Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi
Anadolu Journal of Agricultural Sciences
http://dergipark.ulakbim.gov.tr/omuanajas

Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 31 (2016)
ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)
doi: 10.7161/anajas.2016.31.3.321-331

Yerel ceviz çeşidinde (*Juglans regia* L.) abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklılık mekanizmasının belirlenmesi

Nezahat Turfan

Kastamonu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kuzeykent Yerleşkesi, Kastamonu
Sorumlu yazar/corresponding author: nturfan@kastamonu.edu.tr

Geliş/Received 12/07/2016 Kabul/Accepted 29/08/2016

ÖZET

Bu çalışmada yerel ceviz *(Juglans regia* L.) genotipinin farklı abiyotik stres faktörlerine karşı tepkisi araştırılmıştır. Bunun için 5 L hacminde 2:2:1 oranında harç (torf:bahçe toprağı:kum) karışımı içeren saksılarda yetiştirilen 5-6 yapraklı ceviz fidanlarına tuz (75, 150 ve 225 mM NaCl), ağır metal (2 mg/L $FeCl_3$, $NiCl_2$ ve $ZnCl_2$), kireç (2 g/L $CaCO_3$), fabrika baca tozu (2 g/L) ve kurak (%50) stresi uygulamaları altı hafta süresince uygulanmıştır. Uygulamalardan sonra toplanan yaprak örneklerinde fotosentetik pigment, protein, prolin miktarı, malondialdehit (MDA) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonu, APx, CAT ve SOD aktiviteleri ölçülmüştür. Bulgulara göre klorofil b, toplam klorofil ve karotenoit miktarı kireç ve ağır metal uygulamasında; protein demir, baca tozu ve çinko uygulamasında; prolin, H_2O_2, APx ve SOD değerleri tüm stres uygulamalarında; CAT değeri çinko, nikel ve kireç uygulamalarında yüksek bulunmuştur. MDA içeriği ise kireç uygulamasında yüksek, diğer gruplarda düşüktür. Sonuç olarak yerel ceviz genotipi, tuz konsantrasyonları ve kuraklığa duyarlı; ağır metal toksisitesine toleranslı ve fabrika baca tozu ve $CaCO_3$ uygulamalarına ise orta derecede toleranslı bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler:
Abiyotik stres
Ceviz
Dayanıklık
Juglans regia

Determining of resistance mechanism against abiotic stress factories in native walnut variety (*Juglans regia* L.)

ABSTRACT

This study investigated the reactions of native walnut genotype *(Juglans regia* L.) against different abiotic stress factors. For this purpose, 5-6 leaves seedlings grown in the plastic pots having the mixture of peat, garden soil and sand (2:2:1) were treated with salinity (75, 150 and 225 mM NaCl), heavy metals (2 mg/L $FeCl_3$, $NiCl_2$ and $ZnCl_2$), lime (2 g/L $CaCO_3$), pollution (2 g/L factory flue dust) and drought (50%) for six weeks. After the treatments, photosynthetic pigment, proline, total soluble protein, peroxidation level (MDA-malondialdehyde), H_2O_2, APx, CAT and SOD activities in the leaf samples were analysed. Results showed that chlorophyll b and total chlorophyll and carotenoids were highest for the lime and heavy metals treatments, whereas total soluble protein was highest for iron, zinc and factory flue dust treatments. CAT activity was highest for zinc, nickel and lime treatments, while proline, H_2O_2 concentration, APx and SOD activity were highest for all treatments. Lipid peroxidation level (malondialdehyde-MDA) starch showed an increase only with the lime treated leaves but it was lower with other treatments. In conclusion, the results indicate that the studied walnut genotype is much tolerant for heavy metal toxicity while it is susceptible to salinity concentrations and drought. In addition, walnut variety shows medium tolerance against the factory flue dust and lime.

Keywords:
Abiotic stress
Walnut
Resistance
Juglans regia

© OMU ANAJAS 2016

1. Giriş

Ceviz, besin içeriği ve insan sağlığı açısından son derece faydalı ve tüm dünyada fazla miktarda tüketilen bir meyvedir. Ekstrem iklim özelliklerine sahip alanlar dışında ülkemizin hemen her yerinde yetişmektedir. Ülkemizde ceviz üretiminin en fazla üretildiği iller Karaman, Kastamonu ve Hakkâri olarak bildirilmektedir (Anonim, 2003). Türkiye İstatistik Kurumu Kastamonu Bölge Müdürlüğü'nün verisine göre 4 bin 474 ton ceviz üretimi ile 79 il içerisinde Kastamonu 11. sırada yer alırken, Daday ilçesi ise 647 ton ceviz üretimi ile 18 ilçe içerisinde birinci sıradadır (TÜİK, 2015). Daday, Kastamonu iline bağlı, yüzölçümü 997 km^2 olan ve il merkezine 35 km uzaklıkta bir ilçedir. İklimi tipik karasal iklimdir. Bitki örtüsü bakımından çok zengin bir

ilçedir. Ormanlık sahaların etek kısımlarında yapraklı ve maki türleri, yükseklere doğru yapraklı ve ibreli türler, en yükseklerde ise ibreli ağaçlar hâkimdir. İlçe civarında söğüt, kavak ve ceviz gibi sanayide kullanılan ağaçların yanı sıra elma, armut, ahlat, erik, ayva ve fındık türleri de bulunmaktadır. İlçenin ormanlarla çevrili olması, arazinin engebeli olması, toprağın çok verimli olmaması, sulama imkânlarının sınırlı olması, şiddetli soğuklar ve ilkbaharda yaşanan don olayları gibi faktörler sebze ve meyvecilik üzerinde önemli olumsuzluklara yol açmaktadır.

Ceviz, meyvesi dışında, kereste amaçlı yetiştiricilikte ve orman alanlarının ağaçlandırılmasında, parklar ve bahçelerde süs ve gölge bitkisi olarak, kırsal alanların ve yol kenarlarının ağaçlandırılmasında ve erozyonu önlemek amacıyla yapılan ağaçlandırmalarda kullanılmaktadır (Şen, 2001; 2011). Ülkemizde ceviz genel olarak tohumdan üretilmektedir. Ancak ceviz yetiştiriciliğinde tohumdan üretim günümüzde tercih edilen bir yöntem değildir. Çünkü ekonomik ve standart bir üretim için çöğür ağaçlarından elde edilen ürünler kalite, verim ve standart farklılığından dolayı çok önemli zaman ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu sorunların aşılması amacıyla yapılan seleksiyon çalışmaları ile elde edilen genotiplerin ise değişik bölgelere adaptasyonunda sorunlar ortaya çıkmıştır (Kaşka ve Sütyemez, 2002). Ceviz yetiştiriciliği yapılan bölgelerde düşük sıcaklık, ağır metal toksisitesi, tuz veya kuraklık gibi abiyotik stres faktörlerinin olumsuz etkisini ortada kaldırmak için tohumdan yetişmiş ceviz çöğürlerinin, strese tolerans mekanizması ve sınırlarının bilinmesi oldukça önemlidir. Bunun için stresin çeşidi ve konsantrasyonu, uygulanan stres faktörünün etkisi, etkinin şiddeti ve türü ayrıca zarar oluşum sürecinin değerlendirilmesi, ceviz fidanlarının gelişim biyolojisi ve canlılığı açısından ip uçları verdiği gibi, bölgeye adaptasyonu yüksek, dayanıklı formların ortaya çıkartılmasında önemli adımı oluşturacaktır (Çelebioğlu ve Ferhatoğlu, 1981; Kaşka ve ark., 1996; Paschke ve ark., 2005).

