science and Health A*, 14: 285-311.
- [13] Hegedüs A., Erdei S. Horváth G. 2001. Comparative Studies of H₂O₂ Detoxifying Enzymes in Green and Greening Barley Seedlings under Cadmium Stress. *Plant Science*, 160: 1085-1093.
- [14] Laspina N.V., Groppa M.D., Tomaro M.L., Benavides M.P. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science*, 168 (7): 252-260.
- [15] Hamutoğlu R., Dinçsoy A.B., Cansaran-Duman D., Aras S. 2012. Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69 (4): 235- 253.
- [16] Sümer A., Adiloğlu S., Çetinkaya O., Adiloğlu A., Sungur A., Akbulak C. 2013. Karamenderes Havzası Topraklarında Bazı Ağır Metallerin (Cr, Ni, Pb) Kirliliğinin Araştırılması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10 (1): 83-89.
- [17] Prasad M.N.V., Malec P., Waloszek A., Bojko M., Strzaka K. 2001. Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to cadmium and copper bioaccumulation. *Plant Sci.*, 161: 881-889.
- [18] Hall, J.L. 2002. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *J. Exp. Bot.*, 53: 1-11.
- [19] Verma S., Dubey R.S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.*, 164: 645- 655.
- [20] Zacchini M., Rea E., Tullio M., Agazio M. 2003. Increased antioxidative capacity in maize calli during and after oxidative stress induced by a long lead treatment. *Plant Physiol. Bioch.*, 41: 49-54.
- [21] Benavides M.P., Gallego S.M., Tomaro M. L. 2005. Cadmium toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, 17 (1): 21-34.
- [22] Dong N., Lib Y., Qia J., Chena Y., Haoa Y. 2018. Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production enhances chilling tolerance of walnut shoots in vitro via involvement chlorophyll fluorescence and other physiological parameter levels. *Scientia Horticulturae*, 230: 68-77.
- [23] Nahar K., Hasanuzzaman M., Alam Md. M., Rahman A., Suzuki T., Fujita M. 2016. Polyamine and nitric oxide cross talk: Antagonistic effects on cadmium toxicity in mung bean plants through upregulating the metal detoxification, antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126: 245-255.
- [24] Kopyra M., Chudzinska E., Pawlaczyle E.M., Gwozdz E.A. 2005. Nitric oxide diminishes the inhibitory effect of heavy metals on cell divisions in roots of *Lupinus luteus*. *Biological lett.* 42 (2): 18.
- [25] Xiu-Lan C., Jun-Yu H., Yan-Fang R., Bo C., Hui C. 2012. Effect of nitroprusside on seed germination and seedling physiological characteristics of rice under cadmium stress. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, Chian, 01.

- [26] Zhao X., Chen L., Rehmani M.A., Wang Q., Wang S., Hou P., Li G., Ding Y. 2013. Effect of Nitric Oxide on Alleviating Cadmium Toxicity in Rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 12 (9): 1540-1550.
- [27] Shi H., Ye T., Chan Z. 2014. Nitric oxide-activated hydrogen sulfide is essential for cadmium stress response in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 74: 99-107.
- [28] López-Orenes A., Martínez-Pérez A., Calderón A.A., Ferrer A. 2014. Pb- induced responses in *Zygophyllum fabago* plants are organ-dependent and modulated by salicylic acid. *Plant Physiology and Biochemistry*, 84: 57-66.
- [29] Shi Q., Zhu Z. 2008. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. *Environmental and Experimental Botany*, 63: 317-326.
- [30] Zawoznik M.S., Groppa M.D., Tomaro M., Benavides M.P. 2007. Endogenous salicylic acid potentiates cadmium-induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, 173: 190-197.
- [31] Romero-Puertas M.C., Corpas F.J., Rodríguez-Serrano Gómez M., del Río L.A., Sandalio L.M. 2007. Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by cadmium in pea plants. *Journal of Plant Physiology*, 164: 1346-1357.
- [32] Lin R., Wang X., Luo Y., Du W., Guo H., Yin D. 2007. Effects of soil cadmium on growth, oxidative stress and antioxidant system in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Chemosphere*, 69: 89-98.
- [33] Yilmaz O., Keser S., Tuzcu M., Guvenc M., Cetintas B., Irtegun S., Tastan H., Sahin K. 2009. A Practical HPLC Method to Measure Reduced (GSH) and Oxidized (GSSG) Glutathione Concentrations in Animal Tissues. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (2): 343-347.
- [34] Christie WW. 1990. *Gas Chromatography and Lipids*. The Oily Press: Glasgow, 302.
- [35] Hara A., Radin N.S. 1978. Lipid extraction of tissues with low-toxicity solvent. *Anal.Biochem.*, 90 (1): 420-426.
- [36] Hatata M.M., Abdel-Aal E.A. 2008. Oxidative stress and Antioxidant Defense Mechanisms in Response to Cadmium Treatments. *American-Eurasian J.Agric.&Environ. Sci*, 416: 655-669.
- [37] Guo B., Liang Y., Zhu Y. 2009. Does salicylic acid regulate antioxidant defense system, cell death, cadmium uptake and partitioning to acquire cadmium tolerance in rice. *Journal of Plant Physiology*, 166: 20-31.
- [38] Yilmaz D.D., Parlak U.K. 2011. Changes in proline accumulation and antioxidative enzyme activities in *Groenlandia densa* under cadmium stress. *Ecological Indicators*, 11: 417-423.
- [39] Singh H.P., Batish D.R., Kaur G., Arora K., Kohli K.R. 2008. Nitric oxide (as Sodium Nitroprusside) supplementation ameliorates Cd toxicity in hydroponically grown wheat roots. *Environmental and Experimental Botany*, 63: 158-167.
- [40] He J., Ren Y., Chen X., Chen H. 2014. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 108: 114-119.
- [41] Srivastava S., Mishra S., Tripathi R.D., Dwivedi S., Gupta D.K. 2006. Copper- induced oxidative stress and responses of antioxidants and phytochelators in *Hydrilla verticillata* (L.f.) royle. *Aquatic Toxicology*, 80: 405-415.
- [42] Liu Y., Wang X., Zeng G., Qu D., Gu J., Zhou M., Chai L. 2007. Cadmium- induced oxidative stress and response of the ascorbate-glutathione cycle in *Beckmeria nivea* (L.) gaud. *Chemosphere*, 69: 99-107.
- [43] Benmously-Mlika R., Fenniche S., Marrak H., Jannet S.B., Ammar F.B., Mokhtar I. 2005. F5-Nodules pseudoxanthomateux révélant une goutte. *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie*, 132 (3): 282.
- [44] Nouairi I., Ghnaya T., Youssef N.B., Zarrouk M., Ghaorbel H.M. 2005. Changes in content and fatty acid profiles of total lipids of two halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum* under cadmium stress. *Journal of Plant Physiology*, 163 (11): 1198-1202.
- [45] Quariti O., Boussama N., Cherif A., Ghorbal M.H. 1997. Cadmium and Copper Induced Changes In Tomato Membrane Lipids. *Phytochemistry*, 45 (7): 1343-1350.

- [46] Ivanova A., Krantev A., Stoyanova Z. H., Popova L. 2008. Cadmium-Induced changes in maize leaves and the protective role of salicylic acid. Gen. Appl. Plant Physiology, Special Issue, 34: 149-158.
- [47] Belkhadi A., Hediji H., Abbes Z., Nouairi I., Barhoumi Z., Zarrouk M., Chaibi W., Djebali W. 2010. Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. Ecotoxicology and Environmental Safety, 73: 1004–101.
- [48] Popova L.P., Maslenkova L.T., Yordanova R.Y., Ivanova A.P., Krantev A.P., Szalai G., Janda T. 2009. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 47: 224–231.