

Kurşun İçeriği Yüksek Su İle Sulanan Kıvırcık Salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*) Bitkilerinin Bazı Özellikleri Üzerine Hümik Asit Uygulamalarının Etkisi

Sevinç KIRAN¹

Fatma ÖZKAY¹

Şebnem KUŞVURAN²

Şebnem ELLİALTIOĞLU³

¹Toprak, Gübre ve Su Kaynakları Merkez Araştırma Enstitüsü, Ankara

²Çankırı Karatekin Üniversitesi Kızılırmak Meslek Yüksekokulu, Çankırı

³Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

*Sorumlu Yazar:

E-mail: sevinckiran@tgae.gov.tr

Geliş Tarihi: Mart 30, 2014

Kabul Tarihi: Mayıs 02, 2014

Özet

Tarımda artan su ihtiyacının karşılanması amacıyla kullanılan atık su, içerisinde yoğun miktarda ağır metal ve iz elementler bulundurabilmektedir. Bu ağır metallerin en tehlikelilerden biri olan kurşun, çevreyi çok geniş çaplı kirletmekte ve bitkilerde gelişmeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Bu çalışmada, kurşun stresi koşullarında yetiştirilen kıvırcık salata bitkisinin bazı morfolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine humik asit uygulamalarının etkisini ortaya koymak amaçlanmıştır. Kontrollü sera koşullarında yürütülen çalışmada tohum ekiminden itibaren 20 günlük bitkilere 4 farklı humik asit dozu (0, 2, 4, 8 L/da) uygulanmıştır. Bitkiler 30 günlük olduklarında 3 farklı kurşun (0, 150, 300 ppm) dozu, sulama suyu ile birlikte ilave edilmiştir. Bitkiler 4 hafta boyunca tarla kapasitesi düzeyinde su ile sulandıktan sonra bu sürenin sonunda hasat edilerek örnekler alınmıştır. İncelenen parametreler; 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 olarak belirlenmiştir. Genel olarak kurşun uygulamaları doz artışına paralel olarak kıvırcık salata bitkisinin biyoması, gövde ve kök boyu, yaprak alanı değerlerinde düşüşe neden olmuştur. Humik asit uygulamaları, kurşun stresinin olumsuz etkisini azaltmada kısmen olumlu etki yapmıştır. Bu etkinin antioksidatif enzim sistemini harekete geçirmek suretiyle meydana geldiği izlenimi edinilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kıvırcık salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*), kurşun (Pb), humik asit, antioksidatif enzim

The Effect of Humic Acid Applied to the Plants of Lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispa*) Irrigated With Water With High Content of Lead on Some Characteristics

Abstract

Wastewater, which is used in agriculture in order to provide growing water demand, might be included heavy metal and trace elements. Lead is one of the most hazardous heavy metals, and it causes an extensive pollution in the environment, and also it has adverse effect on the growing of plants. This study was conducted to evaluate the effects of humic acid addition on lettuce (*Lactuca sativa*) morphological and physiological parameters. Lettuce plants were grown in controlled glasshouse for 20 days. Humic acid was applied in four different levels 0, 3, 6, 9 lt / da. At the 30 days stage the lettuce seedlings were subject to three different Pb doses 0, 150, 300 ppm. Thirty days after the Pb stress 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, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon redüktaz (GR) were determined. It was found that humic acid application reduced Pb stress effects. On the other hands these results indicate that lettuce respond to salt induced oxidative stress by enzymatic defense systems humic acid applications, the lead part in reducing the negative effects of stress had a positive effect.

Keywords: Lettuce (*Lactuca sativa* var. *crispa*), lead (Pb), humic acid, antioxidant enzyme

GİRİŞ

Tarım alanlarında kullanılan suyun kalitesi, sanayileşmede meydana gelen artış ve endüstriyel atıkların karışması nedeniyle bozulabilmektedir. İçerisinde endüstriyel atık bulunduran suların kullanımıyla yetiştirilen bitkilerde ağır metallerin birikmesi, hem bitkiler ve hem de bu bitkileri tüketen canlılar için boyutları giderek artan bir tehlike oluşturmaktadır. Bitki dokularında ağır metal birikiminin fazla olması mineral besin alımı, transpirasyon, fotosentez, enzim aktivitesi, nükleik asit yapısı, klorofil biyosentezi ve çimlenme gibi çok sayıda fizyolojik olayı olumsuz yönde etkilemektedir.