Birçok araştırıcı abiyotik stres koşullarına tolerant genotiplerin seçilmesi ve stres faktörlerinin bitkiler üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla bitkilerde prolin, glisin betain gibi aminoasitlerin, toplam çözünür proteinlerin, çözünür şekerlerin, toplam fenolik ve flavonoitlerin miktarını, antioksidant enzimlerin aktivite değişimleri, lipit peroksidasyonu seviyesini araştırmışlardır. Stres koşullarında bitkilerde fotosentetik pigmentler (Candan ve Tarhan, 2003; Smirnoff, 2005; Zengin ve Munzuroğlu, 2008; Dubey ve Pandey, 2011); prolin (Demiral ve Türkan, 2006; Ashraf ve Foolad, 2007; Heidari ve ark., 2009; John De Britto ve ark., 2011); çözünür protein (Hartwing, 2001; Jiang ve Huang, 2002; Öncel ve Keleş, 2002; Ergün ve Muslu, 2012); reaktif oksijen türleri (ROS) ve malondialdehit (MDA) gibi toksik maddelerin miktarında (Choudhury ve Panda, 2004; Gajewska ve Sklodowska, 2007; Eraslan ve ark., 2007; Cruz ve ark., 2013); süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), guaikol peroksidaz (APx) ve askorbat peroksidaz (APx) gibi antioksidant enzim aktivitelerinde (Çakmak ve Hosrt, 1991; Velikova ve ark., 2000; Meloni ve ark., 2003; Zengin ve Munzuroğlu, 2005; Gapinska ve ark., 2008; Caverzan ve ark., 2012) değişiklik olduğunu, toleranslı türlerde bu bileşiklerin miktarının daha fazla olduğunu, bu bileşiklerin hücre içi hemostasinin düzenlenmesinde, oskidatif stresten hücre ve dokuların korunmasında ve bitkinin strese dayanımının artmasında yardımcı olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada yerel ceviz genotipinde tuz (75,150 ve 225 mM NaCl), ağır metal ($FeCl_3$, $NiCl_2$ ve $ZnCl_2$), kireç ($CaCO_3$), hava kirliliği (fabrika baca tozu) ve kurak (%50) stres uygulamalarının fotosentetik pigment, prolin, protein, lipit peroksidasyon seviyesi (MDA), hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonu, askorbat peroksidaz (APx), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, yerel ceviz genotipinin farklı stres faktörlerine toleransının ortaya konulması ve "stres faktörlerinden birine dayanıklı olan bir bitkinin diğer stres faktörlerine karşı dayanımının nasıl bir değişim göstereceği" sorusunun cevabını bulabilmek amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Araştırmada materyal olarak Kastamonu ilinin Daday ilçesinde soğuklara dayanımı ile bilenen ve uzun yıllardır ceviz yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan, kabuğu kolay kırılır, iç rengi açık renkte (buğday beyazı ile kaymak sarısı arasında), meyve kalitesi ve çimlenme kapasitesi yüksek yerel ceviz (*Juglans regia* L.) genotipine ait tohumlar kullanılmıştır.

2.1. Stres uygulamaları

Tohumlar, 24 saat suda bekletildikten sonra katlama işlemine tabi tutulmadan, içerisinde sadece torf bulunan plastik viyollere ekilmiştir. Çimlenip kotiledonları çıkan tohumlardan üç adet alınmış, 5 L hacminde 2:2:1 oranında harç (torf:bahçe toprağı:kum) karışımı doldurulmuş saksılara dikilmiştir. Deneme her uygulama için 3 tekrarlamalı ve her tekrarlamada 3 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Uygulamalara fidanlar 6-7 yapraklı safhada iken başlanılmış ve haftada iki kez olacak şekilde yapılmıştır. Kontrol grubu fideler çeşme suyu ile sulanmıştır. Tuz, ağır metal ve kireç uygulamalarında fidanlar saf su içerisinde farklı dozlarda çözündürülmüş tuz (75, 150 ve 225 mM NaCl), ağır metal (2 mg/L $FeCl_3$, $NiCl_2$ ve $ZnCl_2$) ve kireç (2 g/L $CaCO_3$) solüsyonları ile sulanmıştır. Fabrika baca tozu (2 g/L) uygulaması için fabrikadan temin edilen baca külleri saf su içerisinde çözündürülmüş ve haftada iki kez yapraklara püskürtülmüş, haftada bir kez de toprağa uygulanmıştır. %50 kurak uygulamasında çeşme suyu kullanılmış olup, su eksikliği toprak su kapasitesine göre 475 ml olarak gerçekleştirilmiştir. Stres faktörlerinin etkisini

belirlemek amacıyla uygulamalara başladıktan sonra altıncı haftada iyi gelişmiş yapraklar toplanarak toplam klorofil miktarı, pigmentler, prolin, toplam çözünür protein, lipit peroksidaz seviyesi (malondialdehit-MDA), hidrojen peroksit (H_2O_2), askorbat peroksidaz (APx), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivite tayinleri yapılmıştır.

2.2. Fotosentetik pigment miktarı, prolin, toplam çözünür protein ve lipit peroksidaz analizleri

Klorofil miktarının belirlenmesi için 0.5 g taze yaprak dokusu sıvı azot içerisinde iyice ezilmiş ve üzerine 4°C'de %80'lik aseton çözeltisinden 5 ml ilave edilerek homojenize edilmiştir. Homojenat 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve alınan süpernatantın spektrofotometrede 450, 645 ve 663 nm'de ölçümleri üç tekrarlı yapılmıştır. Toplam klorofil miktarının belirlenmesinde Arnon denklemi (Arnon, 1949) kullanılmış, karotenoid miktarı ise Jaspars formülüne göre belirlenmiştir (Witham ve ark., 1971). Yaprak örneklerindeki prolin miktarı Bates ve ark. (1973), protein miktarı Bradford (1976), lipid peroksidasyonu (MDA) Lutts ve ark. (1996) ve H_2O_2 ekstraksiyonu Velikova ve ark. (2000) tarafından kullanılan yöntemlere göre belirlenmiştir.

