



Hümkik Asit Uygulamasının Kıvırcık Salata Bitkisinde Ağır Metal Stresi Zararını Azaltma Etkisi

Fatma Özkay¹, Sevinç Kıran^{1*}, Şebnem Kuşvuran², Şeküre Şebnem Ellialtıoğlu³

¹Toprak Gübre ve Su Kaynakları Araştırma Enstitüsü, 06172 Ankara, Türkiye

²Çankırı Karatekin Üniversitesi, Kızılırmak Meslek Yüksekokulu, 18280 Çankırı, Türkiye

³Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 06110 Ankara, Türkiye

MAKALE BİLGİSİ

Geliş 14 Eylül 2015
Kabul 03 Mayıs 2016
Çevrimiçi baskı, ISSN: 2148-127X

Anahtar Kelimeler:

Lactuca sativa var. *Crispa*

Cu

Cd

Pb

Zn

Antioksidatif enzim

MDA

*Sorumlu Yazar:

E-mail: sevinckiran@tgae.gov.tr

Ö Z E T

Bu çalışmada, ağır metal stresi altında yetiştirilen kıvırcık salatanın bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine hümkik asit uygulamalarının etkisini ortaya koymak amaçlanmıştır. Kontrollü sera koşullarında yürütülen çalışmada 4 farklı hümkik asit dozu (0, 2, 4, 8 L/da) ve 4 farklı sulama suyu (Kontrol: 0 ppm; I. Karışım: 0,2 ppm Cu + 0,01 ppm Cd + 5 ppm Pb + 2 ppm Zn; II. Karışım: 0,4 ppm Cu + 0,02 ppm Cd + 10 ppm Pb + 4 ppm Zn, III. Karışım: 0,8 ppm Cu + 0,04 ppm Cd + 20 ppm Pb + 8 ppm Zn) kullanılmıştır. Bitkiler 4 hafta boyunca belirtilen içeriklere sahip sulama suyu ile sulanmış ve bu sürenin sonunda hasat edilerek örnekler alınmıştır. Çalışmada; bitkilerin yeşil aksam ve kök yaş ağırlığı, yeşil aksam ve kök kuru ağırlığı, gövde ve kök boyu, yaprak alanı, MDA miktarı, süperoksit dismutaz ve glutatyon redüktaz enzim aktiviteleri incelenmiştir. En yüksek toksik etki 0,8 ppm Cu + 0,04 ppm Cd + 20 ppm Pb + 8 ppm Zn düzeylerinde iyon içeriklerine sahip olan III. Karışım uygulamasında ortaya çıkmıştır. MDA miktarları ve antioksidatif enzim aktiviteleri, ağır metal karışımı içeren su ile sulanan bitkilerde artış göstermiştir. Ağır metal stresinin olumsuz etkisini azaltmada 4 L/da HA dozu diğer dozlara göre daha kararlı ve etkili bulunmuştur. Hümkik asit uygulamaları, ağır metal stresinin büyüme ve gelişme üzerine olan olumsuz etkisini azaltma üzerinde etkili olmuştur.

Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 4(6): 431-437, 2016

The Effects of Humic Acid Applications on Heavy Metal Stress in Lettuce

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 September 2015

Accepted 03 May 2016

Available online, ISSN: 2148-127X

Keywords:

Lactuca sativa var. *Crispa*

Cu

Cd

Pb

Zn

Antioxidative enzyme

MDA

*Corresponding Author:

E-mail: sevinckiran@tgae.gov.tr

ABSTRACT

In this study was carried out to determine the effects of humic acid in heavy metal stress of lettuce changes in some of the morphological and physiological characteristics. In studies conducted in controlled greenhouse conditions, lettuce plants subjected to four different 4 different humic acid levels humic acid doses (0, 2, 4, 8 L/da) and 4 different heavy metal irrigation levels (Control: 0 ppm; I. mixture: 0.2 ppm Cu + 0.01 ppm Cd + 5 ppm Pb + 2 ppm Zn; II. mixture: : 0.4 ppm Cu + 0.02 ppm Cd + 10 ppm Pb + 4 ppm Zn; III. mixture: 0.8 ppm Cu + 0.04 ppm Cd + 20 ppm Pb + 8 ppm Zn). Four weeks after at heavy metal and humic acid treatment young plants were harvested and the shoot fresh and dry weight, root fresh and dry weight, shoot and root length, and leaf areas, MDA, superoxyde dismutase (SOD) and glutathione reductase (GR) were determined. The most highly toxic effects were determinate III. mixture level (0.8 ppm Cu + 0.04 ppm Cd + 20 ppm Pb + 8 ppm Zn). MDA and antioxidative enzyme activities increased in plants irrigated with water containing a mixture of heavy metal. Humic acid applications had a positive effect on reducing of the limiting effect of heavy metal stress on growth and development.

Giriş

Günümüzde sanayileşme ile oluşan ağır metaller su ve toprak kirliliğine yol açmakta, insan sağlığı için ciddi boyutlarda tehlike oluşturmaktadır. Endüstriyel atık sularla kirlenen tarım alanlarında yetişen bitkilerde, önemli ölçüde ürün kayıpları görülmektedir. Ağır metal (Cd, Ni, Pb, Cu, Zn) konsantrasyonlarının tarımsal alanlarda toksik düzeyde bulunması bitkide fizyolojik ve metabolik aktivitenin bozulmasına yol açarak strese neden olmaktadır. Bitkilerde ağır metal stresi, serbest radikallerin oluşumunu teşvik ederek bitki dokularına zarar vermekte ve oksidatif zararlara yol açmaktadır (Foyer ve ark., 1997).