Ağır metallerden biri olan kurşun, bitkiler için gerekli bir element olmamasına karşın, bütün bitkilerde doğal olarak bulunmaktadır [1]. Kurşun topraktan kolayca alınmakta ve bitkilerin farklı organlarında biriktirmekte, sonuç olarak pek çok üretilen verim azalması ile sonuçlanan olumsuzluklar ortaya çıkmaktadır. Kurşunun bitki doku ve organlarında aşırı birikimi strese neden olmakta, kök uzaması ve biyomasda azalma, klorofil biyosentezinde engellenme gibi etkilere yol açmaktadır. Bazı enzim aktivitelerinde artışa neden olan, bitkileri savunma durumunda bırakan gelişme kısıtlayıcı bir iyon olduğu belirtilmektedir [2,3].

Toprak ve sudaki bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyen maddelerin, bitkiler tarafından alınmasını önleyen veya zararlı maddelerin varlığında bile bitki büyümesini teşvik edebilecek maddelerin kullanımı, üzerinde yoğun bilimsel çalışmalar yapılan bir konudur. Humik asitler (HA), bitki büyümesi ve gelişimini teşvik eden, uygun konsantrasyonlarda uygulandığında gelişimi pozitif yönde etkileyen maddeler arasında yer almaktadır [4,5]. Ayrıca humik maddelerin, sahip oldukları çok çeşitli fonksiyonel gruplar sayesinde metal iyonlarıyla stabil kompleks bileşikler oluşturarak bitkiler tarafından alınmaz formlara dönüştürdükleri de bilinmektedir [6].

Kıvırcık salata, yaprakları taze olarak salata şeklinde bolca tüketilen, mineral maddeler bakımından zengin, insanların yaş sebze gereksinimini büyük ölçüde karşılayan bir sebzedir. TÜİK verilerine göre [7] Türkiye’de yıllık ortalama 159.971 ton kıvırcık salata üretimi gerçekleştirilmektedir. Yetiştiriciliğin yoğun olarak yapıldığı açık alanlarda kullanılan suların kurşun içeriğinin sanayileşmeye paralel olarak giderek artması, bitkisel üretimi olumsuz yönde etkilemekte ve elde edilen ürünlerin sağlık açısından risk taşımaya yol açmaktadır. Bu bakımdan sorunlu alanlarda kurşunun bitki bünyesine alınımını kontrol altında tutarak toksik düzeyde birikimini önleyecek doğal bileşiklerin kullanılması uzun vadede en kalıcı önlem olarak düşünülmektedir.

Bu çalışmada, kıvırcık salata bitkilerinde ağır metal (Pb) uygulamalarının bazı morfolojik ve biyokimyasal parametrelerde meydana getirdiği değişiklikler ile ağır metal stresinin olumsuz etkilerini gidermede humik asit uygulamasının etkinliğini belirlemek amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmamızda bitkisel materyal olarak kıvırcık salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*) bitkisinin örtü altı yetiştiriciliğine uygun, orta erkenci, standart kıvırcık Gren Wave çeşidi kullanılmıştır. Kıvırcık salata tohumları, içinde

toprak karışımı (1:1:1= kum: çiftlik gübresi: orta bünyeli toprak) bulunan yaklaşık 7.5 L hacmindeki plastik saksılara doğrudan ekilerek kontrollü sera koşullarında yetiştirilmiştir (23-25 °C ve %50-55 nispi nem). Bitkiler 4 hafta boyunca tarla kapasitesi düzeyinde sulanmıştır. Tohum ekiminden itibaren 20 günlük bitkilere 4 farklı humik asit dozu (0, 2, 4, 8 L/da) uygulanmıştır. Çalışmada HA (% 6.35 organik madde, %12 humik ve fulvik asit) bir defaya mahsus olmak üzere kurşun uygulamasına başlamadan önce saksı toprağına ilave edilmiştir. Kontrol saksılarına HA ilave edilmemiştir. Bitkilere 30 günlük olduklarında kurşun içerikli sulama suyu uygulamalarına geçilmiştir. Uygulamalar; 1) Kontrol, 2) 150 ppm Pb, 3) 300 ppm Pb olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Bitkilere uygulanan kurşun çözeltisi kurşun nitrat tuzundan Pb(NO₃)₂ hazırlanmıştır. Deneme süresince saksıların tamamı tarla kapasitesi düzeyinde sulanmıştır.

Ölçüm ve Analizler

Stres uygulaması yapılan bitkilerin 4 hafta boyunca sera koşullarında gelişimi sağlandıktan sonra bitkiler hasat edilerek, ölçüm ve analizler için örnek alınmıştır. Bitkilerde yeşil aksam ve kök kısımları birbirinden ayrılarak yaş ve kuru ağırlıkları, kök ve gövde kısımlarının boyu, yaprak alanları ölçülmüştür. Ayrıca klorofil, lipid peroksidasyonunu belirlemek üzere MDA ve antioksidatif enzim (süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz) miktarlarını tayin etmek için analizler yapılmıştır.