2.3. Enzim analizleri

Enzim ekstraktların hazırlanması amacıyla taze yaprak örneğinden 0.5 g alınmış, örnek içinde 0.1 mM Na-EDTA bulunan 50 mM'lık (pH 7.6) fosfat tampon çözeltisi ile (5 ml) homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler 15 dk süre ile 15000 g ve +4°C'de santrifüj edildikten sonra, elde edilen süpernatantta enzim aktiviteleri ölçülmüştür (SOD, APX ve CAT). Askorbat peroksidaz aktivitesi (APx) spektrofotometrik olarak Nakano ve Asada (1981) tarafından uygulanan yönteme göre 290 nm'de ($E=2.8$ mM cm^{-1}) askorbatın oksidasyon hızı ölçülerek, katalaz aktivitesi (CAT) spektrofotometrik olarak Bergmeyer (1974) tarafından uygulanan yönteme göre, süperoksitdismutaz (SOD) enzim aktivitesi ise Çakmak (2002) tarafından uygulanan yönteme göre belirlenmiştir.

2.4. Verilerin istatiksel analizi

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatistiki analizleri SPSS 20 programı kullanılarak %95 güven aralığında ANOVA ve Tukey testlerine göre yapılmıştır.

3. Bulgular

Uygulamalardan sonra periyodik olarak yapılan gözlemler sonrasında çinko, demir ve nikel uygulanan ceviz fidanlarının yapraklarında daha canlı, sert ve koyu yeşil bir görünüm izlenirken, $CaCO_3$ ve baca tozu uygulanan ceviz yapraklarının ise açık yeşil, geniş yüzeyli, ancak şeffaf yapraklara sahip olduğu gözlenmiştir. Kurak ve tuz uygulanan bitkilerin yaprakları ise daha küçük boyutlu, sert ve renksiz bir görünüm sergilemiştir. Stres uygulaması sonrası ceviz fidanlarının genel görünümleri Şekil 1'de verilmiştir. Stres uygulanmış bitkilerden tuz, baca tozu ve $CaCO_3$ uygulanmış ceviz fidanları kurumuş, ağır metal ($FeCl_3$, $NiCl_2$ ve $ZnCl_2$) ve kurak stresi uygulanan fidanlar ise canlılıklarını korumuşlardır.

Fabrika baca tozu ve ceviz fidanlarının yetiştirildiği harç karışımındaki element miktarları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur (Çizelge 1). Özellikle çinko, demir, klor, bizmut, alüminyum, kurşun, arsenik ve bor gibi elementler toksik değerdedir.

Çizelge 1. Fabrika baca tozu ve stres faktörleri uygulamadan önce harç karışımındaki element miktarları

Elementler (Sembol)	Fabrika baca tozu (ppm)	Harç (ppm)
Na	.	11.19
Mg	47.89	72.71
Al	357.35	1381.81
Si	2033.22	9994.14
P	81.48	149.37
S	3029.49	212.41
Cl	35323.97	55.63
K	644.28	523.34
Ca	4906.28	3099.84
Cr	20.42	43.49
Mn	2615.91	434.33
Fe	73377.58	13539.43
Ni	29.55	54.08
Cu	61.83	34.68
Zn	85577.76	100.45
Ga	95.86	23.04
Ar	319.42	22.04
Se	48.25	0
Br	1548.83	11.43
Cd	22.11	0.41
Ba	329.88	17.75
Pb	10691.35	15.77
Bi	2151.09	0

Tuz (75, 150 ve 225 mM NaCl), ağır metal ($FeCl_3$, $NiCl_2$ ve $ZnCl_2$), kireç, baca tozu (fabrika baca külü) ve kurak stres uygulamalarının, cevizde fotosentetik pigment miktarları, prolin, toplam çözünür protein, malondialdehit, hidrojen peroksit ve bazı antioksidant enzim içeriklerine ilişkin değerler Çizelge 2, 3 ve 4'te verilmiştir. Verilere göre fotosentetik pigment miktarları, prolin, toplam çözünür protein, malondialdehit, hidrojen peroksit ve bazı antioksidant



a b c d e



f g h ı

Şekil 1. Baca tozu (a), kireç (b), tuz (75, 150 ve 225 mM NaCl) (sırasıyla c, d ve e), ağır metal ($FeCl_3$ (f), $NiCl_2$ (g) ve $ZnCl_2$ (h)) ve kontrol (ı) stres uygulaması sonrası ceviz fidanlarının genel görünümleri

Çizelge 2. Tuz (75, 150 ve 225 mM NaCl), ağır metal ($FeCl_3$, $NiCl_2$ ve $ZnCl_2$), kireç, fabrika baca tozu ve kurak stres uygulamalarının cevizde klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoit miktarı üzerine etkileri ($P<0.05$)

Uygulamalar	Klorofil a (mg/g doku)	Klorofil b (mg/g doku)	Toplam klorofil (mg/g doku)	Toplam karotenoit (mg/g doku)
Kontrol	38.24±0.01 e*	40.83±0.09 e	37.29±0.08 e	22.83±0.04 d
75 mM	31.19±0.06 c	25.50±0.06 b	23.52±0.05 b	17.73±0.05 b
150 mM	23.80±0.07 a	19.33±0.08 a	17.84±0.07 a	15.59±0.04 a
225 mM	28.58±0.03 b	45.04±0.02 f	39.82±0.02 f	18.76±0.01 c
$FeCl_3$	37.62±0.09 d	63.56±0.02 ı	56.25±0.02 ı	29.96±0.02 g
$NiCl_2$	37.54±0.07 d	55.45±0.11 g	49.09±0.09 g	26.83±0.03 e
$ZnCl_2$	37.19±0.03 d	57.14±0.05 h	50.58±0.04 h	27.46±0.02 f
$CaCO_3$	37.33±0.04 d	67.30±0.05 j	59.55±0.04 j	31.93±0.03 h
Baca tozu	37.67±0.01 d	30.19±0.06 c	26.72±0.05 c	18.73±0.02 c
Kuraklık	37.22±0.3 d	37.18±0.16 d	32.98±0.14 d	21.32±0.05 d

*: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemli değildir ($P<0.05$).