Hümitik asitler (HA) bitki gelişimini doğrudan ve dolaylı olarak etkileyen, toprağın bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirerek bitkisel üretimi artırması bakımından önemli organik maddelerdir. Bu maddeler, metaller ile bileşik oluşturarak, çözünürlüğünü ve biyolojik elverişliliğini değiştirmektedirler (Stevenson, 1994). HA'lerin toksik ağır metal iyonlarıyla kuvvetli bağ oluşturması, ağır metal stresinin bitki gelişimi üzerine olan olumsuz etkilerini gidermesi bakımından bitkisel üretimde önemli bir potansiyel oluşturmaktadır.

Kıvırcık salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*) 172.207 ton üretim miktarıyla mineral maddeler bakımından zengin, insanların yaş sebze gereksinimini büyük ölçüde karşılayan ve fazla miktarda tüketilen sebzelerden biridir (Anonymous, 2014). Ağır metaller ile kirlenmiş alanlarda, ağır metal içerikli sularla yapılan kıvırcık salata yetiştiriciliği olumsuz yönde etkilenmekte ve insan sağlığını ciddi ölçüde tehdit etmektedir.

Bu çalışmada; ağır metal içerikli (Cu, Cd, Pb ve Zn) sulama suları ile sulanan kıvırcık salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*)'nın bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine HA uygulamalarının etkisini ortaya koymak amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışma, 23-25°C sıcaklık ve %50-55 nispi nem koşullarının sağlandığı sera ortamında yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak kıvırcık salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*) bitkisinin orta erkenci standart kıvırcık Green Wave çeşidi kullanılmıştır. Kıvırcık salata, içinde toprak karışımı (1:1:1= kum: çiftlik gübresi: orta bünyeli toprak) bulunan yaklaşık 7,5 L hacmindeki plastik saksılara doğrudan tohumların ekilmesi suretiyle yetiştirilmiştir. Tohum ekiminden itibaren 20 günlük bitkilere ağır metal uygulamalarına başlamadan önce bir defaya mahsus olmak üzere 4 farklı hümitik asit (%6,35 organik madde, %12 hümitik ve fulvik asit) dozu (0, 2, 4, 8 L/da) uygulanmıştır. Kontrol saksılarına HA ilave edilmemiştir. Bitkiler 30 günlük olduklarında ağır metal içerikli sulama suyu uygulamalarına geçilmiştir. Ağır metal uygulamaları; 1) Kontrol, 2) I. Karışım (0,2 ppm Cu + 0,01 ppm Cd + 5 ppm Pb + 2 ppm Zn) (sulama suyunda maksimum izin verilen iz element konsantrasyonlarının 2 katı: Anonymous, 1985), 3) II. Karışım (0,4 ppm Cu + 0,02 ppm Cd + 10 ppm Pb + 4 ppm Zn), III. Karışım (0,8 ppm Cu + 0,04 ppm Cd + 20 ppm Pb + 8 ppm Zn) olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Stres uygulaması yapıldıktan 4 hafta sonra hasat edilen kıvırcık salatalardan ölçüm ve

analizler için örnek alınmıştır. Bitki yeşil aksam ve kök yaş ve kuru ağırlıkları, kök ve gövde boyları, yaprak alanları, lipid peroksidasyonu ve antioksidatif enzim (süperoksit dismutaz: SOD, glutatyon redüktaz: GR) miktarları belirlenmiştir.

Tesadüfi olarak seçilen 4'er bitkinin yeşil aksam ve kök kısımları birbirinden ayrılarak hassas terazide tartılmış, yaş ağırlıkları (g) belirlenmiş, daha sonra 65°C'de etüvde 48 saat kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları (g) tespit edilmiştir (Daşgan ve Koç, 2009; Kuşvuran, 2010). Bitkilerin kök ve gövde boyları milimetrik bir cetvel yardımıyla, yaprak alanları ise Licor LI-3000A model yaprak alan ölçer ile belirlenmiştir.

Lipid peroksidasyonunun ölçümü Lutts ve ark. (1996) tarafından anlatılan yöntem izlenerek gerçekleştirilmiş, $\mu\text{mol/g}$ Taze Ağırlık (T.A.) olarak belirlenmiştir.

Enzim analizleri için 1 g taze yaprak ve doku örnekleri sıvı azot içerisinde porselen havanlarda ezildikten sonra, içinde 0,1 mM Na-EDTA bulunan 50 mM'lık 10 ml'lik fosfor tampon çözeltisi (pH:7,6) ile homojenize edilmiş, 15 dk 15000 g'de santrifüj edildikten sonra ölçüm yapılmaya kadar +4°C sıcaklıkta tutulmuştur. Ölçümler Analytik Jena 40 model spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir. Enzim ölçümünde son hacimler, tampon çözeltisiyle tamamlanmıştır. SOD aktivitesi NBT'nin (nitro blue tetrazolium kloridin) ışık altında O₂ tarafından indirgenmesi yöntemine göre; glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi Çakmak ve Marschner (1992) ve Çakmak (1994)'e göre 340 nm'de (E=6,2 mM/cm) NADPH'nin oksidasyonu esas alınarak belirlenmiştir.

Deneme deseni tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre 3 tekrarlı olarak kurulmuştur. Elde edilen sayısal değerler varyans analizine tabi tutulmuş, LSD testi yapılmış ve farklılık dereceleri %5 düzeyinde harflendirme yoluyla gösterilmiştir. Bu amaçla MSTAT-C (Freed ve ark., 1989) paket programından yararlanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Çalışmada; incelenen her bir özelliğe ait değerler 'Ağır Metal x HA' uygulama kombinasyonları kapsamında değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak 'Ağır metal x HA' interaksyonu yeşil aksam-kök yaş ağırlıkları, yeşil aksam-kök kuru ağırlıkları, kök-gövde boyları ve yaprak alanı, MDA miktarı ve glutatyon redüktaz enzim aktiviteleri bakımından önemli bulunmuş (P≤0,05), süperoksit dismutaz enzim aktiviteleri bakımından ise önemsiz bulunmuştur (P≥0,05).

Ağır metal uygulamaları genel olarak yeşil aksam yaş ağırlık değerlerinde kontrole göre azalmalara neden olmakla birlikte, yüksek dozda ağır metalleri içeren III. Karışım, belirgin olarak gelişmeyi engelleyici etki göstermiştir. Düşük dozlarda ağır metal içeren I. Karışım uygulaması, kıvırcık salata bitkisinin yeşil aksam yaş ağırlık değerlerinde kontrol bitkilerine oranla bir miktar artışa yol açarken, II. ve III. Karışım uygulamaları kontrol bitkilerine oranla önemli düzeyde azalmaya neden olmuştur. En yüksek yeşil aksam yaş ağırlığı;

$$\text{Ağır Metal}^{I.\text{Karışım}} \times \text{HA}^{8 \text{ L/da}}$$

etkileşiminden elde edilmiştir (77,67 g/bitki) (Şekil 1). Yüksek dozda kurşunun klorofil biosentezi, fotosentetik

aktivite, mineral beslenme gibi çok sayıda fizyolojik olayı olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir (Singh ve ark., 2007; Yılmaz ve ark., 2009; Ghani ve ark., 2010). Ayrıca bakır, kadmiyum ve çinkonun yüksek dozlarının bitkilerde strese neden olarak bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyebileceği belirtilmiştir (Vaillant ve ark., 2005; Ghani ve ark., 2010). Ağır metal toksisitesinin yaş ağırlık üzerine olan olumsuz etkisini azaltmak amacıyla kullanılan HA, I. ve II. Karışım uygulamalarının oluşturduğu toksisite karşısında olumlu etki gösterirken, yüksek dozda kullanılan III. Karışımın oluşturduğu toksisite karşısında ise yetersiz kalmıştır. HA' in 4 ile 8 L/da dozları I. Karışım uygulamasında benzer etki gösterirken, II. ve III. Karışım uygulamaları ile birlikte bitkilerde ortaya çıkan ağır metal stresinin olumsuz etkisini azaltmada 4 L/da HA uygulaması en etkili doz olarak belirlenmiştir. Bulgularımız, Gardner ve Al-Hamdani (1997)'nin bulgularıyla paralellik göstermekte olup, hümitik asitin bu etkisi; şelat oluşturma özellikleri nedeniyle metal bağlayıcı olmaları ve Cu, Cd, Pb, Zn gibi metallerin çözünebilirliğini azaltması şeklinde açıklanmaktadır (Nachtegaal ve Sparks, 2003).

I. ve II. Karışım ağır metal uygulamaları kıvrıkcık salata bitkilerinin kök yaş ağırlık değerlerinde kontrol bitkilerine oranla önemli bir farklılık yaratmazken, III. Karışım uygulamasında önemli düzeyde azalmaya neden olmuştur (Şekil 1). Ağır metal toksisitesini azaltmada HA uygulamaları olumlu yönde etki etmiş, özellikle 4 L/da HA dozu tüm ağır metal uygulamalarında net bir şekilde kendini göstermiştir. Öte yandan HA'ın 8 L/da dozunun, düşük dozda ağır metal uygulamalarında daha fazla etkili olduğu, ağır metal dozlarındaki artış ile birlikte bu etkisini kaybettiği anlaşılmıştır. En yüksek kök yaş ağırlıkları istatistiksel bakımdan aynı grupta yer alacak şekilde;

$$\begin{aligned} & \text{Ağır Metal}^{\text{II.Karışım}} \times \text{HA}^{8 \text{ L/da}}, \\ & \text{Ağır Metal}^{\text{II.Karışım}} \times \text{HA}^{2 \text{ L/da}}, \text{ ve} \\ & \text{Ağır Metal}^{\text{I.Karışım}} \times \text{HA}^{8 \text{ L/da}} \end{aligned}$$

kombinasyonlarında belirlenmiştir (12,83, 12,67 ve 12,31 g/bitki). En düşük kök yaş ağırlığı değerini ise

$$\text{Ağır Metal}^{\text{III.Karışım}} \times \text{HA}^{\text{Kontrol}}$$

kombinasyonu vermiştir (4,66 g/bitki). El-Ghamery ve ark. (2003), çinkonun kök hücrelerinde birikerek mitoz bölünmeyi engellediğini, Sharma ve Dubey (2005) ile Yılmaz ve ark.(2009), kurşun elementinin kökler tarafından tutulduğunu ve kök gelişiminde azalmaya yol açtığını, Gintin ve ark. (1998) ile Demir ve Çimirin (2011), ağır metal stresi altındaki bitkilere HA uygulamalarının kök yaş ağırlığını artırıcı yönde etki yaptığını bildirmişlerdir. Farklı ağır metal dozları ve HA düzeylerinde meydana gelen yeşil aksam kuru ağırlık değerleri incelendiğinde; değerlerin kontrol bitkilerine oranla I. Karışım uygulaması ile birlikte artış gösterdiği (12,67 g/bitki), II. Karışım uygulaması ile sabit kaldığı (10,13 g/bitki) ve III. Karışım uygulaması ile de azaldığı görülmüştür (8,65 g/bitki) (Şekil 1). Bununla birlikte yeşil aksam kuru ağırlığındaki en yüksek değerler

$$\text{Ağır Metal}^{\text{Kontrol}} \times \text{HA}^{8 \text{ L/da}}$$

kombinasyonunda belirlenmiştir (16,83 g/bitki). HA uygulamaları doz artışına paralel olarak ağır metal toksisitesinin olumsuz etkisini genel olarak hafifletebilmiştir. HA' in ağır metal stresi altındaki bu olumlu etkisi Tan ve Binger (1986)'in sonuçları ile örtüşmektedir. Nitekim kurşun stresinin sarımsakta, bakır

stresinin fasulyede, yeşil aksam kuru ağırlık değerlerinde düşüşlere yol açtığı, diğer taraftan mısırdaki hümitik asit kullanımı ile bakır stresi altında sürgün kuru biyoması üzerine olumlu etki yaptığı rapor edilmiştir (Jiang ve Liu, 2000; Yılmaz ve ark., 2009; Bouazizi ve ark., 2010; Farouk ve ark., 2011).

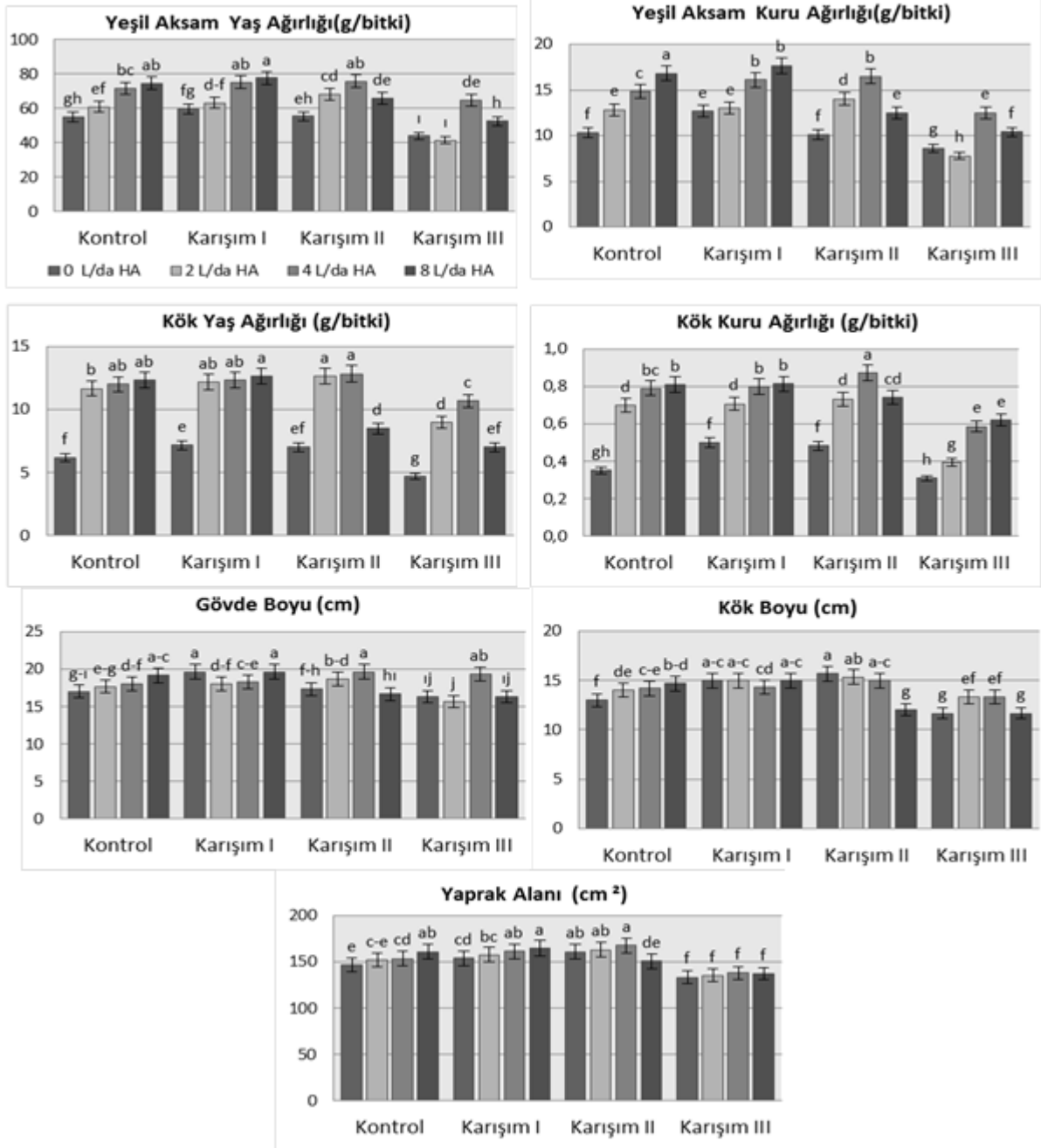
Kök kuru ağırlığında da, yeşil aksam kuru ağırlığında olduğu gibi I. ile II. Karışım uygulamaları ile birlikte bir miktar artış görülmüş (0,50 g/bitki ile 0,48 g/bitki), ancak en yüksek ağır metal dozlarını içeren III. Karışım ile birlikte kök kuru ağırlığı azalmıştır (0,31 g/bitki). HA uygulamaları ise kök kuru ağırlığı bakımından ağır metal toksisitesinin etkisini azaltmada oldukça etkin bulunmuştur. Liu ve ark. (1994) kurşunun kökte daha fazla biriktiğini, Pourakbar ve ark. (2007) bakırın normal bölünen hücre sayısını engelleyerek kök kuru ağırlığını azalttığını ifade etmişlerdir.

Kıvrıkcık salata bitkisinin ağır metal stresi koşullarında gövde ve kök boylarında meydana gelen değişimler Şekil 1'de gösterilmiştir. Buna göre; en yüksek gövde boyları

$$\begin{aligned} & \text{Ağır Metal}^{\text{I.Karışım}} \times \text{HA}^{\text{Kontrol}} \\ & \text{Ağır Metal}^{\text{I.Karışım}} \times \text{HA}^{8 \text{ L/da}} \text{ ve} \\ & \text{Ağır Metal}^{\text{II.Karışım}} \times \text{HA}^{4 \text{ L/da}} \end{aligned}$$

kombinasyonlarında tespit edilmiştir (19,67, 19,64, 19,60 cm). Ağır metallerin I. Karışım uygulaması bitkilerin gövde boyu değerlerinde önce azda olsa bir miktar artışa yola açmış, fakat daha sonra gövde boyları azalmıştır. HA uygulamaları genel olarak gövde boyu bakımından ağır metal dozlarındaki artışa göre değişmekle birlikte ağır metal stresinin olumsuz etkisini azaltmada kısmen de olsa etkin bulunmuştur. Çalışmadan elde ettiğimiz bulgular, Vassilev ve ark. (2002) ile Yong ve ark. (2011)'nin bulgularıyla paralellik göstermektedir. Çalışma kök uzunluğu bakımından incelendiğinde; kontrol bitkilerine oranla kök uzunluklarında, I ile II. Karışım uygulamaları istatistiksel bakımdan aynı grupta yer alacak şekilde ve önemli düzeyde artış meydana getirmiştir (15,67 ile 15,00 cm). III. Karışım uygulaması, kıvrıkcık salata bitkilerinde toksisite oluşturarak kontrol bitkilerine göre değerlerde düşüşlere neden olmuştur. Nitekim yüksek dozdaki kadmiyum elementinin sürgün gelişimini olumsuz yönde etkilediği (Salt ve ark., 1995), ayrıca kurşunun bitki köklerinde sürgünlere göre daha fazla tutulduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Hagemeyer, 1999; Vaillant, 2005). Öte yandan kök ve gövde boyları açısından değerlendirildiğinde HA uygulamaları kullanılan ağır metal dozlarına göre değişmekle birlikte stresin etkisini azaltmada çok fazla etkin bulunmamıştır. Elde edilen bulgular Asadi ve ark.(2013)'nin bulguları ile paralellik göstermektedir.

Çalışma kapsamında yaprak alanında meydana gelen değişimler de incelenmiştir. I ve II. Karışım uygulamaları kontrol grubuna göre daha yüksek değerler vermiş, III. Karışım uygulaması ile bitkiler kontrol bitkilerine göre daha fazla kayıplar vermiştir (Şekil 1). HA uygulamaları bitkilerin I. ve II. Karışım uygulamaları karşısında strese dayanım konusunda kısmen başarılı olabilmektedir. Manivasagaperumal ve ark. (2011) da, kurşun ve bakır elementlerinin hücre turgoru ve hücre duvarı stabilitesini ve yaprak alanını azaltabileceğini bildirirken, Pena ve ark. (2006) kadmiyum ve Dunand ve ark. (2002) bakır toksisitesi ile birlikte yaprak alanında azalma görülebileceğini kaydetmişlerdir.



Şekil 1 Ağır metal stresi koşullarında yetiştirilen kıvrırcık salata bitkisinde, HA uygulamalarının yeşil aksam-kök yaş ağırlığı, yeşil aksam-kök kuru ağırlığı, yaprak alanı, gövde-kök boyu üzerine etkileri

Kıvrırcık salata bitkisinin ağır metal uygulamaları karşısında MDA miktarı, SOD ve GR bakımından elde edilen verileri Şekil 2’de gösterilmektedir. Ağır metaller serbest radikallerin oluşumuna yol açarak, lipid peroksidasyonunun da rol oynadığı bilinmektedir (Chaoui ve ark., 1997). Çalışmada ağır metal stresi MDA miktarları bakımından önemli düzeyde artışlara yol açmıştır. Ağır metal stresi altında en yüksek MDA miktarı,

$$\text{Ağır Metal}^{\text{III.Karışım}} \times \text{HA}^{\text{Kontrol}}$$

kombinasyonunda saptanmıştır (7,39 $\mu\text{mol/g}$ T.A). Dey ve ark. (2007) kadmiyum ve bakır stresi, Çolak ve Doğan (2011) kurşun stresi koşullarında MDA miktarlarının artabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca HA

uygulamaları özellikle I. ve II. Karışım uygulamaları karşısında ortaya çıkan toksik etkiyi azaltmada daha etkin bulunmuştur. Bu bakımdan HA’in toksisiteyi azaltıcı yöndeki etkisi 8 L/da HA dozunda da net bir şekilde görülebilmektedir.

Oksidatif strese karşı etkin antioksidatif enzimler arasında yer alan SOD ve GR ağır metal stresi koşullarında aktive olmaktadır (Prasad ve ark., 1999; Drazkiewicz ve ark., 2003). Hücrel savunma mekanizmalarında anahtar rol oynayan enzimlerden biri olan SOD enzim aktivitesi bakımından ortaya çıkan değişim istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuş olsa da, ağır metal uygulamalarının SOD enzim aktivitesini uyardığı gözlemlenmiştir (Dinakar ve ark., 2008; Tripathi

ve ark., 2006). En yüksek SOD değeri,

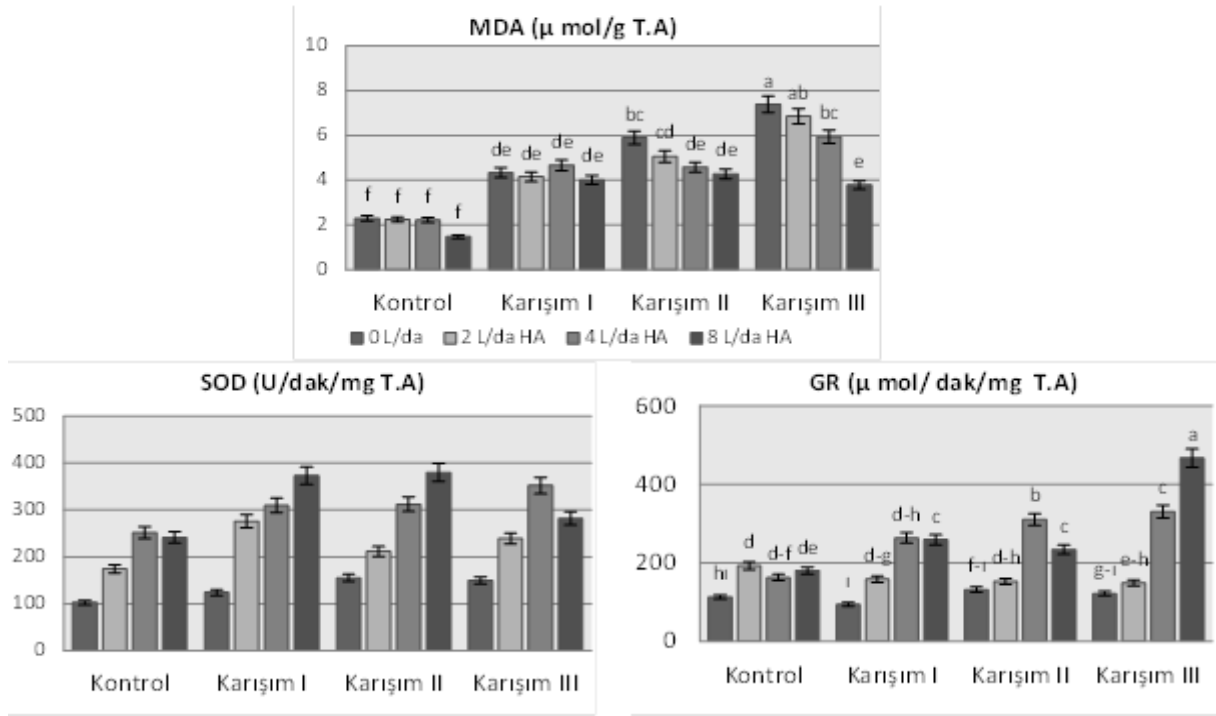
$$\text{Ağır Metal}^{\text{II.Karışım}} \times \text{HA}^{\text{8 L/dal}}$$

uygulamasında tespit edilmiştir (379,56 U/dak/mg T.A.) (Şekil 2). HA uygulamaları SOD enzim aktivitesindeki artışı desteklemiştir. Ağır metal stresinin toksik etkisini gidermede en etkili doz olarak 4 L/da belirlenmiştir. Bharwana ve ark. (2014) kurşun stresinin SOD enzim aktivitesinde artış sağladığını bildirirken, Livens (1991) HA' in bitki büyümesi üzerine olumlu etkisinin yanı sıra, ağır metallerle oluşturdukları kuvvetli bağlar ile toksisitenin azaltılmasında önemli rol oynadığını ifade etmiştir.

Çalışmada GR enzim aktivitesindeki değişim incelendiğinde; en yüksek GR aktivitesi

$$\text{Ağır Metal}^{\text{III.Karışım}} \times \text{HA}^{\text{8 L/dal}}$$

kombinasyonunda ölçülmüştür (465,67 $\mu\text{mol/dak/mg}$ T.A.). Ağır metal dozlarına göre farklılık göstermekle birlikte genel olarak GR enzim aktivitesinde artış belirlenmiştir. HA uygulamaları SOD enzim aktivitesine benzer şekilde bitkilerin GR aktivitesinde artışa yol açarak bitkilerin ağır metal toksisitesine toleransını desteklemiştir. Elde edilen sonuçlar Thounaojam ve ark. (2012) ile Gratão ve ark. (2008)'nın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.



Şekil 2 Ağır metal stresi koşullarında yetiştirilen kıvırcık salata bitkisinde, HA uygulamalarının MDA miktarı, SOD ve GR antioksidatif enzim aktiviteği üzerine etkileri

Sonuç

Farklı konsantrasyonlarda ağır metaller içeren sulama suları, genel olarak kıvırcık salatanın yeşil aksam ve köklerin yaş ve kuru ağırlıklarında, kök ve gövde boyunda, yaprak alanında önemli seviyede düşüşlere neden olmuştur. Ağır metal dozlarındaki artışla birlikte MDA ve antioksidatif enzim (süperoksit dismutaz ve glutatyon redüktaz) aktiviteğine ait sayısal değerlerde belirgin artışlar görülmüştür. Ağır metal toksisitesinin olumsuz etkisini azaltmada HA uygulamaları genel olarak etkin bulunmuş ve incelenen parametrelere ait değerlerdeki artışı desteklemiştir. Ağır metal stresinin olumsuz etkisini azaltmada 4 L/da HA dozu diğer dozlara göre daha kararlı ve etkili bulunmuştur. Sonuç olarak HA' in kıvırcık salata bitkisi için, ağır metal toksisitesinin neden olduğu olumsuzlukları hafifletmede etkili olduğu söylenebilir. Bununla birlikte HA kullanımı her ne kadar bitkinin hayatta kalma ve tolerans seviyesini artırıcı etki yapsa da, bu uygulamaların üründeki ağır metal birikimini engelleyemeyeceği ve insan beslenmesi açısından ağır metal toksisitesinden kaynaklanacak olumsuz etkilerin bulunabileceğini gözden kaçırmamak gerekmektedir.

Kaynaklar

- Asadi M, Sedghi M, Sharifi RS. 2013. Effects of humic acid on the germination traits of pumpkin seeds under cadmium stress. *Notulae Scientia Biologicae* 5(4): 480-484.
- Anonymous. 1985. Water Quality for Agriculture. FAO Irrigation and Drainage Paper. 29, Rev.1. Rome. Erişim: Mart 2014.
- Anonymous. 2014. Türkiye İstatistik Kurumu (<http://tuikrapor.tuik.gov.tr/reports>). Erişim: Mart 2015.
- Bharwana SA, Ali S, Farooq MA, Iqbal N, Hameed A, Abbas F, Ahmad MSA. 2014. Glycine betaine-induced lead toxicity tolerance related to elevated photosynthesis, antioxidant enzymes suppressed lead uptake and oxidative stress in cotton. *Turkish Journal of Botany* 38: 281-292.
- Bouazizi H, Jouili HA, El Ferjani E. 2010. Copper toxicity in expanding leaves of *Phaseolus vulgaris* L.: antioxidant enzyme response and nutrient element uptake. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73 (6): 1304-1308.
- Büyükkeskin T. 2008. Hüyük Asitü Vicia faba L. (Bakla)'da Fide Gelişimine ve Alüminyum Toksisitesine Etkisinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Çakmak I, Marschner H. 1992. Magnesium deficiency and highlight intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology* 98: 1222-1226.
- Çakmak I. 1994. Activity of ascorbate-dependent H₂O₂ scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium and potassium deficient leaves, but not in phosphorus deficient leaves. *Journal of Experimental Botany* 45: 1259-1266.
- Chaoui A, Mazhoudi S, Ghorbal MH, El Ferjani E. 1997. Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science* 127: 139-147.
- Costa G, Morel JL. 1994. Water relations, gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry* 32 (4): 561-570.
- Çolak U, Doğan M. 2011. Kurşun uygulamasının *Triticum aestivum* L. cv. Ceyhan 99'daki bazı fizyolojik etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 4 (2): 49-53.
- Daşgan HY, Koç S. 2009. Evaluation of salt tolerance in common bean genotypes by ion regulation and searching for screening parameters. *Journal of Food, Agriculture Environment* 7(2): 363-372.
- Demir E, Çimrin KM. 2011. Aritma çamuru ve hümitik asit uygulamalarının mısırın gelişimi, besin elementi ve ağır metal içerikleri ile bazı toprak özelliklerine etkileri. *Journal of Agricultural Sciences*. 17: 204-216.
- Dey SK, Dey J, Patra S, Pothal D. 2007. Changes in the antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in wheat seedlings exposed to cadmium and lead stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 19 (1): 53-60.
- Dinakar N, Nagajyothi PC, Suresh S, Udaykiran Y, Damodharam T. 2008. Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings. *Journal of Environmental Sciences* 20: 199-206.
- Drazkiewicz M, Skorzyńska-Polit E, Krupa Z. 2003. Response of the ascorbate glutathione cycle to excess copper in *Arabidopsis thaliana* (L.). *Plant Science* 164: 195-202.
- Dunand VF, Epron D, Sossé AB, Badot PM. 2002. Effects of copper on growth and on photosynthesis of mature and expanding leaves in cucumber plants. *Plant Science*. 163: 53-58.
- El-Ghamery AA, El-Kholy MA, El-Yousser A. 2003. Evaluation of cytological effects of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. *Mutation Research* 537: 29-41.
- Farouk S, Mosa AA, Taha A A, Ibrahim HM, EL-Ghamery AM. 2011. Protective effect of humic acid and chitosan on radish (*Raphanus sativus*, L. var. *sativus*) plants subjected to cadmium stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 7 (2): 99-116.
- Fernandes JC, Henriques FS. 1991. Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants. *Botanical Review* 57: 246-273.
- Foyer CH, Lopez-Oelgado H, Dat JF, Scott JM. 1997. Hydrogen peroxide- and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiologia Plantarum* 100: 241-254.
- Freed R, Einensmith SP, Guets S, Reicosky D, Smail VW, Wolberg, P. 1989. User's guide to MSTAT-C, an analysis of agronomic research experiment. Michigan State University, USA.
- Gardner JL, Al-Hamdani SH. 1997. Interactive effects of aluminum and humic substance on *Salvina*. *Journals Aquatic Plant Management Society* 35: 30-34.
- Ghani A, Shah AU, Akhtar U. 2010. Effect of lead toxicity on growth, chlorophyll and lead (Pb) content of two varieties of maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Nutrition* 9(9): 887-891.
- Ginting S, Johnson BB, Wilkens S. 1998. Alleviation of aluminum phytotoxicity on soybean growth by organic anions in nutrient solution. *Functional Plant Biology* 25(8): 901-908.
- Gratão PL, Monteiro CC, Antunes AM, Peres LEP, Azevedo RA. 2008. Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. *Annals of Applied Biology* 153: 321-333.
- Hagemeyer J. 1999. Ecophysiology of plant growth under heavy metal stress, In: Prasad, MNV., Hagemeyer, J., (Eds.), *Heavy Metal Stress in Plants: from Molecules to Ecosystems*, Springer, Berlin, pp. 139-156.
- Jiang W, Liu D. 2000. Effects of Pb²⁺ on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 65: 786-793.
- Kuşvuran Ş. 2010. Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleransın Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enst., Doktora Tezi, 355s., Adana.
- Liu DH, Jiang W S, Wang W, Zhao F M, Lu C. 1994. Effects of lead on root growth cell division and nucleolus of *Allium cepa*. *Environmental Pollution* 86: 1-4.
- Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78: 389-398.
- Livens FR. 1991. Chemical reactions of metals with humic material. *Environmental Pollution* 70(3): 183-208.
- Manivasagaperumal R, Vijayarengan P, Balamurugan S, Thiyagarajan G. 2011. Effect of copper on growth, dry matter yield and nutrient content of *Vigna radiata* (L.) Willczek. *Journal of Phytology* 3(3): 53-62.
- Nachtegaal M, Sparks DL. 2003. Nickel sequestration in a kaolinite-humic acid complex. *Environmental Science and Technology* 37(3): 529-534.
- Pourakbar L, Khayami M, Khara J, Farbodnia T. 2007. Copper- induce change in antioxidative system in maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Biological Science* 10(20): 3662-3667.
- Pena LB, Pasquini LA, Tomaro ML, Gallego SM. 2006. Proteolytic system in sunflower (*Helianthus annuus* L.) leaves under cadmium stress. *Plant Science* 171: 531-537.
- Prasad KVSK, Paradha SP, Sharmila P. 1999. Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. *Environmental and Experimental Botany* 42: 1-10.
- Rosa CM, Castilhos RMV, Vahl LC, Costa PFP. 2004. Effect of fulvic acids on plant growth, root morphology and macronutrient uptake by oats. In: *Humic Substances and Soil and Water Environment*, pp: 207-210. São Pedro, Proceedings.
- Salt D, Price R, Pickering I, Raskin I. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology* 109: 1427-1433.
- Sharma P, Dubey RS. 2005. Lead toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17(1): 35-52.
- Singh D, Nath K, Sharma YK. 2007. Response of wheat seed germination and seedling growth under copper stress. *Journal of Environmental Biology* 28(2): 409-414.
- Stevenson FJ, 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. 2nd Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York, 285p.
- Tan KH, Binger A. 1986. Effect of humic acid on aluminum toxicity in corn plants. *Soil Science* 141 (1): 20-25.
- Thounaojam T, Panda P, Mazumdar P, Kumar D, Sharma GD, Sahoo L, Panda SK. 2012. Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice. *Plant Physiology and Biochemistry* 53: 33-39.

- Tripathi, BN, Mehta SK, Amar A, Gaur, JP. 2006. Oxidative stress in *Scenedesmus* sp. during short- and long-term exposure to Cu⁺² and Zn⁺². *Chemosphere* 62(6): 538-544.
- Vaillant N, Monnet F, Hitmi A, Sallanon H, Coudret A, 2005. Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. *Chemosphere* 59(7): 1005-1013.
- Vassilev A, Lidon FC, Matos MC, Ramalho JC, Yordanov I. 2002. Photosynthetic performance and content of some nutrients in cadmium-and copper-treated barley plants. *Journal of Plant Nutrition* 25(11): 2343-2360.
- Yılmaz K, Akıncı İE, Akıncı S. 2009. Effect of lead accumulation on growth and mineral composition of eggplant seedlings (*Solanum melongena*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 37(3): 189-199.
- Yong X, Zhang Z, Yang Q. 2011. Effect of lead stress on growth characteristic and physiological indexes of *Alternanthera philoxeroides*. *Agricultural Science and Technology* 12(3): 347-349.