Yeşil Aksam ve Köklerde, Yaş ve Kuru Ağırlık Ölçümleri

Her genotipten tesadüfi olarak seçilen 4’er bitki hassas terazide tartılarak g olarak yaş ağırlıkları belirlenmiş, daha sonra 65°C’de etüvde 48 saat kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları da gram olarak belirlenmiştir [8,9].

Kök ve Gövde Boyları, Yaprak Alanı Ölçümleri

Lipid Peroksidasyonu Analizi

Lipid peroksidasyonunun ölçümü (MDA) Lutts ve ark. [10]’na göre yapılmıştır. MDA konsantrasyonu, 15 mMcm⁻¹ olan “extinction katsayısı” kullanılarak µmol/g T.A. olarak belirlenmiştir.

Antioksidatif Enzim Analizleri

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 yapıncaya kadar +4°C sıcaklıkta tutulmuştur. Ölçümler Analitik Jena 40 model spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir. Enzim ölçümünde son hacimler, tampon çözeltisiyle tamamlanmıştır. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi NBT’nin (nitro blue tetrazolium kloridin) ışık altında O₂ tarafından indirgenmesi yöntemine göre; glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi Çakmak ve Marschner [11] ve Çakmak [12]’e göre 340 nm’de (E=6.2 mM cm⁻¹) NADPH’nin oksidasyonu esas alınarak belirlenmiştir.

Tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre kurulan denemelerden elde edilen sayısal değerler varyans analizine tabi tutulup, uygulamalar arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemlilik derecesi ortaya konulmuştur. Bunun için % 0.5 düzeyinde Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Bu amaçla MSTAT-C paket programından yararlanılmıştır [13].

BULGULAR ve TARTIŞMA

HA uygulamalarının kurşun stresine maruz kalan kıvrıkcık salata bitkisinin bazı özellikleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada; incelenen her bir parametreye ait değerler 'Pb x HA' uygulama kombinasyonları bazında ayrı ayrı değerlendirilmiştir. İstatistiksel olarak 'Pb x HA' interaksyonu yeşil aksam-kök yaş ağırlıkları, yeşil aksam-kök kuru ağırlıkları, kök-gövde boyları ve yaprak alanı, MDA miktarı, süperoksit dismutaz ve glutatyon redüktaz enzim aktiviteleri bakımından önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Kurşun uygulamaları kıvrıkcık salata bitkisinin yeşil aksam yaş ağırlık değerlerinde kontrol bitkilerine oranla azalmalara yol açmıştır. En yüksek yeşil aksam yaş ağırlıkları istatistiksel olarak aynı grupta yer alacak şekilde; 'Pb^{Kontrol} x HA^{8 L/da}' ile 'Pb^{Kontrol} x HA^{4 L/da}' uygulamalarından elde edilmiştir (74.67 ve 71.67 g/bitki) (Şekil 1). En düşük yeşil aksam yaş ağırlık değeri ise; 'Pb^{300 ppm} x HA^{Kontrol}' kombinasyonunda belirlenmiştir (33.56 g/bitki). Pb uygulamaları genel olarak yeşil aksam yaş ağırlık değerlerinde kontrol konularına göre azalmalara neden olmakla birlikte, 300 ppm Pb gelişmeyi engelleyici en yüksek doz olmuştur. Nitekim yüksek dozda kurşunun klorofil biyosentezi, fotosentetik aktivite, mineral beslenme, membran geçirgenliği gibi çok sayıda fizyolojik olayı olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir [3,14,15]. Kurşun toksisitesinin yaş ağırlık değerleri üzerine olan olumsuz etkisini azaltmak amacıyla kullanılan HA, yüksek dozda kullanılan kurşun toksisitesi üzerinde olumlu etkisini gösterebilmiştir. HA'ın 4 ve 8 L/da dozları kurşunun olumsuz etkisini azaltma bakımından etkiye sahip olmuşlardır. Humik asitlerin bitki büyümesi ve gelişimi üzerinde etkili olduğu bilinmektedir [4]. Organik kökenli bir madde olan humik asitin bu etkisi; çok yönlü ve şelat oluşturma özellikleri ile nedeniyle metal bağlayıcı olmaları ve böylece organik fonksiyonel gruplar ile kompleks oluşturarak Cu, Cd, Pb, Zn gibi metallerin çözünürlüğünü azaltması ile açıklanmaktadır [16,17].