Çizelge 3. Tuz (75, 150 ve 225 mM NaCl), ağır metal ($FeCl_3$, $NiCl_2$ ve $ZnCl_2$), kireç, fabrika baca tozu ve kurak stres uygulamalarının cevizde prolin, toplam çözünür protein miktarı, malondialdehit (MDA) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonu üzerine etkileri (P<0.05)

Uygulamalar	Prolin (µg/g doku)	Protein (mg/g doku)	MDA (µmol/g doku)	H_2O_2 (µmol/g doku)
Kontrol	23.6±0.49 a*	80.1±0.02 f	59.5±0.03 ı	130.5±0.07 a
75 mM	42.3±0.03 h	60.9±0.04 b	54.5±0.07 h	222.0±0.020 g
150 mM	47.7±0.05 ı	71.1±0.01 d	51.8±0.01 g	144.2±0.05 c
225 mM	34.3±0.03 f	56.0±0.02 a	29.8±0.05 b	215.2±0.04 f
$FeCl_3$	30.4±0.03 d	108.1±0.02 ı	38.9±0.02 d	286.7±0.07 ı
$NiCl_2$	28.6±0.04 c	70.7±0.03 c	43.5±0.02 f	198.9±0.07 e
$ZnCl_2$	24.7±0.05 b	85.6±0.05 g	28.3±0.04 a	263.6±0.09 h
$CaCO_3$	37.5±0.03 g	80.1±0.01 f	98.4±0.03 j	133.5±0.11 b
Baca tozu	31.2±0.05 e	96.5±0.13 h	37.7±0.13 c	299.5±0.16 j
Kuraklık	31.3±0.03 e	74.1±0.02 e	39.9±0.05 e	149.9±0.09 d

*: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemli değildir (P<0.05)

enzim içerikleri stresin çeşidine ve konsantrasyonuna göre farklılık göstermiştir.

Klorofil pigment miktarları stres faktörüne ve konsantrasyonuna bağlı olarak farklı etkilenmiştir. Klorofil a (kl a) içeriği, tüm uygulama gruplarında özellikle tuz konsantrasyonlarında kontrole göre düşük bulunmuştur. Kontrole göre en düşük kl a miktarı sırasıyla 150, 225 ve 75 mM NaCl'da uygulamasında %37.77, %25.27 ve %18.43 olarak saptanmıştır (P<0.05, Çizelge 2). Klorofil b (kl b) içeriği, 150 ve 75 mM NaCl (sırasıyla %52.66 ve %36.92), baca tozu (%26) ve kuraklık (%9) uygulamalarında kontrole göre düşük olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık $CaCO_3$, ağır metal ve 225 mM tuz uygulamalarında ise yüksek bulunmuştur. Kontrole göre en yüksek kl b içeriği sırasıyla $CaCO_3$ (%64.84), $FeCl_3$ (%55.67), $ZnCl_2$ (%35.81), $NiCl_2$ (%39.94) ve 225 mM NaCl (%10.32) uygulamasında ölçülmüştür (P<0.05, Çizelge 2). Uygulamaların toplam klorofil miktarı üzerine etkisi kl b ile benzer olmuştur. 75 ve 150 mM NaCl, baca tozu ve kuraklık uygulamalarında klorofil içeriği kontrol ve diğer stres uygulamalarına göre önemli ölçüde azalmıştır. Kontrole göre en yüksek klorofil değeri sırasıyla $CaCO_3$ (%59.71), $FeCl_3$ (%50.85), $ZnCl_2$ (%35.65) ve $NiCl_2$ (%31.66) uygulamalarında saptanırken, en düşük klorofil içeriği 150 ve 75 mM NaCl (%52.15, %36.92), baca tozu (%28.33) ve kuraklık (%11.56) uygulamalarında belirlenmiştir (P<0.05, Çizelge 2).

Farklı tuz konsantrasyonları, baca tozu ve kurak stres uygulamalarında toplam karotenoit miktarı kontrole göre daha düşük bulunurken, ağır metal ve $CaCO_3$ uygulamalarında arttığı tespit edilmiştir. Kontrole göre en düşük karotenoit miktarı $CaCO_3$ (%39.87), $FeCl_3$ (%31.21), $ZnCl_2$ (%20.27) ve $NiCl_2$ (%17.51); en düşük karotenoit değeri ise 150 mM (%31.73), 75 mM (%22.36), 225 mM (%17.85) tuz konsantrasyonları, baca tozu (%17.96) ve kuraklık (%6.64) uygulamalarında bulunmuştur (P<0.05, Çizelge 1). Uygulamalar arasında en yüksek prolin miktarı %79.1 ile 75 mM NaCl, en düşük prolin değeri ise %4.49 ile $ZnCl_2$'de saptanmıştır. Diğer uygulamaların prolin değerleri bu iki değer arasında yer almıştır. Kontrole göre en yüksek prolin değeri sırasıyla 75 ve 150 mM NaCl (2 kat, %79.1), $CaCO_3$ (%58.7), 225 Mm NaCl (%45.34) ve kuraklık (%32.45) uygulamalarında saptanmıştır (P<0.05, Çizelge 3). Protein içeriği, $FeCl_3$,(%35), baca tozu (%20.5) ve $ZnCl_2$ (%7) uygulamalarında kontrole göre arttığı, diğer stres uygulamalarında azaldığı tespit edilmiştir. Kontrole göre en düşük protein miktarı sırasıyla 225 mM NaCl (%30), 75 mM (%24), NiCl2 (%11.73) ve 150 mM NaCl (%11.2) uygulamalarında bulunmuştur (P<0.05, Çizelge 3).

Malondialdehit (MDA) konsantrasyonu $CaCO_3$ (%65.38) stres uygulamasında kontrole göre en yüksek değerdedir. Diğer uygulama gruplarında MDA içeriği kontrole göre düşüktür. Özellikle de $ZnCl_2$ (2 kat), 225 mM NaCl (%50), baca tozu (%36.65), $FeCl_3$ (%34.6) ve kuraklık (%33) uygulamalarında MDA konsantrasyonu kontrol ve diğer uygulamalara göre oldukça düşük değerdedir (P<0.05, Çizelge 3). Stres uygulamaları H_2O_2 konsantrasyonunda kontrole göre artışa neden olmuştur. Kontrole göre en yüksek H_2O_2 içeriği sırasıyla baca tozu (2.3 kat), $FeCl_3$ (2.2 kat), $ZnCl_2$ (2.0 kat), 75 ve 225 mM NaCl (%70.13 ve %64.96) ve NiCl2 (%52.44) uygulamalarında kaydedilmiştir (P<0.05, Çizelge 3). Lipit peroksidasyonu (MDA) seviyesi en fazla $CaCO_3$ uygulamasında yükselmiştir. 75 ve 150 mM tuz uygulamasında ise kontrole yakın değerdedir. H_2O_2 konsantrasyonu sadece $CaCO_3$ uygulamasında kontrole yakın değerde olduğu, baca tozu, $FeCl_3$ ve $ZnCl_2$ uygulamalarında ise en yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiştir.

APx ce SOD aktivitesi stres uygulamalarında stres uygulanmayan kontrole göre artış göstermiştir. Kontrole göre en yüksek APx aktivitesi baca tozu (2.9 kat), kurak (2.78 kat), $CaCO_3$ (2.73 kat), $ZnCl_2$ (2.66 kat), $FeCl_3$ (2.38 kat) ve $NiCl_2$ (2.11 kat) uygulamalarından elde edilmiştir. En yüksek SOD aktivitesi ise $ZnCl_2$ (%21.82), $NiCl_2$ (%19.3), $FeCl_3$ (%17.5), baca tozu (%15.64), 225 mM (%14.33) ve 150 mM NaCl (%13.53) uygulamalarında saptanmıştır ($P<0.05$, Çizelge 4). CAT aktivitesi $ZnCl_2$ (%39.17), $CaCO_3$ (%36.7) ve $NiCl_2$ (%36.3) uygulamalarında kontrole göre önemli düzeyde artarken, diğer stres uygulamalarında azalmıştır. En düşük enzim aktivitesi sırasıyla 225 mM (%55.7), 150 mM (%44.61), 75 mM NaCl (%39), baca tozu (%35.34), kurak (%22.45) ve $FeCl_3$ (%16.7) uygulamalarında görülmüştür ($P<0.05$, Çizelge 4).

Çizelge 4. Tuz (75, 150 ve 225 mM NaCl), ağır metal ($FeCl_3$, $NiCl_2$ ve $ZnCl_2$), kireç, fabrika baca tozu ve kurak stres uygulamalarının cevizde askorbat peroksidaz (APx), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi üzerine etkileri ($P<0.05$)

Uygulamalar	APX Ünite/mg protein	CAT Ünite/mg protein	SOD Ünite/mg protein
Kontrol	0.154±0.001 a*	0.173±0.001 g	115.2±0.02 a
75 mM	0.256±0.001 c	0.105±0.001 c	126.7±0.04 d
150 mM	0.156±0.001 a	0.096±0.001 b	130.8±0.06 e
225 mM	0.177±0.001 b	0.077±0.001 a	131.7±0.05 f
$FeCl_3$	0.366±0.001 e	0.144±0.001 f	135.3±0.01 h
$NiCl_2$	0.324±0.001 d	0.236±0.001 h	137.4±0.03 ı
$ZnCl_2$	0.409±0.001 f	0.241±0.001 ı	140.3±0.08 j
$CaCO_3$	0.42±0.001 g	0.237±0.001 h	123.6±0.07 c
Baca tozu	0.448±0.001 h	0.11±0.001 d	133.2±0.10 g
Kuraklık	0.429±0.002 g	0.14±0.001 e	121.3±0.10 b

*: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemli değildir ($P<0.05$).

4. Tartışma

Ülkemiz ceviz üretiminde dünyada söz sahibi ülkelerdendir. Ceviz ağaçlarının tohumla çoğaltılması geniş bir genetik varyasyon ve ıslah çalışmalarından kullanılacak zengin kaynak oluşmasına neden olmuştur. Ancak sürdürülebilir bir ceviz üretimi için bölgesel adaptasyon ve kuraklık, ağır metal toksisitesi, hava kirliliği, tuzluluk ve sıcaklık gibi stres faktörlerine dayanımı belirlenmiş genotiplerin veya çeşitlerin tercih edilmesi ve bu genotiplerin/çeşitlerin kapama ceviz bahçelerinin kurulmasında kullanılması önem arz etmektedir. Çalışmada yerel ceviz genotipinin farklı stres faktörlerine toleransının ortaya konulabilmesi amacıyla fotosentetik pigment, prolin, protein, lipit peroksidasyon seviyesi (MDA), hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonu, askorbat peroksidaz (APx), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri araştırılmıştır.

Stres koşullarının yapraklarda ani renk değişimine neden olmasından dolayı birçok araştırıcı, stresin bitkiler üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla fotosentetik pigment miktarını ölçme yoluna gitmiştir (Palett ve ark., 1993; Öncel ve Keleş, 2002; Smirnoff, 2005; Ashraf ve Foolad, 2007; Zengin ve Kırbağ, 2007). Çalışmada fotosentetik pigment miktarları ile tuz konsantrasyonları, fabrika baca tozu ve kuraklık uygulamaları arasında negatif ilişki bulunmuştur. Klorofil a içeriği tüm uygulamalarda, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoit içeriği ise ağır metal ve $CaCO_3$ uygulamalarında yüksek bulunmuştur. En yüksek kl b, toplam klorofil ve karotenoit miktarı, $CaCO_3$ ve $FeCl_3$ stres uygulamalarında tespit edilmiştir. Buna karşılık en düşük pigment içeriği 150 ve 225 mM tuz ve fabrika baca tozu stres uygulamalarında belirlenmiştir (Çizelge 2).

Tuz, kuraklık ve kirlilik koşullarında pigment miktarının azalması genelde beklenen bir durumdur. Çünkü tuz, baca tozunda bulunan aşırı Na, Ca, Mg, Mn, Fe, Zn, Cl, Br, As, Pb gibi metaller iyon toksisitesine neden olarak metabolik reaksiyonları, enzim aktivitelerini ve biyokimyasal bileşiklerin sentezini baskılamakta ve ayrıca zar yapısının bozulmasına neden olmaktadır. Ancak ağır metal ve $CaCO_3$ uygulamalarında klorofil pigmentlerindeki artış şaşırtıcıdır. Çünkü stres koşullarında zar bütünlüğünün bozulması nedeniyle kloroplast zarlarında lokalize olan pigmentlerin degrade olması, pigment sentezinden sorumlu enzimlerin inaktive olması ve pigment biyosentezinin baskılanması sonucu pigment miktarı azalmaktadır (Palett ve Young, 1993; Dixit ve ark., 2001; Jiang ve Huang, 2002; Sharma ve Dietz, 2006; Zengin ve Munzuroğlu, 2006; Serrano, 2008; Meletiou-Christou ve ark., 2011; Kurnaz ve ark., 2016). Ağır metal ve $CaCO_3$ uygulamalarında klorofil pigmentlerindeki artış, ceviz çeşidinin kullanılan konsantrasyonlara toleransının yüksek olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Nitekim Jain ve ark. (2001), Sairam ve Tyagi (2004), Zhu ve ark. (2007), Munns ve Tester (2008) tuz; Joshi ve Swami (2009), John De Britto ve ark. (2011) hava kirliliği; Hemandez ve ark. (2002), Turan ve ark. (2002), Ksouri ve ark.

(2005), Leytem ve Mikkelsen (2005) kireçli topraklar gibi koşullarda dayanıklı türlerde fotosentetik pigment miktarlarının yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Stres koşullarında bitkilerde miktarı en fazla değişen bileşikler prolin ve toplam çözünür proteinlerdir (Parida ve ark., 2002; Sharma ve Dietz, 2006; Vallidovan ve Nguyen, 2006; Heidari ve Moaveni, 2009; John-De Britto ve ark., 2011). Çalışmada uygulanan stres konsantrasyonları prolin miktarında önemli artışlara neden olurken, toplam çözünür protein içeriğini düşürmüştür. Prolin içeriği, tuz konsantrasyonları ve $CaCO_3$ uygulamalarında; protein ise $FeCl_3$ ve baca tozu uygulamalarında en yüksek değerdedir. Bulgulara göre tuz, $CaCO_3$, baca tozu, kuraklık ve $FeCl_3$ stres uygulamaları ile prolin; $FeCl_3$ baca tozu ve $ZnCl_2$ uygulamaları ile de protein miktarı arasında ise pozitif ilişki saptanmıştır (Çizelge 3).

Prolin ve protein içeriğine ilişkin bulgular, abiyotik stres faktörlerinin bitkilerde prolin ve protein miktarına etkilerine ilişkin çalışma sonuçları ile örtüşmektedir. Dixit ve ark. (2001), Bekirağaoğlu ve Karaglis (2002), Hansch ve Mendel (2009), Ergün ve Muslu (2012) düşük konsantrasyonlarda ağır metal uygulamasının prolin, protein ve H_2O_2 miktarını artırdığını; Jain ve ark. (2001), Sharma ve Pardah (2002), Demiral ve Türkan (2005), Doğan ve Tıpırdamaz (2010) tuzun; Jiang ve Huang (2002), Bielenberg ve ark. (2002), Clapperton ve Reid (1994) hava kirliliğinin prolin miktarında artışa neden olurken protein miktarında önemli azalışlara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Araştırıcılar stres koşullarında protein miktarındaki azalmanın, oskidatif stres sonucu oluşan ROS'ların proteinleri denatüre etmesi, enzimleri inaktif hale getirerek yeni protein sentezini baskılamasından ya da proteinlerin serbest aminoasitlere hidrolize olmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Buna karşın prolin miktarındaki artışta ise dayanıklı bitkilerde prolin biyosentezinin artması, proteinlerin hidrolize olarak proline parçalanması ya da ağır metallerin şelatlanarak prolin degradasyonunun azalmasının etkili olabileceğini bildirmişlerdir (Hartwing, 2001; Jain, 2001; Jiang ve Huang, 2002; Choudhury ve Panda, 2004; Sharma ve Dietz, 2006; Hansch ve Mendel, 2009).

Malondialdehit (MDA) hücresel zarların peroksidasyona uğraması sonucu oluşan son üründür. ROS'lar membran lipidlerinin de dâhil olduğu biyomoleküllere zarar vererek, hücresel zarların bütünlüğünün bozulmasına ve MDA birikimine sebep olmaktadır. Yüksek seviyede MDA birikimi, aşırı lipid peroksidasyonunu göstermektedir (Çakmak ve Horst, 1991 Burzynski ve Klobus 2004; Mellilo ve ark., 2006; Gajewska ve Sklodowska, 2007; Sharma ve ark., 2012; Cruz ve ark., 2013). Stres koşullarında H_2O_2 konsantrasyonunun artması, strese karşı genel bir tepki olduğu kabul edilmektedir. Araştırıcılar H_2O_2'nin bitkilerde uyarılmış savunma sisteminin indüklendiğini, tolerant tür ve çeşitlerde MDA miktarının düşük, H_2O_2 miktarının ise yüksek olduğunu belirtmektedir (Sairam ve ark., 2002; Burzynski ve Klobolus, 2004; Tanou ve ark., 2009; Keyvan, 2010).

Uygulamalardan sadece $CaCO_3$, MDA içeriğinde artışa neden olurken, H_2O_2 içeriği tüm uygulamalarda kontrole göre yüksek bulunmuştur. En düşük MDA konsantrasyonu ise $ZnCl_2$, 225 mM NaCl, baca tozu, $FeCl_3$ ve kurak uygulamalarında tespit edilmiştir. En yüksek H_2O_2 miktarı, baca tozu, ağır metal ve 75 ve 225 mM NaCl uygulamalarında belirlenmiştir (Çizelge 3). Bulgulara göre MDA içeriği, tuz uygulamalarında konsantrasyon arttıkça azalırken, bu konsantrasyonlarda H_2O_2 içeriği yüksek bulunmuştur (Çizelge 3). MDA ve H_2O_2 miktarına ilişkin veriler cevizin stres uygulamalarına toleransının yüksek olduğuna işaret etmektedir.

Sinha ve Saxena (2006), Gajewska ve Sklodowska (2007), Sharma ve ark. (2007), Dubey ve Pandey (2011), John De Britto ve ark. (2011) kurşun, kadmiyum, demir, nikel, çinko ve manganez gibi elementlerin yüksek konsantrasyonlarının; Tanaka ve ark. (1982), Clapperton ve Reid (1994), Hippeli ve Elstner (1996), Velikova ve ark. (2000), Bielenberg ve ark. (2002), Risom ve ark. (2005) hava kirliliğinin; Demiral ve Türkan (2005), Khan ve Panda (2008), Gapinska ve ark. (2008) tuzun; Jiang ve Huang (2002), Sofo ve ark. (2004), Kalefetoğlu ve Ekmekçi (2005) su stresinin hücrelerde oksidatif stresi uyararak lipit peroksidasyon seviyesini ve ROS üretimini uyardığını bildirmişlerdir. Gechevt ve ark. (2002), Li, (2003), Doğan ve ark. (2010), Caverzan ve ark. (2012) dayanıklı tür ve çeşitlerde MDA miktarının düşük, H_2O_2 içeriğinin yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Stres koşullarında bitkilerde askorbat peroksidaz (APx), katalaz (CAT), süper oksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR), peroksidaz (POD) ve guaicol peroksidaz (GPx) gibi enzim aktiviteleri değişmektedir (Pell ve ark., 1997; Dixit, 2001; Smirnoff, 2005; Gajewska ve Sklodowska, 2007; Gapinska ve ark., 2008; Doğan ve ark., 2010). Askorbat peroksidaz (APx), H_2O_2'nin uzaklaştırılmasında katalaza yardımcı olan ve lipit peroksidasyon reaksiyonlarının durdurulmasında etkili olan enzimdir. Katalaz (CAT), H_2O_2'in H_2O ve O_2'ya direkt olarak dönüşümünü sağlar. Dismutaz (SOD), serbest radikallere karşı organizmadaki ilk savunmayı yapan metalloproteinlerdir. Enzim, toksik süperoksit serbest radikalinin daha az toksik olan H_2O_2'ye dönüşümünü katalizler. Bunu da CAT veya APx, H_2O ve O_2'ya parçalar. Çalışmada stres uygulamaları APx ce SOD aktivitesinde artışa neden olmuştur. APx aktivitesi baca tozu, kurak, $CaCO_3$ ve ağır metal (Zn, Fe ve Ni) uygulamalarında en yüksek değerde bulunmuştur. Enzim aktivitesi, tuz konsantrasyonlarında kontrole göre yüksek olduğu, buna karşılık ağır metal, kurak, baca tozu ve $CaCO_3$ uygulamalarına göre düşük olduğu saptanmıştır. SOD aktivitesi ağır metal, baca tozu ve yüksek tuz konsantrasyonlarında (150 ve 225 mM) daha yüksek iken düşük tuz, kurak ve $CaCO_3$ uygulamasında ise daha düşüktür (Çizelge 4). CAT aktivitesi çinko, nikel ve $CaCO_3$ uygulamalarında kontrole göre yüksek,

tuz derişimleri, baca tozu ve kurak uygulamalarında düşüktür. Bulgulara göre APx aktivitesi en çok baca tozu, kurak, $CaCO_3$ ve ağır metal; SOD aktivitesi $ZnCl_2$, $NiCl_2$, $FeCl_3$, baca tozu, 225 mM, 150 mM NaCl; CAT ise aktivitesi $ZnCl_2$, $CaCO_3$ ve $NiCl_2$ uygulamalarında artış göstermiştir. CAT aktivitesi tuz konsantrasyonları ile ters orantı göstermiş ve baca tozu ve kurak uygulamasında en düşük değere ulaşmıştır (Çizelge 4). Enzim aktivitelerine ilişkin bulgularımız literatürlerde verilen çalışma sonuçları ile uyuşmaktadır.

Sharame ve Saxena (2006); Ak ve Yücel (2011), John De Britto ve ark. (2011), Kurnaz (2016) metal toksisitesinin; Pierre ve Queiroz (1981), Choudhury ve Panda (2004), Clements (2006), Woo ve Je (2006), Malecka ve ark. (2012) CO_2, SO_2, NOx, HF, arsenik, ozon (O_3) ve asitli yağmurlar gibi partiküller ve trafikten kaynaklanan hava kirliliğinin; Sairam ve Saxeno (2000), Meloni ve ark. (2003), Khan ve Panda (2008) tuzun ve kuraklığın APx, CAT, GR, GPx, POD ve SOD gibi enzimlerin aktivitesini konsantrasyonlara bağlı olarak farklı etkilediğini bildirmişlerdir. APx ve POD aktivitesindeki artış stres indikatörü olup, abiyotik koşullarda peroksidaz grubu enzim aktiviteleri hızlı bir şekilde artmakta ve APx, CAT, GPx, GR, POD ve SOD gibi enzimler bitkilerde oksidatif strese karşı korunmada esas bileşikler olarak rol oynamaktadır (Çakmak ve Horst, 1991; Noctor ve Foyer, 1998; Parmar ve ark., 2002; Gajewska ve Sklodowska, 2007; Dubey ve Pandey, 2011).

Çalışmada ceviz çeşidi klorofil b, toplam klorofil ve karotenoit değerleri açısından, kireç ($CaCO_3$) ve ağır metal ($FeCl_3$, $ZnCl_2$ ve $NiCl_2$); protein miktarı açısından $FeCl_3$, baca tozu ve $ZnCl_2$; prolin ve H_2O_2 içeriği ile APx ve SOD aktivitesi açısından ise tüm stres uygulamalarına toleranslı bulunmuştur. Ayrıca çeşidin lipit peroksidasyonu seviyesi açısından (MDA) $ZnCl_2$, 225 mM, baca tozu, $FeCl_3$, kurak, $NiCl_2$, 150 ve 75 mM NaCl; CAT aktivitesi kapsamında ise $ZnCl_2$, $NiCl_2$ ve $CaCO_3$ uygulamalarına dayanımı yüksek iken, fotosentetik pigment, protein miktarı ve CAT aktivitesi açısından ise tuz konsantrasyonları ve kurak uygulamalarına ise düşük olmuştur. Baca tozu uygulamasında fotosentetik pigment miktarlarının düşük olmasına rağmen, prolin, protein, H_2O_2 miktarı ile APx ve SOD aktivitelerinin yüksek olması bu bileşiklerin oksidatif stresin olası zararını önlediğini göstermektedir. Bu uygulamada H_2O_2 içeriği ve APx aktivitesinin en yüksek değerinde olmasına karşın, MDA miktarının düşük olması bu sonucu doğrulamaktadır. Demir, nikel ve çinko uygulamalarında APx, CAT ve SOD aktivitesi, toplam karotenoit ve prolin miktarının yüksek, MDA içeriğinin düşük olması, bu elementlerin cevizde ağır metal direncini artırdığına işaret etmektedir. Bir yıl süresince açık arazide bırakılmış, kış aylarında -1, -17 °C düşük sıcaklıklara maruz kalmış demir, nikel ve çinko uygulamalı fidanların canlılıklarını koruması da bu elementlerin cevizde soğuğa direncin artırılmasında rol oynadığını göstermektedir.

5. Sonuç

Veriler doğrultusunda ceviz genotipinin, tuz konsantrasyonları ve kuraklığa duyarlı; ağır metal toksisitesine toleranslı; baca tozu ve $CaCO_3$ uygulamasına ise orta dereceli toleranslı olduğu bulunmuştur. Ayrıca bir bitkinin stres etmenlerine tepkisi genotip, stresin çeşidi, şiddeti ve konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği, bir stres etmenine tolerant olan bir tür ya da çeşidin, bir diğer stres etmenine ise duyarlık gösterdiği belirlenmiştir.

Teşekkür

Proje dışı bir çalışma olarak yürütülen ve hazırlanan bu makale, KÜBAP-01/2013-17 ve KÜBAP-01/2014-21 projelerinin imkânları kullanılarak yürütülmüştür.

Kaynaklar

Ak, A., Yücel, E., 2011. Ecotoxicological effects of heavy metal stress on antioxidant enzyme levels of *Triticum aestivum* cv. Alpu. Biological Diversity and Conservation, 4: 3.

Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-10.

Ashraf, M,, Foolad, M.R., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Exp. Bot., 59(2): 206-216.

Bates, L.S., Waldern, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

Bekiaroğlu, P., Karataglis, S., 2002. The effect of lead and zinc on *Mentha spicata*. J Agron Crop Sci 188: 201-205.

Bielenberg, D.G., Lynch, J.P., Pell, E.J., 2002. Nitrogen dynamics during O_3-induced accelerated senescence in hybrid poplar. Plant Cell Environ., 25: 501-512.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem.,72: 248-254.

Burzynski, M., Klobus, G., 2004. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd and Pb stress. Photosynth ., 42(4): 505-510.

Cakmak, I., Horst, W.J., 1991. Effect of Aluminium on lipid peroxidation, Superoxide dismutase, Catalase and Peroxidase activities in root tips of Soybean (*Glycine max*). Physiol. Plant., 83: 463-468.

Candan, N., Tarhan, L., 2003. Changes in chlorophyll-carotenoid contents, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Zn-Stressed *Mentha pulegium.* Turk. J. Chem., 2: 21-30.

Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, SB., Ribeiro, CW., Lazzarotto, F., Margis-Pinheiro, M., 2012. Plant responses to stresses: Role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. Genet. Mol. Biol., 35: 1011-1019.

Choudhury, S., Panda, S.K., 2004. Induction of oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxithelium nepalense* (Schwaegr.) broth under lead and arsenic phytotoxicity . Curr. Sci., 87: 342-348.

Clapperton, J.M., Reid, D.M., 1994. Effects of sulphur dioxide (SO_2) on growth and flowering of SO_2 tolerant and non-

tolerant genotypes of *Phleum pratense*., Environmental Pollution, 86(3): 251-258.

Clements, S., 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants., Biochem., 88: 1707.

Cruz, F.J.R., Castro, G.L.S., Silva, J.D.D., Festucci-Buselli, R.A., Pinheiro, H.A., 2013. Exogenous glycine betaine modulates ascorbate peroxidase and catalase activities and prevent lipid peroxidation in mild water-stressed *Carapa guianensis* plants. Photosynthetica, 51: 102-108.

Çelebioğlu, G., Ferhatoğlu, Y., 1981. Ceviz. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü. Yayın No: 49, Yalova.

Demiral, T., Türkan, I., 2006. Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. Environmental and Exp. Bot, 56: 72-79.

Demiral, T., Türkan, I., 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Exp. Bot, 53: 247-257.

Dixii, V., Pandvey, V., Shyam, R., 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. Cv. Azad). Journal of Experimental Botany, 52(358): 1101-1109.

Doğan, M., Tıpırdamaz, R., Demir, Y., 2010. Salt resistance of tomato species grown in sand culture. Plant Soil Environment, 56(11): 499-507.

Dubey, D., Pandey, A., 2011. Effect of nickel (Ni) on chlorophyll, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities in black gram (*Vigna mungo*) leaves. Int. J. Sci. and Nature, 2(2): 395-401.

Eraslan, F., Inal, A., Savaştürk, O., Güneş, A., 2007. Changes in antioxidative system and membrane damage of lettuce in response to salinity and boron toxicity. Sci Hortic., 114(1): 5-10.

Ergün, N., Muslu, A., 2012. Buğday (*Triticum aestivum* L.) fidelerinde sıcaklık-ağır metal etkileşimlerinin çözünür proteinler üzerine etkisi. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi., 5(2): 91-93.

Gajewska, E., Sklodowska, M., 2007. Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. Biometals, 20: 27-36.

Gapinska, M., Sklodowska, M., Gabara, B. 2008. Effect of short- and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. Acta Physiol Plant, 30: 11-8.

Gechevt, T., Gadjev, I., Breusegem, F.V., Inzed, D., Dukindjiev, S., Toneva, V., Minkov, I., 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. Cell. Mol. Life Sciences, 59-708.

Hansch, R., Mendel, R.R., 2009. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo,B, Cl). Curr. Opin. Plant. Biol., 12: 259-266.

Hartwing, A., 2001. Zinc finger proteins as potential targets for toxic metal ions: differential effects on structure and function. Antioxidative Redox Signal., 3: 625.

Heidari, Y., Moaveni, P., 2009. Study of drought stress on ABA accumulation and proline among in different genotypes forage corn. Res. J. Biol. Sci., 4(10): 1121-1124.

Hemandez, T., Moral, R., Perez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, Perez-Murcia M.D., Oarcia, C., 2002. Nitrogen mineralisation potential in calcareous soils amended with sewage sludge. Biores. Technol., 83: 213-219.

Hippeli, S., Elstner, E.F., 1996. Mechanisms of oxygen activation during plant stress: biochemical effects of air pollutants. J. Plant. Physiol., 148: 249-257.

Jain, M., Mathur, G., Koul, S., Sarin, N.B., 2001. Ameliorative effects of proline on salt stress-induced lipid peroxidation in cell lines of ground nut (*Arachis hypogea* L.). Plant Cell Rep., 20: 463-468.

Jiang, Y., Huang, B., 2002. Protein alterations in tall festcue in response to drought stress and abscisic Acid. Crop Sci., 42(1): 202-207.

John De Britto, A., Sebastian, R.S., Gracelin, D.H.S.G., 2011. Effect of lead on malondialdehyde, superoxide dismutase, proline activity and chlorophyll content in *Capsicum annum*. Biores. Bulletin, 1: 93-98.

Joshi, PC., Swami, A., 2009. Air pollution induced changes in the photosynthetic pigments of selected plant species, Journal of Environmental Biology, 30: 295-298.

Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y., 2005. Bitkilerde kuraklık stresinin etkileri ve dayanıklılık mekanizmaları. G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 18(4): 723-740.

Kaşka, N,, Türemiş, N., Derin, K., Karaalp, Y., 1996. Low chilling requirement walnut selections at the Eastern Mediterranean coastal areas of Turkey. Fao Nucis Newsletter, 5(13): 13-15.

Kaşka, N., Sütyemez, M., 2001. Bazı yerli ve yabancı ceviz (*Juglans regia* L.) çeşitlerinin farklı ekolojilere uyumları üretim ve pazarlama sorunlarının belirlenmesi üzerine araştırmalar. Türkiye I. Ulusal Ceviz Sempozyumu, 76, Tokat.

Keyvan, S., 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. Journal of Animal and Plant Sciences, 8(3): 1051-1060.

Khan, M.H., Panda, S.K., 2008. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. Acta Physiologiae Plantarum, 30: 81-89.

Ksouri, R., Gharsalli, M., Lachaal, M., 2005. Physiological responses of Tunisian grapevine varieties to bicarbonate-induced iron deficiency. Journal of Plant Physiology, 162: 335-341.

Kurnaz, A., 2016. First Detailed Measurements of Environmental Radioactivity and Radiation Hazard Assessment for Gerze-Turkey, Fresenius Environmental Bulletin, 1(25): 153-162.

Kurnaz, A., Gezelge, M., Hançerlioğulları, A., Çetiner, M.A., Turhan, Ş., 2016. Radionuclides Content in Grape Molasses Soil Samples from Central Black Sea Region of Turkey. Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal, DOI: 10.1080/10807039.2016.1185356.

Leytem, A.B., Mikkelsen, R.L., 2005. The nature of phosphorus in calcareous soils. Better Crop, 89(2): 11-13.

Li, M.H., 2003. Peroxidase and superoxide dismutase activities in fig leaves in response to ambient air pollution in a subtropical city. