

150074

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİVA(Hg⁺⁺)'NİN AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) FİDELERİ VE
YAPRAK DİSKLERİNDE ABSİSİK ASİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Alpaslan KOÇAK

150074

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ELAZIĞ, 2004

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİVA (Hg⁺⁺) NİN AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) FİDELERİ VE
YAPRAK DİSKLERİNDE ABSİSİK ASİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Alpaslan KOÇAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez,tarihinde, aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği/ oyçokluğu ile başarılı/
başarısız olarak değerlendirilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Ömer MUNZUROĞLU

Üye: Doç. Dr. A. Kadri GETİN

Üye: Doç. Dr. Fikret KARATAŞ

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 15/10/2004 tarih ve
..... 41/2sayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŐEKKÜR

Bana bu çalışma konusunu veren, çalıŐmalarımı yönlendiren ve çalışmanın bütün kademelerinde çok büyük emeği geçen tez yöneticim sayın Doç. Dr. Ömer MUNZUROĞLU' na saygı ve Őukranlarımı sunarım.

ÇalıŐmalarımnda benden yardımlarını esirgemeyen ArŐ. Gör. Fikriye ZENGİN' e ve Mehmet ARICI'ya teŐekkür ederim. Laboratuvar imkanlarından faydalanmama izin veren Biyoloji Bölüm BaŐkanlıĐı'na teŐekkür ederim.

Ayrıca tez çalıŐmalarım esnasında sürekli olarak destek gördüğüm aileme' de teŐekkür ederim.

Alpaslan KOÇAK



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
İÇİNDEKİLER.....	I
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	II
TABLolar LİSTESİ.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
1.GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL METOD.....	6
2.1. Materyalin Temini.....	6
2.2. Fidelerin Yetiştirilmesi ve Ağır Metal Uygulaması.....	6
2.2.1. Fidelerde Absisik Asit (ABA) Ekstraksiyonu.....	7
2.2.1.1. Absisik Asit Ekstraksiyonu ve Tayini.....	7
2.3. Fidelerden Yaprak Disklerinin Alınması.....	9
2.3.1. Disklerde Absisik Asit Ekstraksiyonu.....	10
2.3.1.1. ABA Ekstraksiyonu ve Tayini.....	11
2.4. İstatistik Analizler.....	11
3. BULGULAR.....	12
4. TARTIŞMA.....	16
KAYNAKLAR.....	20

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.2.1.1.1. ABA standardına ait kromatogram. Mobil faz: Metanol Akış hızı: 1,5ml dk ⁻¹ Dalga boyu:254 nm. ODS-I kolonu, UV detektörü.....	8
Şekil 2.2.1.1.2. ABA standartlarının kromatogramlarına ait pik yüksekliklerinden elde edilen standart eğri.....	9
Şekil 2.3.1. İlk yaş ağırlıkları tespit edilmiş disklerin petrilerdeki görünümü.....	10
Şekil 3.1. On gün süreyle 0.03 mM HgCl ₂ uygulanan ayçiçeği bitkilerinde kök, gövde, yaprak ve fidelerin ABA içerikleri (ng/g).....	12
Şekil 3.2. On gün süreyle 0.05 mM HgCl ₂ uygulanan ayçiçeği bitkilerinde kök, gövde, yaprak ve fidelerin ABA içerikleri (ng/g).....	13
Şekil 3.3. On gün süreyle 0.07 mM HgCl ₂ uygulanan ayçiçeği bitkilerinde kök, gövde, yaprak ve fidelerin ABA içerikleri (ng/g).....	14
Şekil 3.4. Civanın farklı konsantrasyonlarını içeren Hoagland solüsyonlarında 72 saat süreyle inkübe edilen yaprak disklerinin absisik asit miktarları (ng/g).....	15
Şekil 4.1. Civanın değişik konsantrasyonlarında büyütülen ayçiçeği fidelerinin farklı organ ve dokulardaki absisik asit miktarları (ng/g taze doku).....	16
Şekil 4.2. Civanın değişik konsantrasyonlarında büyütülen ayçiçeği fidelerinin kök, gövde, yaprak, fide ve yaprak disklerinde absisik asit miktarının kontrol bitkilerine göre artış%’leri.....	17

TABLULARIN LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3.1. Farklı konsantrasyonlarda civa klorür uygulanan ayçiçeği bitkilerinin kök, gövde, yaprak, fide ve yaprak disklerindeki ABA miktarı (ng/g).....	12



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

CİVA (Hg⁺⁺) NİN AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) FİDELERİ VE YAPRAK DİSKLERİNDE ABSİSİK ASİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Alpaslan KOÇAK

Fırat üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
2004, Sayfa:28

Bu çalışmada ayçiçeği fidelerinin ve ayçiçeği yaprak disklerinin absisik asit içerikleri üzerine civanın etkileri araştırıldı. Çalışmada bir haftalık ayçiçeği fideleri kullanıldı. Fideler on gün süreyle hoagland solüsyonuyla hazırlanmış civa klorür (HgCl₂)'ün farklı konsantrasyonlarında (0.03, 0.05 ve 0.07 mM) büyümeye bırakıldı. Fidelerin absisik asit düzeyleri kök, gövde ve yaprak dokularından ayrı ayrı olacak şekilde HPLC ile tespit edildi. Yaprak diskleri bir ay boyunca hoagland solüsyonunda büyütülmüş fidelerin yapraklarından alındı.

Elde edilen sonuçlara göre civa stresi altında büyütülen ayçiçeği fidelerinin kök, gövde, yaprak, fide ve yaprak disklerindeki absisik asit miktarları önemli artışlar gösterdi. Civa tuzu uygulanan ayçiçeği bitkilerinin kök, gövde, yaprak, fide ve yaprak disklerinde absisik asit miktarları kontrole göre sırasıyla % 141-206, % 131-269, % 223-300, % 202-287 ve % 277-367 arasında değişen oranlarda artış gösterdi (p<0.01). Civa tuzu konsantrasyonunun bu artışlarda etkili olduğu tespit edildi. 0.05 ve 0.07 mM civa tuzu uygulanan fidelerin kök, gövde ve yaprak dokularındaki absisik asit içeriği 0.03 mM civa tuzu uygulanan fideler göre daha yüksek bulundu (p<0.05). 0.05 ve 0.07 mM civa tuzu stresine maruz bırakılan fidelerin absisik asit içerikleri farklılık gösterse de bu değerler istatistik olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05). Civa stresine bağlı olarak fidelerin kök, gövde ve yapraklarındaki ve ayrıca yaprak disklerindeki absisik asit miktarı artışının sırasıyla ve çoktan aza doğru yaprak diski, yaprak, gövde ve kök şeklinde olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği fidesi, yaprak diski, civa stresi, absisik asit

ABSTRACT

M. Sc. THESIS

A RESEARCH ON THE ABSCISIC ACID CONTENTS OF SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.) SEEDLINGS AND LEAF DISCS THAT THE EFFECT OF MERCURY(Hg⁺⁺)

Alpaslan KOÇAK

Firat University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
2004, Page: 28

In this study, the effects of mercury (HgCl₂) on abscisic acid contents of sunflower seedlings and leaf discs were investigated. Also one-week-old sunflower seedlings were used. Seedlings were left in the mercury chloride at 0.03, 0.05 and 0.07 mM concentration prepared with hoagland solution ten day growing. Abscisic acid contents one by one tissues root, shoot, leaf of seedlings were determined by HPLC. Leaf discs were taken from leaves of seedlings with hoagland solution one month growing.

According the results we have obtained, mercury stress caused increased at significant rations, in the abscisic acid contents of root, shoot, leaf, seedling and leaf discs. The abscisic acid contents of root, shoot, leaf, seedling and leaf discs the sunflower to which mercury salt treatment were increased by 141-206%, 131-269%, 223-300%, 202-287% and 277-367 % (p<0.01), respectively, compared to the control seedlings. It was determined this increases effect to mercury salt concentration. The abscisic acid contents of root, shoot, leaf the seedlings treated 0.05 and 0.07 mM mercury salts were found higher than that of seedlings treated with 0.03 mM mercury salt. Although the abscisic acid contents of the seedlings treated 0.05 and 0.07 mM mercury salts were shown at different, this values of view no significant (p<0.05) statistically meaningful. The abscisic acid contents which increase root, shoot, leaf and leaf disc were determined to be as leaf disc, leaf, shoot and root, respectively.

Key Words: Sunflower seedling, leaf disc, mercury stress, abscisic acid

1.GİRİŞ:

Son yıllarda ekosistemlerin toprak, su ve hava gibi ortamlarında yaygın bir şekilde birikmeye başlayan ağır metaller, bitkiden insana hemen her çeşit organizma için boyutları giderek artan ve acilen tedbir alınmasını gerektiren bir çevre sorunu haline gelmiştir. Etmeni ne olursa olsun, çevre kirliliği bitkilerde strese yol açar. Bu durum bitkilerin fizyolojisini etkiler, onları genetik potansiyellerinden alıkoyar, verimliliklerini kısıtlar ve ölümlerine yol açarak büyük miktarlarda ürün kayıplarına neden olur. Ağır metal kirliliğinin çeşitli sebepleri vardır. Bunlar antropojenik veya doğal kaynaklı olabilir. Endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların egzoz gazları, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik faaliyetler, tarımda gübreleme ve ilaçlama gibi pek çok etmen ağır metal kirliliğine yol açar.

Periyodik tablodaki elementler metaller ve ametaller şeklinde iki büyük gruba ayrılır. Metaller ise kendi aralarında hafif metaller, ağır metaller ve metaloitler (madensel metaller) şeklinde üç grup altında incelenir. Bunlardan ağır metaller için çeşitli tanımlamalar yapılmış ve onları diğer elementlerden ayıran farklı bazı kriterler getirilmiştir. Bu kriterlerden en yaygın ve kısa olanı şudur; yoğunluğu 5g/cm^3 den fazla olan metallere ağır metal denir. Bir diğer tanımlamaya göre, ağır metal “Geçiş elementleri sınıfına giren, d orbitallerinde elektron bulduran ve yoğunluğu 5gr/cm^3 den fazla olan metallerdir” [1]. Bazı araştırmacılar atom ağırlığı 100 a.k.b (g) nin üzerinde olan metalleri bu gruba sokmuşlardır. Tiller [2] ağır metalleri çevre kirletici olarak sınıflandırmıştır.

Ağır metallerin çevreyi kirleten faktörler arasında ilk sıralarda yer alması ve bu kirliliğin tehlikeli boyutlara ulaşması çalışmaları bu yöne kaydırmış, özellikle son yıllarda ağır metal kirliliği çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Bilim adamları bu çalışmalar sırasında ağır metallerin çevreye hangi kaynaklardan yayıldığını, havada, suda ve toprakta hangi oranda bulduklarını, bitkiler, hayvanlar ve insanda ne gibi zararlara sebebiyet verdiklerini ve hangi konsantrasyonlarda toksik etki yaptıklarını anlamaya çalışmışlardır.

Ağır metaller arasında yer alan Mn, Fe, Cu, Zn, Mo ve Ni gibi elementler yüksek bitkiler için esansiyel mikrobeseindir [3-5]. Fakat bu elementler de diğer ağır metaller gibi belirli dozlardan itibaren toksik etki göstermeye başlar. Bu doz hem ağır metalin çeşidine hem de bitkinin türüne göre büyük farklılıklar gösterir. Ağır metalin fazlası bitkide toksik etki yapar ve sonunda onu ölüme sürükler [6-9]. Mesela mikrobeseinlerden bakırın yüksek konsantrasyonlarına bir çok bitki türü duyarlıdır. Çünkü bakır bu konsantrasyonlarda büyümeyi ve çok sayıdaki metabolik prosesi olumsuz yönde etkiler [10-13]. Bazı türler ağır metallere karşı aşırı hassas bir durum gösterir. Bir kısmı da yüksek oranda ağır metal içeren toprak ve sularda hayatlarını normal bir şekilde devam ettirir. Mesela, 0,06 ppm bakır mısır (*Zea mays*)’da büyümeyi engellerken [14], bir kuprofit olan bakır çiçeği (*Haumaniastrum katangense*) bitkisi

100 ppm bakırda optimum büyüme gösterir [10]. Dolayısıyla bazı türler tamamen toleranssız olabilirken, bir kısmı büyük toleransa sahip olabilir. Yüksek bitkiler için 12 ppm, su bitkileri için ise 3,5 ppm bakır seviyeleri önerilen küresel değerlerdir [10]. Bakır çiçeğinde olduğu gibi çeşitli elementler bazı bitkiler tarafından o kadar fazla biriktirilir ki, o bitki türü söz konusu element için bir indikatör durumuna gelir.

Ağır metallerin bitkiler üzerinde makroskobik, mikroskobik, biyokimyasal seviyede çok sayıda etki meydana getirdiği yapılan çok yönlü ve detaylı çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. Laboratuvar koşullarında veya doğal ortamlarda incelenen bir çok bitki türünde ağır metallerin kök, gövde ve yaprak büyümesi, çimlenme, solunum, fotosentez, mitoz bölünme, DNA replikasyonu, protein sentezi, terleme ve benzeri olayları önemli oranlarda ve genelde olumsuz yönde etkilediği anlaşılmıştır.

Cıva çevrede yaygın olarak bulunan, bitkilerde akümüle olabilen ve düşük konsantrasyonlarda bile önemli toksik etkiler meydana getiren bir ağır metaldir. Bu nedenlerden dolayı çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Genç fasulye (*Phaseolus vulgaris*) fidelerinde cıvanın farklı konsantrasyonlarının hipokotil uzamasını ve karbohidrat içeriğini azalttığı rapor edilmiştir [15]. Alfalfa bitkisinde klor tuzu şeklinde uygulanan farklı konsantrasyonlardaki cıvanın tohum çimlenmesini ve fide büyümesini inhibe ettiği görülmüştür [16]. Parmar ve ark., [17] cıvanın fasulye fidelerinde kök ve hipokotil uzamasını engellediğini ve klorofil içeriğini azalttığını saptamışlardır. Pirincin iki farklı kültür formunda cıva muamelesi sonucu çimlenme yüzdesi, çimlenme indeksi, gövde/kök uzunluğu, gövde ve kök kuru kütlesi gibi parametrelerin azaldığı belirlenmiştir [18]. Yapılan bir deneyde cıva klorürün yüksek konsantrasyonlarda tohum çimlenmesi ve ürün verimini azalttığı, buna karşılık çok düşük konsantrasyonlarda çimlenme oranını artırdığı görülmüştür [19]. *Spartina alterniflora* tohumlarında cıva tuzlarının çimlenme oranını azalttığı, metalin konsantrasyonundaki artışla bu oranın azalması arasında direk bir ilişki olduğu görülmüştür [20]. Bakır, cıva ve kadmiyumun 10-100 mg/L, çinkonun ise 50-200 mg/L arasındaki konsantrasyonları ile muamele edilen mercimek (*Lens esculenta*) tohumlarında, yüksek konsantrasyonlarda çimlenme kademeli bir şekilde azalma göstermiştir [21]. *Miscanthus floridulus* tohumlarının çimlenmesinde ve fidelerinin büyümesinde cıvanın önemli oranlarda inhibitif etkiler yaptığı tespit edilmiştir [22].

Cıva enzimatik faaliyetleri etkileyen ağır metallerin başında gelir. Akuatik bir makrofit olan *Vallisneria spiralis*'in genç fidelerinde cıvanın düşük konsantrasyonlarının nitrat redüktaz aktivitesini azalttığı belirlenmiştir [23]. Cıvanın *Lycopersicon esculentum* Mill. fidelerinde büyüme ve oksidatif stres üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada kök ve gövde biyomasının ve klorofil içeriğinin azaldığı; hidrojen peroksit (H₂O₂) içeriğinin, malon dialdehit (MDA) düzeyinin ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ile peroksidaz (POX) gibi

antioksidant enzim aktivitelerinin arttığı görülmüştür [24]. Pas ile enfekte olmuş *Arachis hypogea* bitkisinde civanın kitinaz aktivitesini engellediği rapor edilmiştir [25]. Belli süreler ve belli konsantrasyonlarda civa uygulanan *Phaseolus aureus* Roxb. bitkisinde gerek tohum çimlenmesi ve gerekse fide büyümesi safhasında çimlenme ve kök gelişiminin azaldığı, lipid peroksidasyonunun ve bazı antioksidatif enzimlerin (katalaz, guaiakol peroksidaz ve askorbat peroksidaz) aktivitesinin ve MDA'nın arttığı, ayrıca membranda hasarların meydana geldiği gösterilmiştir [26]. Civanın CO₂ fiksasyonunu engellediği, hem ışık hem de karanlık reaksiyonlarını etkilediği ve özellikle de fotosistem I (PS-I)'i engelleyerek [27,28] ferrodoksin-NADP-oksidoredüktaza zarar verdiği bildirilmiştir [29]. Çimlenmiş mung fasulyesi tohumlarında civanın farklı konsantrasyonlarının aminolevunilik asitdehidrataz aktivitesini ve klorofil içeriğini azalttığı belirlenmiştir [30].

Yeşil bir alg olan *Dunaliella tertiolecta* da civanın PS-II üzerinde inhibitif etki yaparak fotosentezi engellediği ve oksijen çıkışını durdurduğu anlaşılmıştır [31]. *Vicia faba* ve *Phaseolus vulgaris* bitkilerinde civanın fotosentetik karbon redüksiyonunu büyük oranlarda azalttığı görülmüştür [32]. Michelle ve ark. [33] *Hordeum vulgare* bitkisinde fotosentetik elektron taşınımının ve fotosistem II'nin civa tarafından inhibe edildiğini ve oksijen çıkışını durdurduğunu rapor etmişlerdir. *Vigna unguiculata* L. var. *Pusa falguni* tohumları kadmiyum ve civaya maruz bırakılmış, protein ve amino asit içeriklerinde azalma, prolindede ise artış tespit edilmiştir [34]. Civa uygulanan *Bacopa monnieri* (L.) bitkisinde karbohidrat ve protein içeriği azalma göstermiştir [35].

Absisik asit (ABA)'in biyokimya ve fizyolojisinin araştırılması 1980'li yıllarda yeniden canlanmaya başlamıştır. Absisik asit temelde bir büyüme inhibitörü olarak bilinir. Fakat bu hormonun, bir bitkinin hayat döngüsü sırasında çeşitli rollere sahip diğer bitki hormonları gibi olduğu bitki fizyologlarının üzerinde hem fikir olduğu bir durumdur. Bilindiği gibi absisik asit yüksek bitkilerin tümü tarafından üretilen ve bitki dokularında her zaman bulunan bir hormondur.

Absisik asitin yapısı 1965'li yıllardan beri bilinmesine rağmen yüksek bitkilerde ABA sentezinin ayrıntıları henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Bu konudaki çalışmalar iki yol üzerinde odaklanmıştır. Bu yollardan ilki farnesil pirofosfat (FPP) modifikasyonu ile oluşan direkt yol, ikincisi ise violoksantin gibi karotenoid katabolizması tarafından oluşturulan indirekt yoldur. Bunlardan hangisinin diğerine göre daha önemli olduğu tam olarak bilinmemektedir. Fakat yüksek bitkilerde her iki yolun aynı anda gerçekleşmesinin mümkün olduğu ve her iki yolda da mevalonik asitin son haberci olduğu rapor edilmiştir [36].

Bitkilerde gerek vejetatif, gerekse reproduktif büyüme ve farklılaşma hormonlarının denetimi altında gerçekleşir. Bilindiği gibi bitki hormonlarının bir kısmı büyümeyi arttırıcı, bir

kısmı da yavaşlatıcı etkilere sahiptir. Bitki büyümesi enzimlerin oluşmasına ve bu oluşumu kontrol eden nükleik asitlere sıkı bir bağımlılık gösterir. Bitkideki hormon oluşumu ise kısmen ortamın etkisi altındadır. Ortamın bitki üzerindeki etkilerinin bazıları da hormonlar vasıtasıyla ortaya çıkmaktadırlar. Mesela Absisik asit'in (ABA) stres durumlarında arttığı ve bitkiye direnç sağladığı bilinmektedir. Ağır metallerin bitkiler üzerindeki etkileri konusunda çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, bu olayın hormonal yönüne dair araştırma sayısı yok denecek kadar azdır. Mesela kadmiyuma maruz kalan fasulye bitkisinde (*Phaseolus vulgaris*) yaprak su içeriğinin azaldığı, stoma direnci ile kök ve yapraklarda absisik asit seviyesinin arttığı belirtilmiştir [37]. Bakır ve nikel kirliliğinin absisik asit seviyesini artırdığı rapor edilmiştir [38]. Kobalt, nikel ve çinko stresi altındaki fasulye bitkilerinde absisik asit birikimi görülmüştür [39].

Bitkilerde strese yol açan faktörlerin (düşük sıcaklık, yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk) absisik asit üretimini artırdığı konusunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. ABA, çeşitli streslere karşı bitkinin adaptasyonu arttırdığından dolayı bir stres hormonu olarak isimlendirilmiştir. Donma toleransının hem bitkilerin kendilerinde [40,41] hem de hücre kültürlerinde [42-44] ABA tarafından artırıldığı rapor edilmiştir. Ayrıca donma sertleşmesi esnasında, bitkilerin ABA içeriğinde geçici bir artış görüldüğü ve ABA'nın donma stresine karşı adaptasyonunun bir endojen düzenleyicisi olabileceği ileri sürülmüştür [40]. Strese girmiş yapraklarda absisik asit, prolin ve diğer stres metabolitlerinin biriktiği not edilmiştir [45].

Stresin meydana getirdiği absisik asit birikiminin temelde su eksikliğinden kaynaklandığı ve turgor eksikliğinin ABA biyosentezini başlatan hücre su döngüsünün kritik parametreleri olduğu bilinmektedir. Su potansiyelindeki azalmanın stomaların kapanmasına sebep olduğu ve bu duruma maruz kalmış bir yaprakta ABA içeriğinin 10 kat artabileceği [46] rapor edilmiştir. Plazmolizis (turgorun zararı)'in ABA üretimini kendiliğinden teşvik ettiği konusunda çok sayıda rapor mevcuttur [47-54]. İzole edilen protoplastların, inkübe edilen ortamın düşük bir osmotik basınca sahip olduğu zaman yeterli düzeyde ABA üretmedikleri rapor edilmiştir [48,50,55,]. Fakat sorbitol içeren ve dolayısıyla yüksek osmotik basınca sahip bir ortamda dokunun inkübe edilmesi durumunda, su kıtlığı stresinin yol açtığı durumdan dolayı ABA üretiminin arttığı bildirilmiştir [50]. Birçok bitki türünün köklerinde ABA sentezlendiğini gösteren raporlar vardır [56-60]. Kökün ABA içeriği ve kök suyunun durumu arasındaki ilişki Zhang ve Davies tarafından tanımlanmıştır. Zhang ve Davies [61], köklerde ABA birikiminin kök su durumunun hassas bir ölçümüyle olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yeşil yaprakların ve özellikle de kloroplastların ABA'nın ana sentez merkezleri oldukları çok iyi bilinen bir durumdur. Yaprakların bazı hallerde, mesela aşırı suya maruz kaldıkları zaman bile (su fazlalığı stresi) çok fazla ABA sentezledikleri bilinmektedir.

Tardieu ve ark., [62] tarafından yapılan bir tarla çalışmasında, mısır bitkileri birbirine benzemeyen iki farklı alanda büyütülmüş, yoğun topraklardaki bitkilerin yoğun olmayan topraklardaki bitkilerden daha fazla ABA içerdiğini rapor etmişlerdir. Benzer sonuçlar Loveys [63] tarafından Avustralya da ki tarlalarda üzüm asmaları için bulunmuştur.

Mezofilin stres sırasında apoplastik sıvı içerisine salıverilen ABA'nın çok açık bir kaynağı olduğu rapor edilmiştir [36]. Kurak topraklarda yetişen *Commelina*'da stomalar, turgor ya da ABA içeriğinde hiçbir değişim olmadan kapandığı ve buna rağmen köklerin ve yaprakların alt epidermisleri boyunca ABA içeriğinin birkaç kat arttığı kaydedilmiştir [64]. Yapraklara transpirasyon akımı yoluyla uygulanan ABA'nın fotosentezi hem stoma kapanımı yoluyla hem de karbon fiksasyonundaki direkt etkileri yoluyla etkilediği hususunda birkaç rapor vardır [44,66-68]. Kök ve gövdelerin büyümesinde ABA'nın karşılıklı etkisi ile stres şartları altında bitkilerin hayatta kalma şanslarını arttırdığı kaydedilmiştir[36]. Ayrıca gövdede ABA meydana getiren büyüme inhibitörünün turgor basıncının sürdürülmesine imkan sağladığı da not edilmiştir[69].

Bitkilerin büyüme ve gelişmelerini sağlıklı bir şekilde sürdürebilmeleri gerekli koşulları içeren temiz bir çevreye bağlıdır. Ortamdaki metallerin yüksek dozları bitkilerde strese yol açar. Stres bitkiyi genetik potansiyelinden alıkoyar, verimliliğini kısıtlar ve metabolizmasını değiştirir. Buda öncelikle tarımsal açıdan önem taşır. Bir tarım bitkisi olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) önemli besin maddeleri arasında sayılmaktadır. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) veriminin artırılması diğer bazı faktörlerle birlikte toprak ve suyun kalitesine bağlıdır. Gerek toprak ve gerekse suyun kalitesini bozan etmenlerden biride ağır metallerdir. Bu çalışmada civa tuzu ($HgCl_2$) stresine maruz bırakılan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fidelerinin kök, gövde, yaprak ve yaprak disklerindeki absisik asit miktarı (ABA) kontrolleriyle mukayeseli olacak şekilde tespit edilip, bu ağır metalin absisik asit hormonu miktarına etkisinin olup olmadığı belirlenmeye çalışıldı. Araştırmamızın bu konuda yapılmış çalışmalara katkı sağlayacağı ve yeni çalışmaların planlanmasına ışık tutacağı kanaatindeyiz.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyalin Temini

Araştırmamızda bitkisel materyal olarak, dikotil bir bitki olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fideleri ve diskleri kullanıldı. Ayçiçeği tohumları Elazığ Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitim ve Yetiştirme Şubesi'nden temin edildi.

Ağır metal olarak civa (Hg^{++})'nın klor tuzu ($HgCl_2$) kullanıldı. Ağır metaller ve diğer kimyasal maddeler Merck firmasından sağlandı.

2.2. Fidelerin Yetiştirilmesi ve Ağır Metal Uygulanması

Deney materyali olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) tohumlarından sağlıklı görünümüne sahip olanlardan 300 adet alındı ve 2 dakika süreyle 0.001M $HgCl_2$ 'de bekletilerek steril edildi [70]. Daha sonra 15-20 dakika saf su ile yıkanan tohumlar 1000 ml'lik bir behere konularak üzerine 250 ml saf su ilave edildi ve 25-27°C'lik karanlık ortamda 4 saat süreyle şişmeye bırakıldı. Bu sürenin sonunda şişme ortamından çıkarılan tohumların bir pens yardımıyla uç kısımları çatlatıldı ve daha sonra içerisine çift katlı filtre kağıdı döşenmiş ve 10 ml saf su ile ıslatılmış 11cm çapındaki petrilerin her birine 10'ar adet gelecek şekilde ekildi. Ekimden hemen sonra kapağı kapatılan petriler 25-27°C'lik karanlık iklim dolabına kaldırılarak çimlenmeye bırakıldı. Bu arada içleri dere kumu ile doldurulan 13.5-14 cm çapında ve 13 cm derinliğinde plastik saksılar hazırlandı. Dere kumu saksılara aktarılmadan önce elendi, çeşme suyu ile yıkandı ve içerisinde HCl bulunan küvetlerde 2 gün süreyle bekletildi. Daha sonra iki defa çeşme suyu, bir defada saf su ile yıkandı ve 400°C'lik etüvde yakılarak, tüm organik maddelerden arındırıldı. Her bir ekim işleminde, önceki ekimden kalan kum birkaç defa çeşme suyu ve bir defa da saf su ile yıkandıktan sonra 150 °C'de kurutuldu [71]. Etüve kaldırıldıktan yaklaşık 60 saat sonra çimlenmiş ve radikula uzunlukları 2-2.5 cm'ye ulaşmış tohumlardan bu saksılara ekim yapıldı. Ekim her bir saksıya 5 adet tohum gelecek şekilde planlandı. Bundan sonra saksılar sera koşullarına alınarak fideler büyümeye bırakıldı. Sera koşulları, ışık için 3600 lümen.m⁻², sıcaklık için 25-27 °C, fotoperiyot 16 saat ışık, 8 saat karanlık (uzun gün) olacak şekilde düzenlendi.

Sera koşullarında bekletilen her saksı gün aşırı 40 ml musluk suyu ile sulandı. Saksılarda büyüyen bu fidelerden, tohumun ıslatılmasından itibaren başlayan zaman diliminin 5. gününde sağlıklı büyüme göstermeyenler elimine edildi. Bu seleksiyondan iki gün sonra, yani bir haftalık olan fidelerden homojen görünüme sahip olanlar alınarak civa çözeltilerine konuldu. Bu işlem için önce civa ($HgCl_2$) ağır metalinin 1 mM'luk stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltiden 0.03mM, 0.05mM ve 0.07mM konsantrasyonunda solüsyonlar

hazırlandı. Stok çözeltiden seyreltme işlemi hoagland besin çözeltisi kullanılarak yapıldı. Daha sonra alüminyum folyo ile kaplı 500ml'lik kavanozlara civa tuzunun bu üç konsantrasyonundan 200'er ml (kontrol için hoagland solüsyonu) bırakıldı.

Tohumların çimlendirilmesinden geliştirilen 7 günlük ayçiçeği fideleri saksılardan alınarak kökleri musluk suyunda iyice yıkandı. Civa ağır metalinin her bir konsantrasyonu ve kontrol grubu için 20'şer adet olacak şekilde bu fideler sünger kapaklar yardımıyla kavanozlara yerleştirildi (her kavanoza iki fide olacak şekilde). Bu şekilde hazırlanan düzenekler, koşulları yukarıda belirtilen seraya kaldırıldı. Fideler 10 gün boyunca sera ortamında gelişmeye bırakıldı. Bu 10 günlük sürenin sonunda fidelerin kök, gövde ve yapraklarından ABA analizi yapıldı.

2.2.1. Fidelerde Absisik Asit (ABA) Ekstraksiyonu

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fidelerinin Absisik asit düzeylerini tespit etmek amacıyla, ilk önce kullanılacak fideler yetiştirildi. 2.2'de anlatıldığı gibi yetiştirilen fideler 10 gün boyunca ağır metal (Hg^{++}) + hoagland solüsyonlarında büyümeye bırakıldı. Daha sonra her bir konsantrasyona maruz bırakılan fidelerin kök, gövde ve yapraklarından ABA ekstraksiyonu yapıldı. ABA ekstraksiyonunda Cabot ve diğ., [72] da anlatılan yöntemin aşağıdaki gibi modifikasyona uğratılmış şekli kullanıldı.

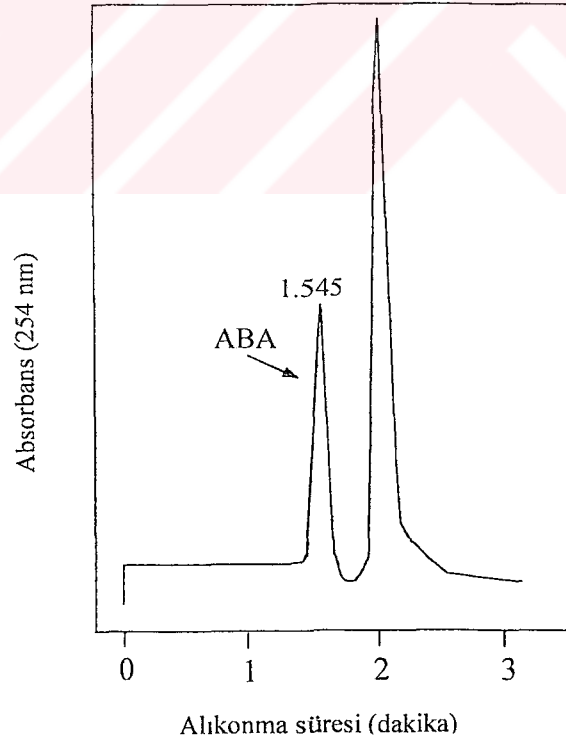
İlk olarak civanın farklı konsantrasyonlarında (0.03, 0.05 ve 0.07 mM) 10 gün boyunca büyütülen fideler ayrı ayrı alınarak steril bir makasla kök, gövde ve yapraklarına parçalandı. Daha sonra her fidenin kök, gövde ve yaprak kısımları ayrı ayrı olacak şekilde tartıldı. Her fidenin gövdesine ait parçalar makas yardımıyla küçük parçalara bölünerek homojenizatöre konuldu. Üzerine %90'lık 100 ml metanol ve antioksidan olarak 20 mg Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) eklendikten sonra 1.5 dakika süreyle homojenize edildi. Daha sonra bu ekstrakt 12 saat süreyle 4 °C'de buzdolabında bekletildi. Whatman No1 filtre kağıdı kullanılarak Buchner hunisi ile süzüldü. Süzüntü 35 °C'de döner buharlaştırıcıda su fazına kadar uçuruldu. Su fazının pH'ı 6N NaOH ile 8'e ayarlandı ve ayırma hunisinde 3 x 50 ml etil asetat ile çalkalanarak bazik ve nötr maddelerin etil asetat fazına geçmesi sağlandı. Bazik ve nötr maddeleri içeren etil asetat fazı atıldı, geriye kalan su fazı absisik asit (ABA) tayininde kullanıldı. Bütün bu işlemler her fidenin kök ve yaprak parçaları için ayrı ayrı yapıldı. Bu şekilde civa ağır metalinin her bir konsantrasyonu ve kontrol fidelerinin kök, gövde ve yapraklarına ait su fazları elde edildi. Her bir konsantrasyon ve kontrol grubu için 20'şer adet fide kullanıldı.

2.2.1.1. Absisik Asit Ekstraksiyonu ve Tayini

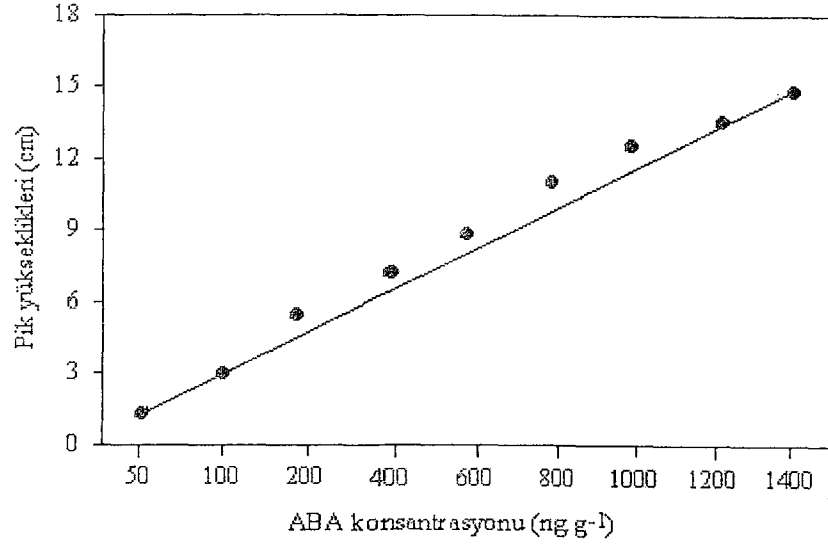
Her bir fidenin kök, gövde ve yapraklarından 2.2.1'de anlatıldığı gibi elde edilen su fazının pH'ı 6N HCl ile 2.5'a ayarlandı ve ayırma hunisinde 3 x 50 ml etil asetat ile çalkalandı.

Böylece asidik maddelerin etil asetat fazına geçmesi sağlandı. Daha sonra su fazı atılarak, geriye kalan etil asetat fazı 35 °C'de düşük basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu ve kalıntı 2 ml metil kloridle (CH₂Cl) alındı. Bu şekilde elde edilen 2ml'lik metil klorid ekstresi ABA tayininde kullanıldı.

HPLC çalışmasında CECİL 1100 serisi HPLC cihazı, UV dedektörü ve ODS-1 kolonu (Techsphere 250 mm, 5µ, ID 4.6) kullanıldı. İlk olarak standart ABA (HPLC standardı)'nın kromatogramı elde edildi (Şekil 2.2.1.1.1). Mobil faz olarak metanol kullanıldı. Akış hızı 1.5ml/dak. olarak belirlendi. Standart ABA'ya ait piki ve dolayısıyla alıkonma süresini belirlemek için, değişik konsantrasyonlardaki ABA çözeltileri hazırlandı. Standart ABA konsantrasyonlarının her birinden 20'şer µl enjekte edilerek 254 nm dalga [72] boyuda absorbansları okundu. Çalışmanın bu kısmı çok sayıda tekrarlanarak standart ABA'nın belirtilen koşullarda alıkonma süresi kesin bir şekilde belirlendi. Bundan sonra standart ABA'nın 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400 ng/g'lık metil klorid'li çözeltileri hazırlandı ve her birinden 20'şer µl enjekte edilerek konsantrasyona karşı pik yükseklikleri alındı. Bunlardan elde edilen veriler yardımıyla fidelerdeki endojen ABA miktarının tespitinde kullanılacak konsantrasyona karşı pik yüksekliği grafiği çizildi (Şekil 2.2.1.1.2).



Şekil 2.2.1.1.1. ABA standardına ait kromatogram. Mobil faz: Metanol. Akış hızı: 1,5ml. dk⁻¹. Dalga boyu: 254 nm. ODS-1 kolonu. UV dedektörü.

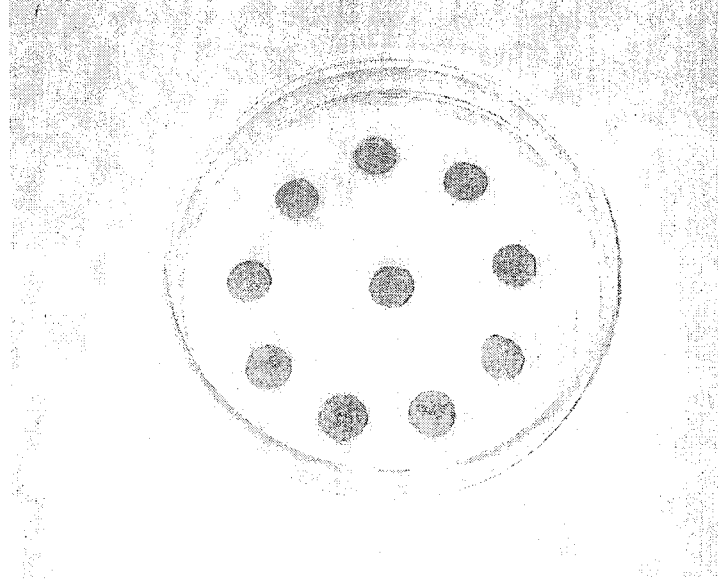


Şekil 2.2.1.1.2. ABA standartlarının kromatogramlarına ait pik yüksekliklerinden elde edilen standart eğri

Bütün bu işlemlerden sonra, her bir bitki parçasından (kök, gövde ve yaprak) elde edilen 2 ml'lik metil klorid ekstraları ABA tayininde kullanıldı. Bu amaçla ekstraların her birinden 20'şer µl HPLC'ye enjekte edildi ve belirtilen şartlarda pik yükseklikleri belirlendi. Bundan sonra çalışma grafiği kullanılarak bu pik yüksekliklerine karşı gelen ABA miktarı tespit edildi.

2.3.Fidelerden Yaprak Disklerinin Alınması

Yaprak disklerinin elde edilmesinde kullanılacak ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fidelerinin yetiştirilmesi 2.2'de anlatıldığı gibi yapıldı. Fakat burada bir haftalık fideler yerine bir aylık fideler kullanıldı. Diskler fidelerin homojen görünümlü primer yapraklarından ve ana damardan geçmeyecek şekilde bir mantar matkabı yardımıyla 1cm çapında alındı [73]. Bu arada 40 adet 11cm çapında steril petri kutsu alındı ve 10'ar adetlik 4 gruba ayrıldı. Daha sonra her bir petri kutusu içine çift katlı filtre kağıtları yerleştirildi. Her bir petri kutusundaki filtre kağıtları kontrol grubu için 10'ar ml hoagland solüsyonu, diğerleri için ise yine 10'ar ml hoagland solüsyonuyla seyreltilmiş 0.03, 0.05, 0.07 mM civa (Hg⁺⁺) solüsyonları ile ayrı ayrı ıslatıldı. Bu şekilde hazırlanan petrilerin her birine ilk yaş ağırlıkları tespit edilmiş disklerden 6 şar adet gelecek şekilde transplantasyon yapıldı (Şekil 2.3.1). Bundan sonra kapağı kapatılan bütün petriler sera koşullarına kaldırılarak (sera koşulları; ışık için 3600 lümen/m², sıcaklık için 25-27°C, fotoperiyot 16 saat ışık, 8 saat karanlık) 72 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda her bir gruba ait disklerin (6 x 10) yüzey suları çok dikkatli bir şekilde kurutma kağıtlarına emdirilerek alındı ve son (yaş) ağırlıkları tespit edildi.



Şekil 2.3.1. İlk yaş ağırlıkları tespit edilmiş disklerin petrilerdeki görünümü.

2.3.1. Disklerde Absisik Asit Ekstraksiyonu

Absisik asit miktarını tespit etmek için ilk olarak kullanılacak ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fideleri yetiştirildi ve daha sonra bu fidelerden diskler alındı. Gerek fidelerin yetiştirilmesi, gerek primer yapraklardan disklerin alınması ve gerekse inkübasyona bırakılan disklerle yapılan uygulamaların tümü 2.3.'de anlatıldığı şekilde yapıldı. 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda her bir gruba ait $10 \times 6 = 60$ 'şar adet diskin son yaş ağırlığı tespit edildikten sonra, bu disklerde absisik asit (ABA) ekstraksiyonuna gidildi. ABA ekstraksiyonu için Cobat [72]'da anlatılan yöntemin aşağıdaki gibi modifikasyona uğratılmış şekli kullanıldı.

Son yaş ağırlıkları tespit edilen 0.03 mM Civa tuzuna ait diskler bir jilet yardımıyla küçük parçalara ayrılarak homojenizatöre konuldu. Üzerine %90'lık 100 ml metanol ve antioksidan olarak 20 mg bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) eklendikten sonra 1.5 dakika süreyle homojenize edildi. Daha sonra bu ekstrakt 12 saat süreyle 4 °C'de buzdolabında bekletildi. Whatman No1 filtre kağıdı kullanılarak Buchner hunisi ile süzüldü. Süzüntü 35°C'de rotavaporda su fazına kadar uçuruldu. Su fazının pH'ı 6N NaOH ile 8'e ayarlandı ve ayırma hunisinde 3 x 50 ml etil asetat ile çalkalanarak bazik ve nötr maddelerin etil asetat fazına geçmesi sağlandı. Bazik ve nötr maddeleri içeren etil asetat fazı atıldı, geriye kalan su fazı absisik asit (ABA) tayininde kullanıldı. Bu işlemlerin aynısı 0.05 ve 0.07 mM'lık civa tuzlarına maruz bırakılan diskler ve kontrol grubuna ait diskler için de ayrı ayrı yapıldı.

2.3.1.1. ABA Ekstraksiyonu ve Tayini

Cıvanın her bir konsantrasyonu ve kontrol grubuna ait disklerden elde edilen su fazlarından her biri için ayrı ayrı olacak şekilde; pH'ları 6N HCl ile 2.5'a ayarlandı ve ayırma hunisinde 3 x 50 ml etil asetat ile çalkalandı. Böylece asidik maddelerin etil asetat fazına geçmesi sağlandı. Daha sonra su fazı atılarak, geriye kalan etil asetat fazı 35 °C'de düşük basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu ve kalıntı 2ml metil kloridle (CH₂Cl) alındı. Bu şekilde elde edilen 2 ml'lik metil klorid ekstresi ABA tayininde kullanıldı.

HPLC çalışmasında bir önceki deneylerde olduğu gibi CECIL 1100 serisi HPLC cihazı, UV dedektörü ve ODS-1 kolonu kullanıldı. Burada da ilk önce standart ABA (HPLC standardı)'nın kromatogramı elde edildi. Yine mobil faz olarak metanol kullanıldı ve akış hızı 1.5ml.dak⁻¹ olarak belirlendi. Standart ABA'nın kromatogramı ve konsantrasyona karşı pik yüksekliği grafiği 2.2.1.1 de anlatıldığı gibi elde edildi.

Bütün bu işlemlerden sonra, cıvanın her bir konsantrasyonuna ve kontrol grubuna ait disklerden elde edilen 2ml'lik metil klorid ekstreleri ABA tayininde kullanıldı. Bu amaçla ekstrelerin her birinden 20'şer µl HPLC'ye enjekte edildi ve belirtilen şartlarda pik yükseklikleri belirlendi. Bundan sonra çalışma grafiği (konsantrasyona karşı pik yüksekliği grafiği) kullanılarak, bu pik yüksekliklerine karşı gelen ABA miktarları ayrı ayrı tespit edildi.

2.4.İstatistik Analizler

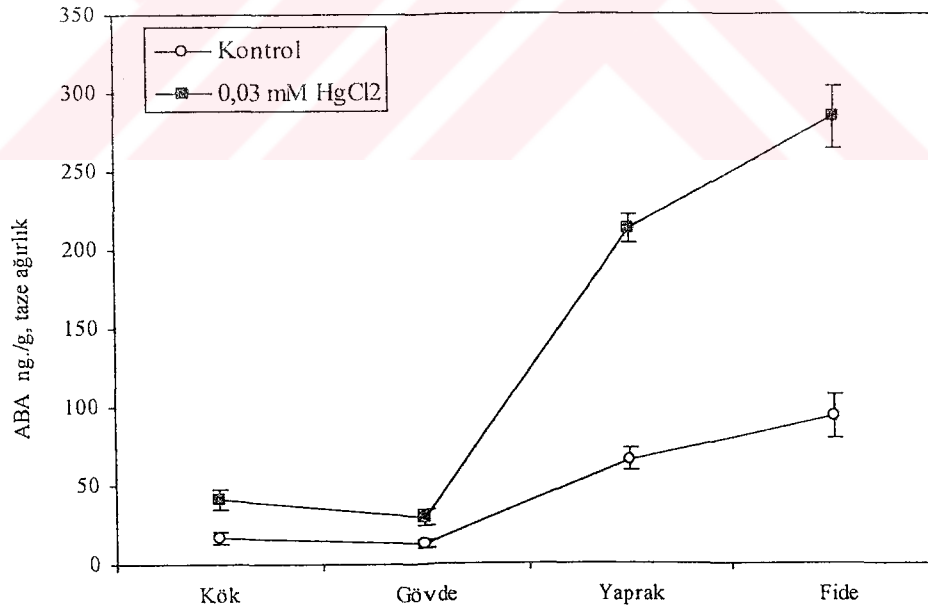
Bütün deneyler 3 defa tekrar edildi. Sonuçlar ortalamanın standart hatası alınarak ve varyans analizi yapılarak istatistik analize tabi tutuldu. Varyans analizi bilgisayarda SPSS 10.0 Windows programı kullanılarak çoklu karşılaştırma testi ile p<0.05 ve p<0.01 önem seviyelerinde yapıldı. Ortalamanın standart hatası grafiklerdeki kırık çizgiler üzerinde dikey çizgiler (bar) şeklinde verildi.

3. BULGULAR

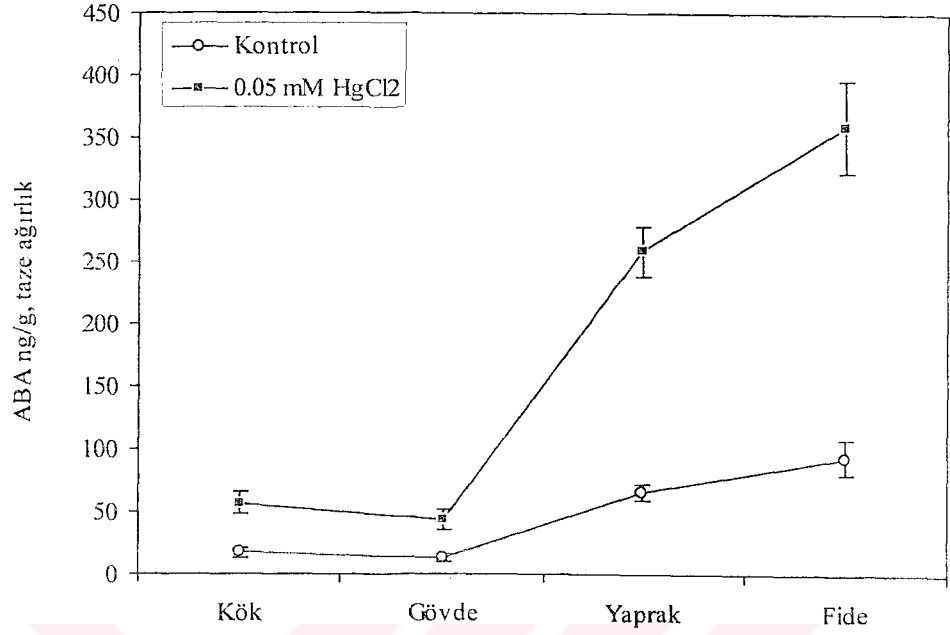
Civa klorür (HgCl_2)'ün farklı konsantrasyonlarında (0.03, 0.05 ve 0.07 mM) on gün süreyle büyütülen ayçiçeği bitkilerinin kök, gövde, yaprak, fide ve yaprak disklerinden HPLC ile tespit edilen absisik asit miktarları Tablo 1 ile Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3 ve Şekil 3.4' de verilmiştir.

Tablo3.1.Farklı konsantrasyonlarda civa klorür uygulanan ayçiçeği bitkilerinin kök, gövde, yaprak, fide ve yaprak disklerindeki ABA miktarları (ng/g).

Uygulamalar	Absisik asit (ABA) miktarı (ng/g)				
	Kök	Gövde	Yaprak	Fide	Yaprak diski
Kontrol	17 ± 4	13 ± 3	66 ± 7	94 ± 14	103 ± 18
0.03 mM HgCl_2	41 ± 6	30 ± 5	213 ± 9	284 ± 20	388 ± 33
0.05 mM HgCl_2	57 ± 9	43 ± 8	259 ± 20	359 ± 37	482 ± 46
0.07 mM HgCl_2	52 ± 8	48 ± 11	264 ± 18	364 ± 37	478 ± 41



Şekil 3.1. On gün süreyle 0.03 mM HgCl_2 uygulanan ayçiçeği bitkilerinde kök, gövde, yaprak ve fidelerin ABA içerikleri (ng/g).

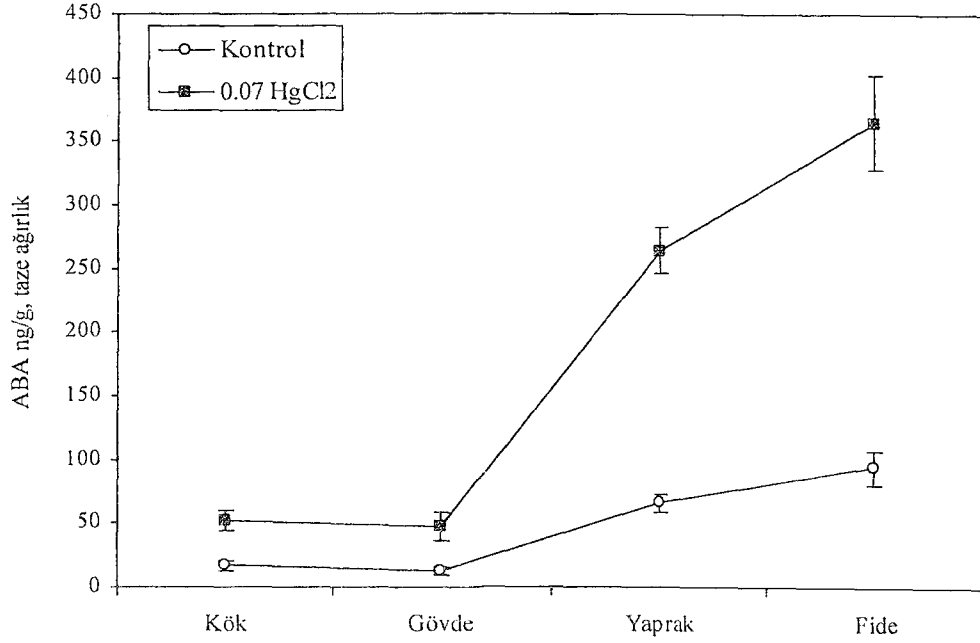


Şekil 3.2. On gün süreyle 0.05 mM HgCl₂ uygulanan ayçiçeği bitkilerinde kök, gövde, yaprak ve fidelerin ABA içerikleri (ng/g).

Bu tablo ve şekillerden görüleceği üzere civa klorürün kullanılan her üç konsantrasyonu da fidelerin kök, gövde ve yaprak dokularının içsel absisik asit düzeylerinde önemli artışlar meydana getirmiştir ($p < 0.05$ veya $p < 0.01$). Civa tuzu uygulamasına bağlı olarak ayçiçeği bitkilerinin kök, gövde, yaprak, fide ve yaprak disklerinde, kontrole göre, sırasıyla % 141-206, % 131-269, % 223-300, % 202-287 ve % 277-367 arasında değişen artışlar kaydedilmiştir ($p < 0.01$).

0.03 mM HgCl₂ uygulanan ayçiçeği bitkilerinin köklerinde kontrol bitkilerine göre %141 lik bir artış gerçekleşmiştir ($p < 0.01$). Bu değer gövde, yaprak ve fide için sırasıyla % 131, % 223 ve % 202 olarak ölçülmüş ve istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). 0.05 mM HgCl₂ uygulanması aynen bir önceki uygulama gibi, hatta ondan biraz daha fazla oranda fidelerin kök, gövde ve yaprak dokularındaki absisik asit içeriğini yükseltmiştir ($p < 0.01$). Civa tuzunun bu konsantrasyonu kök, gövde ve yapraklarda sırasıyla % 235, % 231 ve % 292 oranlarında artışa sebebiyet vermiştir ($p < 0.01$) (Şekil 3.2)

Bir haftalık olduktan sonra on gün boyunca 0.07 mM civa tuzuna maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin kök, gövde ve yapraklarındaki absisik asit miktarları Şekil 3.3'de gösterilmiştir.

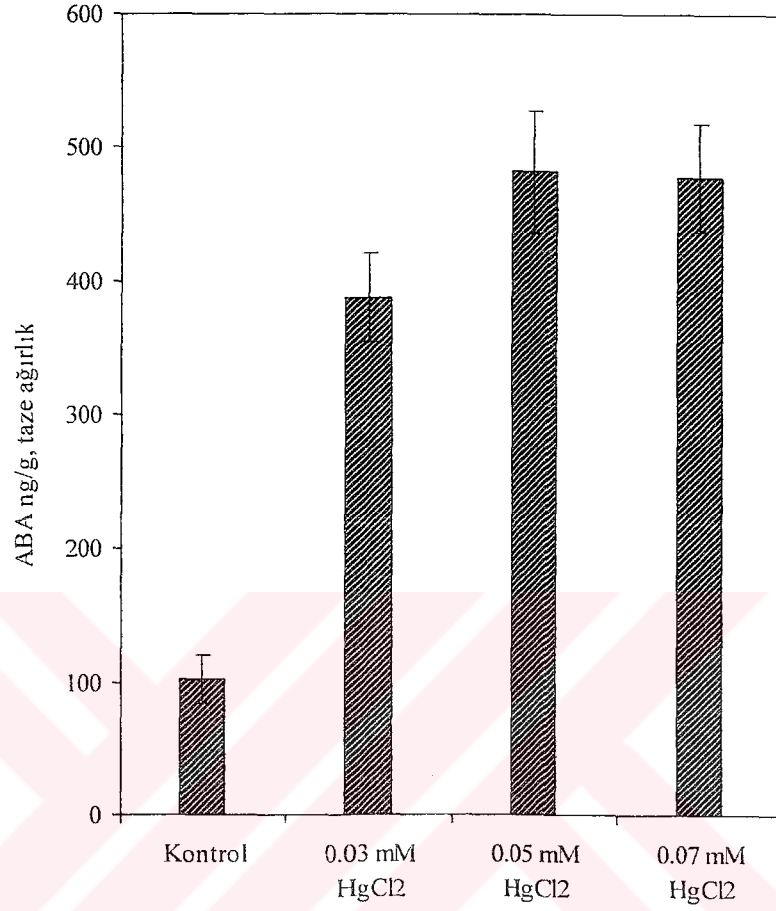


Şekil 3.3. On gün süreyle 0.07 mM HgCl₂ uygulanan ayçiçeği bitkilerinde kök, gövde, yaprak ve fidelerin ABA içerikleri (ng/g)

Görüldüğü gibi civanın bu konsantrasyonu kök, gövde, yaprak ve fide de kontrol bitkilerine göre sırasıyla % 206, % 269, % 300 ve % 287 gibi çok yüksek değerlere varan artışlara neden olmuş ve değerler istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.01$).

Civa tuzu uygulanan fidelerin absisik asit düzeyleri birbiriyle kıyaslandığında; 0.05 ve 0.07 mM'lık tuza maruz bırakılan bitkilerin kök, gövde ve yaprak dokularındaki absisik asit düzeyleri arasında istatistik olarak önemli sayılabilecek bir farklılık tespit edilememiştir ($p > 0.05$). Fakat civa tuzunun bu iki konsantrasyonuna maruz bırakılan bitkilerin kök, gövde ve yaprak dokularında ölçülen absisik asit miktarları 0.03 mM tuza maruz bırakılan bitkilerinkine kıyaslandığında en az $p < 0.05$ düzeyinde fark görülmüştür. Yani 0.03 mM civa tuzuna maruz kalan fidelerin söz konusu organlarındaki absisik asit düzeyi 0.05 ve 0.07 mM konsantrasyonlarındaki tuza maruz bırakılan bitkilerden daha düşük çıkmıştır.

Otuz günlük bitkilerin primer yapraklarından alınan ve farklı konsantrasyonlarda civa tuzu içeren ortamlarda 72 saat süreyle inkübe edilen 1 cm çapındaki yaprak disklerinin, bu süresinin sonunda HPLC ile tespit edilen absisik asit düzeyleri Şekil 3.4'de verilmiştir.

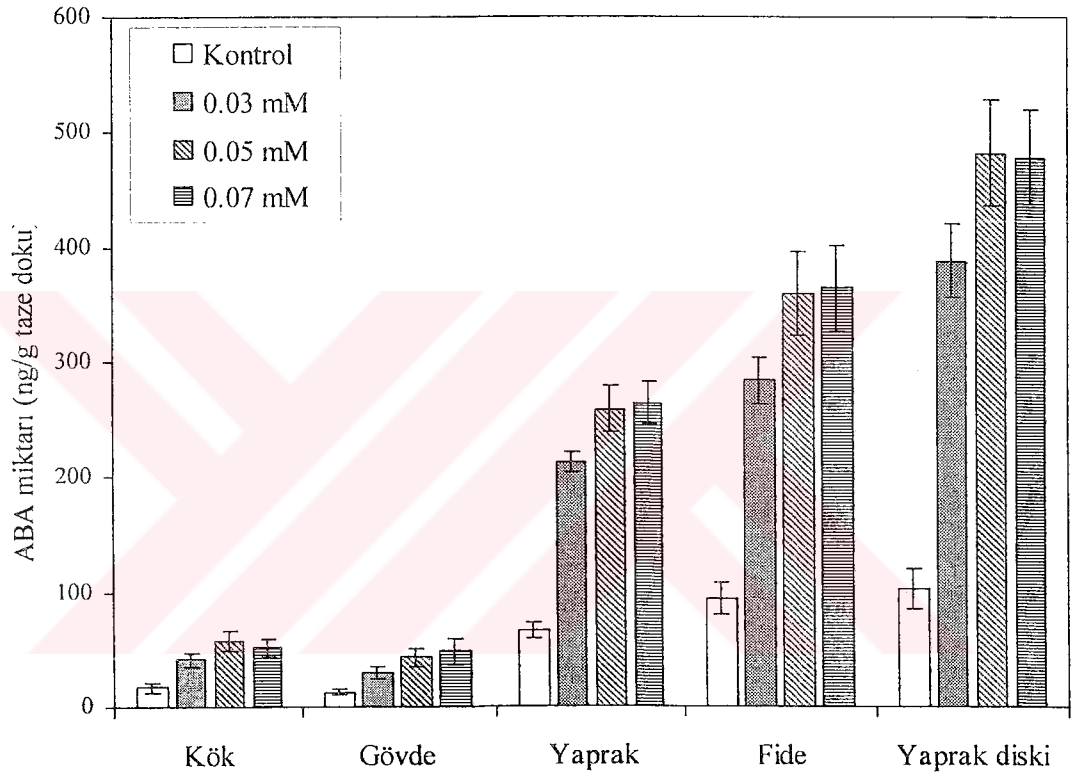


Şekil 3.4. Civanın farklı konsantrasyonlarını içeren hoagland solüsyonlarında 72 saat süreyle inkübe edilen yaprak disklerinin absisik asit miktarları (ng/g).

Şekildeki histogramlardan da görüldüğü gibi civa uygulaması yaprak disklerinin absisik asit düzeylerini birkaç kata varan oranlarda artırmıştır. 0.03, 0.05 ve 0.07 mM'ar HgCl₂ içeren ortamlardaki disklerin absisik asit miktarları kontrol grubunu oluşturan disklere göre sırasıyla %277, %368 ve %364 oranında artmış ve bu oranlar anlamlı bulunmuştur ($p < 0.01$).

4.TARTIŞMA

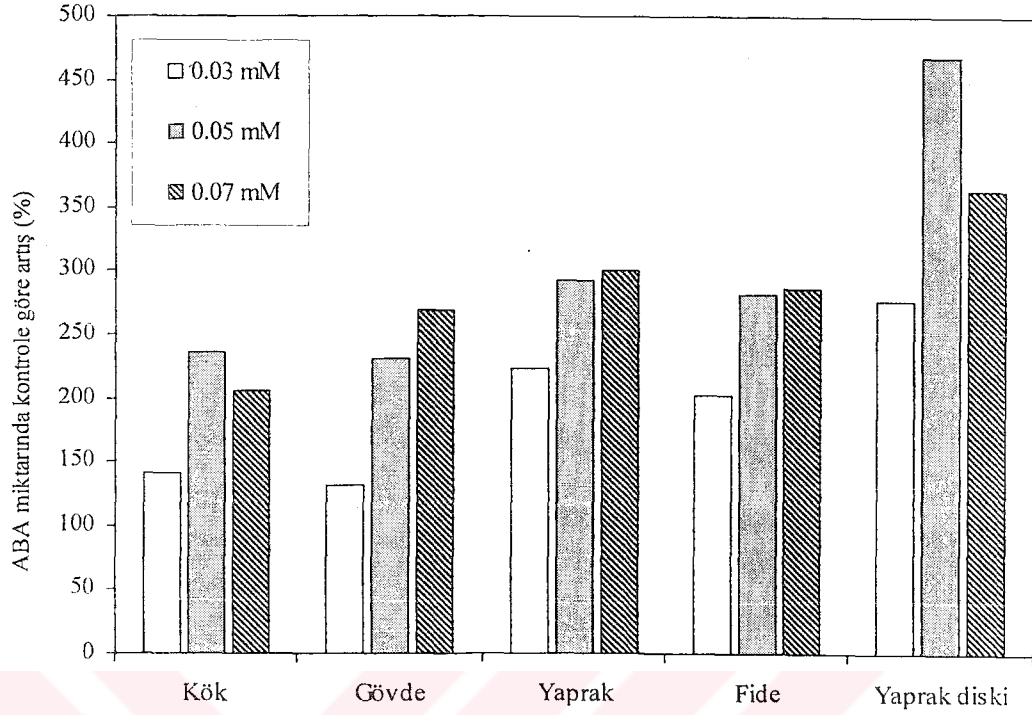
Klor tuzu şeklinde uygulanan civa ağır metali ayçiçeği fidelerinin gerek kök, gövde ve yapraklarındaki, gerekse ayçiçeği yaprak disklerindeki absisik asit düzeylerini çok büyük oranda artırmıştır. Absisik asit miktarı hem kontrol bitkilerinde hem de civa stresi altında büyütülmüş bitkilerde en çok yaprak disklerinde ölçülmüş, bunu sırasıyla fidenin yaprak, kök ve gövde kısımları takip etmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Civanın değişik konsantrasyonlarında büyütülen ayçiçeği fidelerin farklı organ ve dokularındaki absisik asit miktarları (ng/g.taze doku)

Civa stresinin neden olduğu absisik asit düzeylerindeki artış oranlarında da yukarıdaki sıralama (yaprak diski, yaprak, kök, gövde) gözlenmiş, sadece 0.07 mM civa tuzu uygulanan fidelerde kök ile gövde yer değiştirmiş, yani gövdedeki absisik asit miktarı kök dokusundaki absisik asit miktarına göre daha yüksek çıkmıştır (Şekil 4.2)

Uygun olmayan çevre koşullarının (susuzluk, tuzluluk, aşırı soğuk, aşırı sıcak,...) oluşturduğu stresin bitkilerin absisik asit düzeyini artırdığı uzun zamandan beri bilinen bir durumdur. Özellikle bitkinin stres faktörüne karşı geliştirdiği adaptasyonlarda bu tepki çok önemlidir [75-77]. Mesela su stresi altındaki bitkilerde, absisik asit sentezi artar ve köklerden



Şekil 4.2. Cıvanın değişik konsantrasyonlarında büyütülen ayçiçeği fidelerinin kök, gövde, yaprak, fide ve yaprak disklerinde absisik asit miktarının kontrol bitkilerine göre artış %' leri

yapraklara taşınan absisik asit stomaların kapanmasını teşvik ederek su potansiyelinin azalmasını engeller. Bu da bitkinin susuzluğa karşı direncini artırır [77]. Tuzluluk [75,78,79], besin eksikliği [80] ve kuraklık [81] bitkide ABA düzeyinin artmasına yol açan önemli çevresel stres faktörleridir. Su stresinde *Oryza sativa* (cv. LG11) köklerinin gelişiminin engellendiği, osmotik potansiyelin azaldığı ve absisik asit birikiminin olduğu tespit edilmiştir [65]. Hücresel seviyede ağır metallerin en önemli etkileri membran bütünlüğünü değiştirerek aktif oksijen türlerinin (AOT) oluşmasını sağlamaktır [82]. Aktif oksijen türlerinin etkilerini azaltmak veya yok etmek için bitkide aktif koruyucu mekanizmalar bulunmaktadır. Bu koruyucu mekanizmalar arasında absisik asit de yer almaktadır. Mesela absisik asit uygulanan *Arabidopsis thaliana* bitkisinin donmaya karşı tolerans kazandığı [83], absisik asitin koruyucu mekanizma olarak stomaları kapattığı, antioksidan enzim indüksiyonuna sebep olduğu [84] ve poliamin seviyesini değiştirdiği [85] tespit edilmiştir. Süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerinin ABA uygulaması ile arttığı rapor edilmiştir [86,87].

Metallerin ve özellikle de ağır metallerin bitki hormonlarının düzeyini nasıl etkilediği hususunda yapılan çalışma sayısı hem çok az, hem de yenidir. Talanova ve diğ. [88] tarafından yapılan bir çalışmada *Cucumis sativus* fidelerine 1, 4 ve 7 gün süreyle 1-500 µM kurşun ve 5-1000 µM kadmiyum uygulanmış ve ABA miktarının arttığı gözlenmiştir. 144 saat süreyle 3µM kadmiyuma maruz bırakılan *Phaseolus vulgaris* L.cv Contender bitkilerinde yaprak su içeriğinin azaldığı, stoma direnci ile kök ve yapraklarda ABA seviyesinin arttığı belirtilmiştir [89]. Bakır ve nikel kirliliğinin *Empetrum nigrum* L. bitkisinde ABA seviyesini artırdığı rapor edilmiştir [90]. Kobalt, nikel ve çinko stresi altındaki *Phaseolus vulgaris* bitkilerinde ABA birikimi görülmüştür [91]. *Oryza sativa* cv. Taichung Native1 bitkisi 12 gün süreyle 10 mM CuSO₄ maruz bırakıldığında yapraklarda ABA miktarının arttığı tespit edilmiştir [92]. *Vetiveria zizanioides* L. bitkisi kurşun ve çinkoya maruz bırakıldığında yaprak ve köklerde ABA miktarının arttığı bildirilmiştir [93]. Bu bulgular bizim ayçiçeği bitkisine civa tuzu uygulayarak kök, gövde ve yaprak dokularında elde ettiğimiz absisik asit düzeylerine ait sonuçların doğruluğunu destekler niteliktedir.

Çalışmamızda ağır metal stresinin absisik asit düzeyini artırması, ağır metal uygulaması sonucu bitkide su stresinin meydana gelmesi veya ağır metallerin gövdeye taşınımının engellemesi nedenlerine bağlanabilir. Daha önce de belirttiğimiz gibi bitkilerin ağır metal stresine karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlardan biri ağır metalin köklerde tutulup gövdeye taşınımının engellenmesidir. Tuz stresi altındaki bitkilerde, ABA'nın köklerdeki miktarını artırarak tuzun gövdeye taşınımını engellediği hususunda çok sayıda rapor mevcuttur [94-98].

Kara bitkilerinde hücrel turgorun azalmasına yol açan faktörlerin ABA biyosentezini başlatan döngünün anahtarı olduğu konusunda çeşitli deliller vardır. Yaprak su potansiyelinin azalması durumunda, bu organda kademeli bir şekilde absisik asit birikiminin olduğu bildirilmiştir [99, 100]. Turgordaki azalmanın stomaların kapanmasına sebep olduğu [46,101], su kıtlığı stresine uğramış bir yapraktaki absisik asit miktarında 10 kat artışı [46] ve plazmolizin absisik asit üretimini kendiliğinden teşvik ettiği ve mezofilin stres sırasında apoplastik sıvı içerisine salıverilen ABA'nın kaynağı olduğu tespit edilmiştir [47-54]. Absisik asitin osmotik düzenlemeyle [76] tuza karşı kültürü yapılmış hücrelerin adaptasyonunu hızlandırdığı not edilmiştir [101]. Absisik asit vasıtasıyla tuz adaptasyonunun alakası 26-kilodalton proteinin sentezlenmesi olduğu ve bu proteinlerin tuz adaptasyonunda bir rol oynadığı bildirilmiştir [102, 103].

Sonuç olarak civa ayçiçeği fidelerinin kök, gövde, yaprak ve yaprak disklerindeki içsel absisik asit seviyelerinde önemli oranlarda artışlar meydana getirmiştir. Absisik asit içeriğindeki artışın bitki organının çeşidine ve ağır metalin konsantrasyonuna göre değiştiği anlaşılmıştır.

Genel olarak civa konsantrasyonundaki artış kök, gövde, yaprak ve yaprak disklerindeki absisik asit düzeylerinde artışla sonuçlanmıştır.



5. KAYNAKLAR

1. Barcello, J. and Poschenrieder, Ch., 1990, Plant water relations as effected by heavy metal stres, A Review, J. of Plant Nutrition, 13 (1), 1-37.
2. Tiller, K.G., 1989, Heavy metals in soils and their environment significance, advances in soil science, Springer Verlag, 9, 113-142, New york.
3. Nedelkoska, T.V. and Doran, P.M., 2000, Characteristics of heavy metal uptake by plants species with potential for phytoremediation and phytomining, Minerals Eng., 13, 549-561.
4. Welch, R.M., 1995, Micronutrient nutrition of plants, Critical Reviews in plant Sciences, 14 (1), 49-82.
5. Salisbury, F.B. and Ross, C.W., 1992, Plant Physiology, 4th End. Wadsworth, Belmont, Ca.
6. Clijsters, H. and Van Assche, F., 1985, Inhibition of photosynthesis by heavy metals, Photosynth. Res., 7, 31-40.
7. Simith, R. A.H. and Bradshaw, A.D., 1979, The use of metal tolerant plant populations for the reclamation of metalliferous wastes. J. Appl. Ecol. 16, 595-612.
8. Steffens, J.D., 1990, The heavy metal-binding peptides of plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol., 41, 533-575.
9. Verkleij, J. A.C. and Schat, H., 1990, Mechanism of Metal Tolerance in Higher Plants in Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary Aspects (A.J. Shawed). Crc, Boca Raton, F.L., p: 179-193.
10. Fernandes, J.C. and Henriques, F.S., 1991, Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants, The Bot. Revi., 57, 246-273.
11. Lidon, F.C. and Henriques, F.S., 1994, Subcellular localization of copper and partial isolation of copper proteins in rots from rice plants exposed to excess copper, Aust. J. Plant Phsyol., 21, 427-436.
12. Lidon, F.C., Ramalho, J. and Henriques, F.S., 1993, Copper inhibition of rice photosynthesis, J. Plant. Physiol., 142, 12-17.
13. Ouzounidou, G., 1994, Copper induced changes on growth, metal content and photosynthetic functions of *Alyssum montanum* L. Plants. Env. Exp. Bot., 34, 165-172.
14. Striborova, M., Hordmadkova, R. and Leblova, S., 1986, Effects of ions of heavy metals on the photosynthetic characteristics of maize (*Zea mays* L.). Biologia., 41, 1221-1228.
15. Mor, I.R., Gokani, S.J. and Chanda., S.V., 2002, Effect of mercury toxicity on hypocotyl elongation and cell wall loosening in phaseolus seedlings, J. of Plant Nutrition, 25 (4): 843-860.

16. Alhelal, A.A., 1995, Effect of cadmium and mercury on seed-germination and early seedling growth of rice and alfalfa, *J. of the Univ. of Kuwait-Sci.*, 22(1): 76-83.
17. Parmar, N.G., Vithalani, S.D. and Chanda, S.V., 2002, Alteration in growth and peroxidase activity by heavy metals in *Phaseolus* seedlings, *Acta Physiol. Plant.*, 24(1): 89-95.
18. Mishra, A. and Choudhuri, M.A., 1998, Amelioration of lead and mercury effects on germination and rice seedling growth by antioxidants, *Biol. Plant.*, 41, 3, 469-473.
19. Gupta R., 1991, Toxic effects of mercury on seed-germination of bean and mustard, *Comparative Physiol. and Ecology.*, 16(1): 43-45.
20. Mrozek, E., 1980, Effect of mercury and cadmium on germination of *Spartina alterniflora* loisel seeds at various salinities, *Env. Exp. Bot.*, 20(4): 367-377.
21. Ayaz, F.A. ve Kadioğlu, A., 1997, Ağır metallerin (Zn, Cd, Cu ve Hg) çimlenen *Lens esculenta* L. tohumlarındaki çözümlü protein bantları üzerine etkileri, *Tr J. of Bot.*, 21(2), 85-88
22. Hsu, F.H. and Chou, C.H., 1992, Inhibitory effects of heavy-metals on seed-germination and seedling growth of miscanthus species, *Bot. Bulletin of Academia sinica*, 33(4): 335-342.
23. Gupta, M. and Chandra, P., 1998, Bioaccumulation and toxicity of mercury in rooted-submerged macrophyte *Vallisneria spiralis*. *Env. Pollution*, 103, 327-332.
24. Cho, U.H. and Park, J.O., 2000, Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings, *Plant Science*, 156, 1-9.
25. Govindasamy, V. and Balasubramanian, R., 1994, Purification and properties of apoplastik chitinases from rust infected-leaves of *Arachis-Hypogaea* L., *Botanica helvetica*, 104 (1): 79-86.
26. Shaw, B.P., 1995, Effects of mercury and cadmium of the activities of antioxidative enzymes in the seedlings of *Phaseolus-Aureus*, *Bio. Plant.*, 37 (4): 587-596..
27. Golbeck, J.H., Lein, S. and San Pietro A., 1977, Isolation and characterization of a subchloroplast particle enriched in iron sulfur protein and P₇₀₀, *Arch. Biochem., Biophys.*, 178, 140-150
28. Kojima, Y., Hiyama, T. and Sakurai, H., 1987, Effect of mercurials on iron sulfur centers of PsI of *Anacystis nidulans* in biggins J. (ed.), *Progress in Photosynthesis Research*, 57-60.
29. Honeycutt, R.C. and Krogmann, D.W., 1972, Inhibition of chloroplast reactions with phenylmercuric acetate, *Plant Physiol.*, 49, 376-380.
30. Prasad, D.D.K. and Prasad, A.R.K., 1987b, Effect of lead and mercury on chlorophyll synthesis in mung bean seedlings, *Phytochemistry (Oxf)*, 26,881-884.

31. Samson, G. and Popoviç, R., 2001, Inhibitory effects of mercury on photosystem II photochemistry in *Dunaliella tertiolecta* under *in vivo* conditions, *J. of Photochemistry and photobiology B: Biology*, 5, 3-4.
32. Terashima, I. and Ono K., 2002, Effects of HgCl₂ on CO₂ dependence of leaf photosynthesis: Evidence indicating involvement of aquaporins in CO₂ diffusion across the plasma membrane, *Plant and Cell Physiol.*, 43(1): 70-78.
33. Bernier, M., Popoviç, R. and Carpentier, R., 1993, Mercury inhibition at the donor side of photosystem II is reversed by chloride, *FEBS* 12313, 321(1): 19-23.
34. Nagoor, S., 1997, A study of influence of cadmium and mercury on growth and protein metabolism in cowpea seedlings, *J. of Phy. Research*, 10, 31-34.
35. Sinha, S., Gupta, M. and Chandra, P., 1996, Bioaccumulation and biochemical effects of mercury in the plant *Bacopa monnieri* L., *Env. Tox. and Water Qual.*, 11, 2, 105-116.
36. Zeevaart, J.A.D. and Creelman, R.A., 1988, Metabolism and Physiology of Abscisic Acid, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 39: 439-73.
37. Poschenrieder, Ch., Gunse, B. and Barcelo, J., 1989, Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance and abscisic acid content in expanding bean leaves, *Plant Physiol.*, 90:1365-1371.
38. Monni, S., Uhling, C., Hansen, E. and Magel, E., 2001, Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution, *Environ. Pollut.*, 112, 121-129.
39. Rauser, W.E. and Dumbroff, E.R., 1981, Effects of excess cobalt, nickel and zinc on the water relations of *Phaseolus vulgaris*, *Env. and Exp. Bot.*, 21, 249-255.
40. Chen, H.H., Li, P.H. and Brenner, M.L., 1983, Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation, *Plant Physiol.*, 71:362-65.
41. Lalk, I. and Dörffling, K., 1985, Hardening, abscisic acid, praline and freezing resistance in two winter wheat varieties, *Physiol. Plant.*, 63: 287-92.
42. Chen, T.H.H. and Gusta, L.V., 1993, Abscisic acid-induced freezing resistance in cultured plant cell, *Plant Physiol.*, 73:71-75.
43. Orr, W., Keller, W.A. and Singh, J., 1986, Induction of freezing tolerance in an embryogenik cell suspension culture of *Brassica napus* by abscisic acid at room temperature, *J. Plant Physiol.*, 126: 23-32.
44. Reaney, M.J.T. and Gusta L.V., 1987, Factors influencing the induction of freezing tolerance by abscisic acid in cell suspension cultures of *Bromus inermis* Leys *Medicago sativa* L. *Plant Physiol.*, 83:423-27.
45. Steward, C.R. and Voetberg, G., 1987, Abscisic acid accumulation is not required for praline accumulation in wilted lives, *Plant Physiol.*, 83: 747-49.

46. Jackson, M.B. and Hall, K.C., 1987, Early stomatal closure in waterlogged pea plants is mediated by abscisic acid in the absence of foliar water deficits, *Plant Cell Environ.*, 10: 121-30.
47. Creelman, R.A. and Zeevaart, J.A.D., 1985, Abscisic acid accumulation in spinach leaf slices in the presence of penetrating and non-penetrating solutes, *Plant Physiol.*, 77:25-28.
48. Hartung, W., Gimmler, H. and Heilmann, B., 1982, The compartmentation of abscisic acid (ABA), of ABA-biosynthesis, ABA-metabolism and ABA-conjugation, In *plant growth substances 1982*, ed. P.F. Wareing, p. 325-33. London: Academic. 683 p.
49. Hartung, W., Kaiser, W.M. and Burschka, C., 1983, Release of abscisic acid from leaf strips under osmotic stress. *Z. Pflanzenphysiol.*, 112: 131-38.
50. Loveys, B.R. and Robinson, S.P., 1987, Abscisic acid synthesis and metabolism in barley leaves and protoplast, *Plant Sci.*, 49: 23-30.
51. Mawson, B.T., Colman, B. and Cumminis, W.R., 1981, Abscisic acid and photosynthesis in isolated leaf mesophyll cell, *Plant Physiol.*, 67: 233-36.
52. Radin, J.W. and Hendrix, D.L., 1986, Accumulation and turnover of abscisic acid in osmotically stressed cotton leaf tissue in relation to temperature, *Plant Sci.*, 45: 37-42.
53. Rivier, L., Leonard, J.F. and Cottier, J.P., 1983, Rapid effect of osmotic stress on the content and exodiffusion of abscisic acid in *Zea mays* roots. *Plant Sci. Lett.*, 31: 133-37.
54. Weiler, E.W., Schnabl, H. and Hornberg, C., 1982, Stress-related levels of abscisic acid in guard cell protoplasts of *Vicia faba* L. *Planta*, 154: 24-28.
55. Lahr, W. and Raschke, K., 1988, Abscisic acid contents and concentrations in protoplasts from guard cells and mesophyll cells of *Vicia faba* L. *Planta*, 173:528-531.
56. Cornish, K. and Zeewart, J.A.D., 1985, abscisic acid accumulation by roots of *Xanthium stromarium* L. and *Lycopersicon esculentum* Mill. In relation to water stress. *Plant Physiol.*, 79, 653-658.
57. Hubick, K.T., Taylor, T.S. and Reid, D.M., 1986, The effect of drought on levels of ABA, Cytokinin, Gibberelins and ethylene in aeroponically grown sunflowers plants. *J. Plant Growth Regul.*, 4, 139-151.
58. Lachno, D.R. and Baler, D.A., 1986, Stress induction of abscisic acid in maize roots. *Physiol. Plant.*, 68, 215-221.
59. Robertson, J.M., Pharis, R.P., Huang, Y.Y., Reid, D.M. and Yeung, E.C., 1985, Drought-induced increases in abscisic acid levels in the root apex of sunflower. *Plant Physiol.*, 79, 1068-1089.

60. Walton, D.C., Harrison, M.A. and Cote, P., 1976, The effects of water stress on abscisic acid levels and metabolisms in roots of *Phaseolus vulgaris* L. and other plants. *Planta*, 131: 141-44.
61. Zhang, J. and Davies, W.J., 1987, Increased synthesis of ABA in partially dehydrated root Tips and ABA transport from roots to leaves. *J. Exp. Bot.*, 38:2015-23.
62. Tardieu, F., Katerji, N., Bethenod, O., Zhang, J. and Davies, W.J., 1991, Maize stomatal conductance in the field: its relationship with soil and plant water potentials, mechanical constraints and root messages. *Plant Cell Environ*, 14:121-126.
63. Loveys, B.R., 1984, Diurnal changes in water relations and abscisic acid in field grown *Vitis vinifera* cultivars. III. The influence of xylem-derived abscisic acid on leaf gas exchange. *New Phytol.*, 98: 563-73.
64. Zhang, J., Schurr, U. and Davies, W.J., 1987, Control of stomatal behavior by abscisic acid which apparently originates in the roots. *J. Exp. Bot.*, 38:1174-81.
65. Cornic, G. and Miginiac, E., 1983, Nonstomatal inhibition of net CO₂ uptake by (+,-) abscisic acid in *Pharbitis nil*. *Plant Physiol.*, 73:529-33.
66. Raschke, K., 1982, Involvement of abscisic acid in the regulation of gas exchange: Evidence and inconsistencies. See Ref., 71, 581-90.
67. Raschke, K. and Hedrich, R., 1985, Simultaneous and independent effects of abscisic acid on stomata and the photosynthetic apparatus in whole leaves. *Planta*, 163: 105-18.
68. Ward, D.A. and Bunce, J.A., 1987, Abscisic acid simultaneously decreases carboxylation efficiency and quantum yield in attached soybean leaves. *J. Exp. Bot.*, 38: 1182-92.
69. Kutschera, U. and Schopfer, P., 1986, Effect of auxin and abscisic acid on cell wall extensibility in maize coleoptiles. *Planta*, 167: 527-35.
70. Stresty, T.V.S. and Madhova, K.V., 1999, Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of pigeonpea, *Env. and Exp. Bot.*, 41, 3-13.
71. Rovira, A.D., 1956; Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect, *Plant and Soil* VII, 2, 178-193.
72. Cabot, C., Poschenrieder, Ch. and Barcelo, J., 1986, A rapid method for extraction and estimation of abscisic acid from plant tissue using high performance liquid chromatography, *J. of Liquid Chrom.*, 9 (13) 2977-2986.
73. Baltepe, Ş., 1977, *Phaseolus vulgaris* L. Yapraklarından alınan disklerde yaşlanma ile absisik asit düzeyindeki değişmeler, *E.Ü. Fen Fakültesi Dergisi, Seri B, Cilt:1, Sayı:3*.
74. Addicott, F.T. and Van Stveninck, R.F.M., 1983, Significance of abscisic acid in the life of plants., In F.T. Addicott *Abscisic Acid*, Praeger New York, 581-586.

75. Chen, T.H.H. and Gusta, L.V., 1983, Abscisic acid-induced freezing tolerance in cultured plant cells, *Plant Physiol.*, 73, 71-75.
76. LaRosa, P.C., Hasegawa, P.M., Rhodes, D., Clithero, J.M., Watad, A. and Bresson R.A., 1987, Abscisic acid stimulated osmotic adjustment and its involvement in adaptation of tobacco cells to NaCl, *Plant Physiol.*, 85, 29-39.
77. Davies, W.J. and Zhang, J., 1991, Root signals and the regulation of growth and development of plant, plants in drying soil, *Annu. Review of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.*, 42, 55-76.
78. Walker, M.A. and Dumbroff, E.B., 1981, Effects of salt stress on abscisic acid and cytokinin levels in tomato. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 101, 461-470.
79. Mizrahi, Y., Blumenfeld, A. and Richmond, A.E., 1972, The role of abscisic acid and salination in the adaptive response of plants to reduced root aeration, *Plant Cell Physiol.*, 13, 15.
80. Goldbach, E., Goldbach, H., Wagner, H. and Michael, G., 1975, Influence of N-deficiency on the abscisic acid content of sunflower plants, *Physiol. Plant.*, 34, 138.
81. Zotz, G., Thomas, V. and Hartung, W., 2001, Ecophysiological consequences of differences in plant size: abscisic acid relationships in the epiphytic orchid *Dimerandra emarginata*, *Oecologia*, 129 (2), 179-185.
82. Dietz, K.J., Krämer, U. and Barter, U., 1999, Free radicals and reaktive oxygen species (ROS) as mediators of damage during heavy metal stress. In: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J. (EDS), *Heavy metal stress in plants: Molecules to Ecosystem*. Springer-Verlag, 73-97s
83. Lang, V., Mantyla, E., Welin, B., Sundberg, B. and Palva, E.T., 1994, Alterations in water status, endogenous abscisic acid content and expression of rab1 8gene during the development of freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana* . *plant physiol.*, 104, 1341-1349.
84. Prasad, T.K., Anderson, M.D. and Stewart, C.R., 1994, Acclimation, hydrogen peroxide and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings, *Plant Physiol.*, 105, 619-627.
85. Lee, T.M., Lur, H.S. and Chu, C., 1997, Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. II. Modulation of free polyamine levels, *Plant Sci.*, 129, 1-10.
86. Anderson, M.D., Prasad, T.K., Martin, B.A. and Stewart, C.R., 1994, Differential gene expression in chilling-acclimated maize seedlings and evidence for the involvement of abscisic acid in chilling tolerance, *Plant Physiol.*, 105, 331-339.

87. Bellaire, B.A., Carmody, J., Braud, J., Gossett, D.R., Banks, S.W., Lucas, M.C. and Fowler, M., 2000, Involvement of abscisic acid- dependent and independent pathways in the up-regulation of antioxidant enzyme activity during NaCl stress in cotton callus tissue, *Free radical. Res.*, 33, 531-545.
88. Talanova, V.V., Titov, A.F. and Boeva, N.P., 2000, Effect of increasing concentrations of lead and cadmium on cucumber seedlings. *Biologia Plantarum*, 43 (3):441-444
89. Poschenrieder, C., Gunse, B. and Barceló, J., 1989, Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant physiol.*, 90, 1365-1371 .
90. Monni, s., Uhlig, C., Hansen, E. and Magel, E., 2001, Ecophysiological responses of *Empedrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environ. Pollut.*, 112, 121-129.
91. Rauser, W.E. and Dumbroff, E.B., 1981, Effects of excess cobalt, nickel and zinc on the water relations of *phaseolus vulgaris*. *Environ. Exp. Bot.*, 21, 249-255.
92. Chen, C.T., Chen, L.M., Lin, C.C. and Kao, C.H., 2001, Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Sci.*, 160(2), 283-290.
93. Pang, J., Chan, G.S.Y., Zhang, J., Liang, J. and Wong, M.H., 2003, Physiological aspects of vetiver grass for rehabilitation in abandoned metalliferous mine wastes, *Chemosphere*, 52, 1559-1570.
94. Wolf, O., Jeschke, W.D. and Hartung, W., 1990, Long distance transport of abscisic acid in NaCl-treated plants of *Lupinus albus*, *J. Exp. Bot.*, 41, 593-600.
95. Zhao, K., Munns, R. and King, RW, 1991, Abscisic acid synthesis in NaCl- treated barley, cotton and saltbush, *Aust. J. Plant Physiol.*, 18, 17-24.
96. Thomas J.C., McElwain E.F. and BohnertH.J., 1992, Convergent induction of osmotic stress-responses, *Plant Physiol.*, 100, 416-423
97. He, T. and Cramer G.R., 1996, Abscisic acid concentrations are correlated with leaf area reductions in two salt-stressed rapid-cycling Brassica species, *Plant Soil*, 179, 25-33.
98. Gomez-Cadenas A., Tadeo F.R., Primo-Millo E. and Talon M., 1998, Involvement of abscisic acid and ethylene in the responses of citrus seedlings to salt shock, *Plant Physiol.*, 103, 475-484.
99. Ackerson, R.C., 1982, Synthesis and movement of abscisic acid in water-stressed cotton leaves, *Plant physiol.*, 69: 609-13.
100. Pierce, M. and Raschke, K., 1980, Correlation between loss of turgor and accumulation of abscisic acid in detached leaves. *Planta*, 148:174-82.

- 101.Zhang, J. and Davies, W.J., 1987, ABA in roots and leaves of flooded pea plants. *J. Exp. Bot.*, 38: 649-59.
- 102.LaRosa, P.C., Handa, A.K., Hasegawa, P.M. and Bressan, R.A., 1985, Abscisic acid accelerates adaptation of cultured tobacco cells to salt, *Plant Physiol.*, 79: 138-42.
- 103.Singh, N.K., LaRosa, P.C., Handa, A.K., Hasegawa, P.M. and Bressan, R.A., 1987, Hormonal regulation of protein synthesis associated with salt tolerance in plant cell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84:739-43.



ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1997 yılında Fırat Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimime başladım ve 2001 yılında tamamladım. 2001-2002 öğretim yılında aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji anabilim dalında yüksek lisans yapmaya hak kazandım. Halen lisans üstü tahsilimi sürdürüyorum.

Alpaslan KOÇAK