Kurşun uygulamaları kıvrıkcık salata bitkilerinin kök yaş ağırlık değerlerinde kontrol bitkilerine oranla önemli oranda azalmalara neden olmuştur (Şekil 1). En yüksek kök yaş ağırlıkları istatistiksel bakımdan aynı grupta yer alacak şekilde; 'Pb^{Kontrol} x HA^{8 L/da}' ile 'Pb^{Kontrol} x HA^{4 L/da}' kombinasyonlarında belirlenmiştir (13.17 ve 12.00 g/bitki). En düşük kök yaş ağırlığı değerini ise 'Pb^{300ppm} x HA^{Kontrol}' kombinasyonu vermiştir (4.67 g/bitki). Öte yandan kurşunun kök yaş ağırlığı üzerine olan olumsuz etkisini azaltmada HA'ın belirgin olarak öne çıktığı görülememiştir. Bu nedenle çalışmada kullanılan HA dozlarının yeterli olmadığı düşünülmektedir. Sharma ve Dubey [14] ile Verma ve Dubey [18], kurşun elementinin özellikle kökler tarafından tutulduğunu, bu nedenle kök gelişiminin azalmasına yol açtığını, diğer taraftan Demir ve Çimrin [5], uygun dozda kullanılan HA uygulamalarının kök yaş ağırlığını artırıcı yönde etki yapabileceğini bildirmişlerdir.

Kıvrıkcık salata bitkilerine uygulanan kurşun dozları ve HA düzeylerinde meydana gelen yeşil aksam kuru ağırlık değerleri incelendiğinde; tüm kurşun konularındaki bitkilerin kontrol bitkilerine oranla daha düşük değerlere sahip oldukları saptanmıştır (Şekil 1). Bununla birlikte yeşil aksam kuru ağırlığındaki en yüksek değerler istatistiksel olarak aynı grupta yer alacak şekilde; 'Pb^{Kontrol} x HA^{8 L/da}' kombinasyonunda (16.83 g/bitki), en düşük değerler ise; 'Pb^{300ppm} x HA^{2 L/da}' ile 'Pb^{300ppm} x HA^{Kontrol}' kombinasyonlarında (8.07 ve 7.77 g/bitki) belirlenmiştir.

Yeşil aksam kuru ağırlık değerleri bakımından 2 l/da HA uygulaması kurşun toksisitesinin olumsuz etkisini hafifletmede kontrol uygulaması ile benzer etkiyi göstermesine karşın, 4 ve 8 l/da HA dozu kısmen ve aynı düzeyde başarılı olabilmıştır.

Kök kuru ağırlık değerleri bakımından yüksek değerler genel olarak kontrol bitkilerinde ölçülmüş ve istatistiksel olarak aynı grupta yer alacak şekilde en yüksek değerlere 'Pb^{Kontrol} x HA^{8 L/da}' ile 'Pb^{Kontrol} x HA^{4 L/da}' kombinasyonlarında ulaşılmıştır (0.81 ve 0.79 g/bitki) (Şekil 1). Kurşun toksisitesi karşısında HA uygulamaları, kök ağırlık değerlerinin miktarı bakımından önemli düzeyde farklılıklar yaratmıştır. Kök kuru ağırlık değerleri incelendiğinde, HA uygulamalarının doz artışına paralel olarak ağır metal toksisitesinin olumsuz etkisini kısmen de olsa hafiflettiği ve bitkilerin kurşun stresine toleransını destekleyebildiği anlaşılmıştır. Nitekim mısırdaki, sarımsakta, çin lahanasında ve mercimekte kurşunun uygulama dozuna ve süresine bağlı olarak diğer organlara göre kökte daha fazla biriktiği, normal bölünen hücre sayısını engelleyerek kök ve fide gelişimini etkilediği, böylece kök ile gövdenin kuru ağırlıklarını azalttığı belirtilmiştir [19,20,21,22].

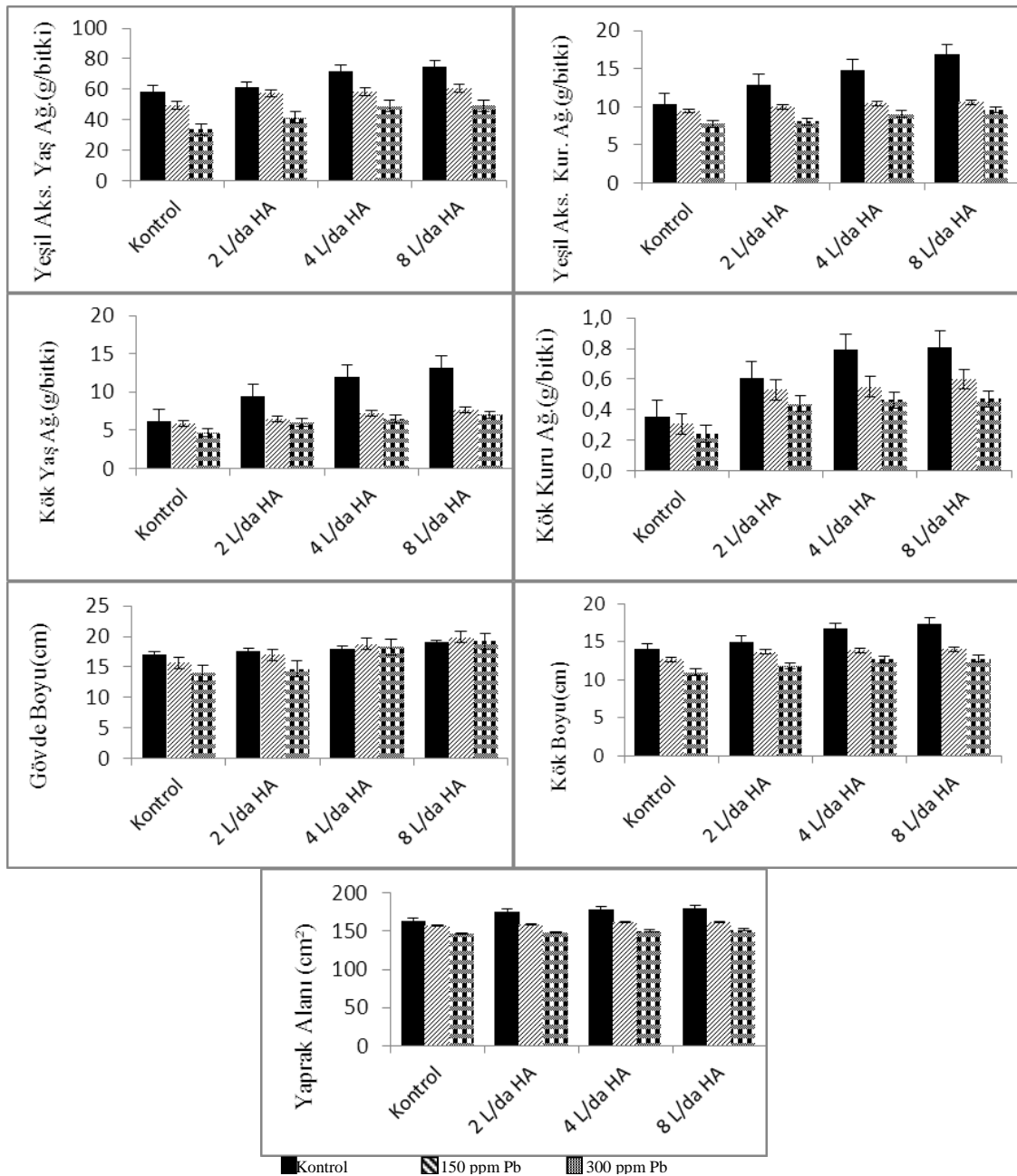
Ayrıca HA'ın kullanımı ile bakır ve vanadyum gibi ağır metallerin kök ve sürgün kuru biyoması üzerine olumlu yönde etki ettiği de kaydedilmiştir [16]. Kurşun stresi koşullarında kıvrıkcık salata bitkileri yaprak alanı bakımından aynı istatistiksel grupta yer alacak şekilde en yüksek değerlerini; 'Pb^{Kontrol} x HA^{8 L/da}', 'Pb^{Kontrol} x HA^{4 L/da}' ile 'Pb^{Kontrol} x HA^{2 L/da}' kombinasyonlarında vermiştir (sırasıyla 179.67, 178.67 ve 175.00 cm²/bitki) (Şekil 1). Yaprak alanındaki en düşük değer; 'Pb^{300ppm} x HA^{Kontrol}' uygulamasında tespit edilmiştir (146.98 cm²/bitki). Kurşun uygulamaları doz artışına paralel olarak kontrol bitkilerine oranla yaprak alanlarında azalmalara neden olmuştur. Sharma ve Dubey [14] kurşun elementinin hücre turgoru ve hücre duvarı stabilitesini, stoma hareketlerini ve yaprak alanını azalttığını bildirmiştir.

Kurşun stresine maruz bırakılan bitkilerde stres etkisi ile kontrol bitkilerine oranla gövde boyunda azalmanın meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 1). Gövde boyu bakımından HA uygulamaları kurşun toksisitesinin etkisini gidermede oldukça başarılı olmuştur. En yüksek gövde boyu değerleri; 'Pb^{150ppm} x HA^{8 L/da}' kombinasyonunda ölçülmüştür (19.85 cm). Kurşunun toksisitesinin gövde boyu üzerine olan olumsuz etkisini gidermede en etkili HA dozu olarak 8 L/da belirlenmiştir. Çalışmada kurşun konsantrasyonlarındaki artışla birlikte gövde boyunda meydana gelen azalma ile ilgili bulgularımız, Ghani ve ark. [15] ve Yong ve ark. [23]'ün bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Ayrıca birçok araştırmacı tarafından HA uygulamalarının bitki yaş ve kuru ağırlığı dışında bitki boyunu da arttırdığı bildirilmektedir [24,25].

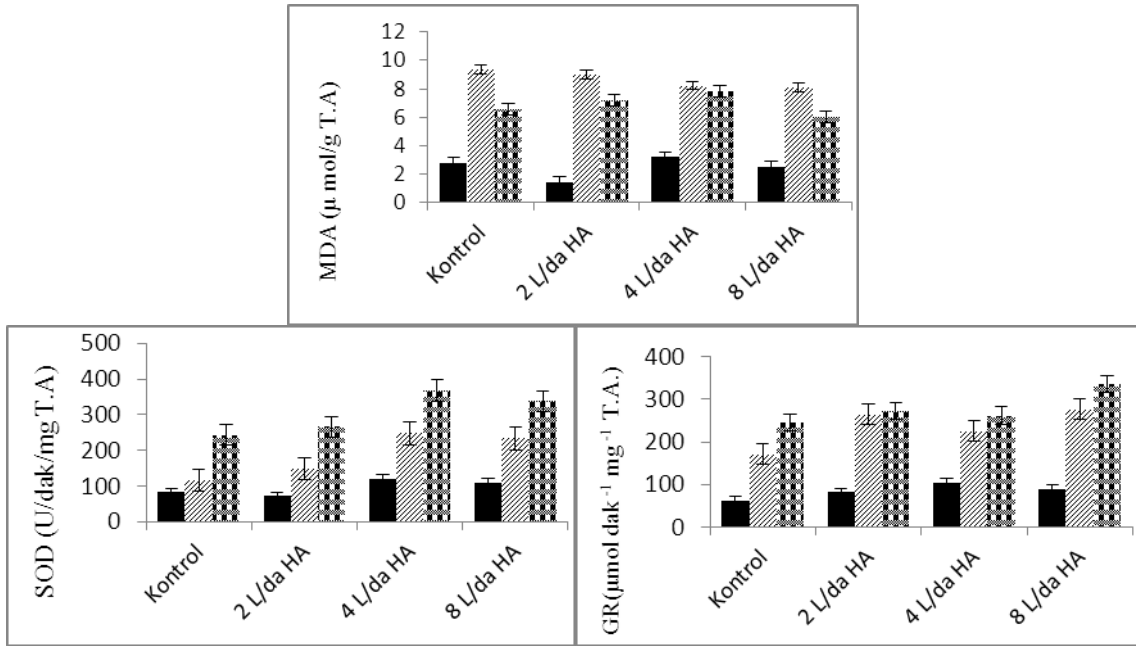
Kök boyu bakımından ortaya çıkan sonuçlar da istatistiksel olarak önemli olmakla birlikte elde edilen verilere (Şekil.1)'de yer verilmiştir. Ağır metal uygulamalarından en az düzeyde etkilenecek en yüksek değeri veren kombinasyon 'Pb^{Kontrol} x HA 4 L/da' (16.60 cm), en düşük değeri veren kombinasyon ise 'Pb^{300ppm} x HA^{Kontrol}' (11.00 cm) olarak tespit edilmiştir. Kurşun uygulamaları genel olarak kök boyunda azalmaya yol açmıştır. HA uygulamaları kök boyu bakımından Pb uygulamalarının olumsuz etkisini önleyebilmiş, HA'ın 8 L/da dozu toksisiteyi azaltmada en etkili doz olarak belirlenmiştir. Nitekim kök büyümesinin kurşun toksisitesine çok fazla duyarlı olduğu bilinmektedir [14]. Kurşun stresinin kök boyunda azalmalara yol açtığı

[15,23], HA uygulamalarının kurşunun kök boyu üzerine olan olumsuz etkisini gidermede etkili olabildiği rapor edilmiştir [26]. MDA, SOD ve GR enzim aktivitelerinin de incelendiği çalışmada, kurşun ve HA uygulamalarından elde edilen sonuçlar Şekil 2'de verilmiştir. Kurşun stresi, farklı HA koşullarında en yüksek MDA değerini ' $Pb^{150ppm} \times HA^{Kontrol}$ ' kombinasyonunda vermiştir (9.35 $\mu\text{mol/g T.A.}$). ' $Pb^{Kontrol} \times HA^{2 L/da}$ ' kombinasyonu ise 1.41 $\mu\text{mol/g T.A}$ değeri ile en düşük MDA değerine sahip olmuştur. Kurşun stresi olumsuz etkisi ile MDA miktarları bakımından önemli düzeyde artışlar meydana getirmiştir. Kurşun stresi koşullarında buğdayda [27] ve pirinçte [18] MDA miktarlarının arttığı bildirilmiştir. Ağır metaller, doymamış yağ asitlerinden reaktif oksijen türleri yoluyla hidrojen çıkartarak şiddetli bir biçimde lipidlerde peroksidasyona neden olmaktadır [28]. HA uygulamaları kurşun stresinin hücre düzeyde zararını hafifleterek ve MDA miktarlarının azalmasını sağlamıştır.

Ağır metal stresi sonucunda oluşan ve yüksek düzeylere ulaşan ROS (Reactive oxygene species)'u zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidant enzim aktiviteleri, bitkilerde oksidatif strese karşı etkili olan en önemli dayanım mekanizmaları olarak işlev görmektedir [29,19]. Süper oksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) gibi enzimler etkin antioksidatif enzimler arasında yer almaktadır. Ağır metal toksisitesi koşullarında SOD enzim aktivitesi uyarılmaktadır [30]. Çalışmamızda SOD enzim aktivitesi bakımından en yüksek değer, ' $Pb^{300ppm} \times HA^{4 L/da}$ ' (367.50 $U \text{ dak}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ T.A.}$) uygulamasından elde edilmiştir. ' $Pb^{Kontrol} \times HA^{2 L/da}$ ' kombinasyonu ise en düşük SOD ölçümüne sahip olmuştur (71.07 $U \text{ dak}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ T.A.}$). Morela ve ark. [31] kıvrıkcık salata ve Verma ve Dubey [18], çeltikte kurşun stresinin SOD enzim aktivitesinde artışlara yol açtığını, stres süresince artan düzeyde O_2 üretildiğini ve SOD enzim aktivitesindeki artış ile bitkilerin bu radikali yok etmeye çalıştıklarını bildirmişlerdir. HA uygulamaları SOD enzim aktivitesindeki artışı



Şekil 1. Kıvrıkcık salata kurşun ve HA uygulamaları ile yeşil aksam-kök yaş ağırlığı, yeşil aksam-kök kuru ağırlığı, yaprak alanı, gövde ve kök boyunda meydana gelen değişimler



Şekil 2. Kivircik salata da kurşun ve HA uygulamaları ile MDA miktarı, SOD ve GR antioksidant enzim içeriğinde meydana gelen değişimler.

desteklemiştir. Kurşun stresinin toksik etkisini gidermede en etkili doz olarak 8 L/da belirlenmiştir. Nitekim HA'lerin bitki büyümesi ve gelişimine olan pozitif etkilerinin yanı sıra, ağır metallerle kuvvetli bağlar oluşturarak toksisitenin olumsuz etkilerini giderebildikleri bildirilmiştir [6].

GR, kloroplastlarda olduğu gibi mitokondri ve sitoplazmada da bulunmakta ve askorbat-glutatyon döngüsünün hız sınırlayıcı son basamağını katalizlemektedir [32]. Çalışmada GR enzim aktivitesi, en yüksek değerini 'Pb^{300ppm} x HA^{8 L/da}' (304.45 µmol dak⁻¹ mg⁻¹ T.A.) uygulamasında, en düşük değeri ise 'Pb^{Kontrol} x HA^{Kontrol}' uygulamasında vermiştir (62.16 µmol dak⁻¹ mg⁻¹ T.A.). Benzer sonuçlar Dinakar ve ark. [33] ve Verma ve Dubey [18] tarafından da belirlenmiş olup, pirinç ve yer fıstığında kurşun stresi karşısında GR aktivitelerinde artış meydana geldiği tespit edilmiştir. HA uygulamaları ile GR aktivitesindeki bu artışın pozitif yönde etkilendiği belirlenmiştir.

SONUÇ

Farklı oranlarda kurşun içeren sulama suyunun genel olarak yeşil aksam ve köklerin yaş ve kuru ağırlıklarında, kök ve gövde boyunda, yaprak alanı değerlerinde düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca artan kurşun dozları MDA ve antioksidatif enzim (süperoksit dismutaz ve glutatyon redüktaz) aktivitelerine ait sayısal değerlerde artışa yol açmıştır. HA uygulamaları ise incelenen parametrelere ait değerlerdeki artışı genel olarak güçlendirmiştir. Kurşun stresinin olumsuz etkisini hafifletmede 8 L/da HA dozu diğer dozlara göre daha etkili bulunmuştur. Sonuç olarak ağır metal uygulamalarının yol açtığı olumsuz etkileri gidermede HA uygulamalarının yardımcı bir uygulama olarak değerlendirilebileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Kabata-Pendias A, Pendias H 1984. Trace element in the soil and plants. CRC Press Florida.
- [2] Fargasova A, 1994. Effect of Pb, Cd, Hg, As and Cr on germination and root growth of *Sinapis alba* seeds. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 52:452-456.
- [3] Miranda MG, Ilangovan K 1996. Uptake of lead by *Lemna gibba* L. influence on spesific growth rate and basic biochemical changes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56:1000-1007.
- [4] Padem H, Öcal A 1999. Effect of humic acid applications on yield and some characteristics of processing tomato. *Acta Horticulturae* 487: 159-164.
- [5] Demir E, Çimrin KM 2011. Arıtma çamuru ve humik asit uygulamalarının mısırın gelişimi, besin elementi ve ağır metal içerikleri ile bazı toprak özelliklerine etkileri. *Journal of Agricultural Sciences.* 17: 204-216.
- [6] Livens FR 1991. Chemical reactions of metals with humic material. *Environ. Pollut.*70(3): 183-208.
- [7] Anonymous 2013. Türkiye İstatistik Kurumu (<http://tuikrapor.tuik.gov.tr/reports>).
- [8] 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.
- [9] Kuşvuran Ş 2010. Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleransın Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enst., Doktora Tezi, 355s., Adana.
- [10] Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.* 78: 389-398.

- [11] Cakmak I, Marschner, H 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol.* 98: 1222-1226.
- [12] Cakmak 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. *J. Exp. Bot.* 45: 1259-1266.
- [13] 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.
- [14] Sharma P, Dubey RS 2005. Lead toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 17(1): 35-52.
- [15] Ghani A, Shah A U, 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.
- [16] Gerzabek MH, Ullah SM 1990 Influence of fulvic and humic acids on Cd and Ni- toxicity to *Zea mays* (L.). *Die Bodenkultur* 41: 115-124.
- [17] Nachttegaal M, Sparks DL 2003. Nickel sequestration in a kaolinite-humic acid complex. *Environ. Science and Tech.* 37(3): 529-534.
- [18] Verma S, Dubey RS 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.* 164: 645-655.
- [19] Liu D H, Jiang W S, Wang W, Zhao F M, Lu C 1994. Effects of lead on root growth cell division and nucleolus of *Allium cepa*. *Environ. Pollut.* 86: 1-4.
- [20] Xiong Z T 1998. Lead uptake and effects on seed germination and plant growth in a Pb hyperaccumulator *Brassica pekinensis* (Rupr). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60: 285- 291.
- [21] Jiang W, Liu D 2000. Effects of Pb²⁺ on root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays* L. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 65:786-793.
- [22] Kiran Y, Munzuroğlu Ö 2004. Mercimek (*Lens culinaris* Medik.) tohumlarının çimlenmesi ve fide büyümesi üzerine kurşunun etkileri. *F.Ü.Fen ve Mühendislik Dergisi* 16(1):1-9.
- [23] Yong X, Zhang Z, Yang Q 2011. effect of lead stress on growth characteristic and physiological indexes of *Alternanthera philoxeroides*. *Agric. Sci. and Tech.* 12(3): 347-349.
- [24] Erdal İ, Bozkurt MA, Çimrin KM (2000). Kireçli bir toprakta yetiştirilen mısır bitkisinin (*Zea mays* L.) gelişimi ve fosfor alımı üzerine humik asit ve fosfor uygulamalarının etkisi. *Turkish Journal Agriculture and Forestry.* 24(6): 663-668.
- [25] Ulukan H 2008. Tarla bitkileri tarımında humik asit uygulaması. *KSU Journal of Science and Engineering* 11(2): 119-128.
- [26] Güllüce M, Ağar G, Şahin F, Turan M, Güneş A, Demirtaş A, Esringü A, Karaman MR., Tutar A, Dizman M 2012. Pb ve Cd ile kirlenmiş alanlarda yetiştirilen turp bitkisinin verim parametreleri üzerine humik asit ve PGPR uygulamalarının etkilerinin belirlenmesi. *SAÜ Fen Edebiyat Dergisi* 1: 509-517.
- [27] Doğan M, Çolak U 2009. *Triticum aestivum* L. cv. Tosunbey'e Uygulanan Kurşunun Bazı Fizyolojik Özelliklere Etkisi. *Ekoloji* 19, 73, 98-104.
- [28] Zhou DX, Liu YF, Liu XB 2009. Effects of waterlogging stress on physiological and biochemical index in *Alternanthera philoxeroides* Hubei. *Agricultural Sciences* 48(3): 585-587.
- [29] Mittler R 2002. Oxidative stress, antioxidants, and stress tolerance. *Trends in Plant Science.* 7:405-410.
- [30] Prasad KVSK, Paradha SP, Sharmila P 1999. Concerted action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. *Environ. Exp. Bot.* 42: 1-10.
- [31] Morela VRF, Capraru G, Bara I, Artenie V 2007. Lead acetate effect on superoxide dismutase activity in *Lactuca sativa* L., Mona and Syrena cultivars. *Genetics and Molecular Biology.* 8 (2): 115-118.
- [32] Foyer CH, Lopez-Delgado H, Dat JF, Scott IM 1997. Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling. *Physiol. Plant.* 100:241-254.
- [33] 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.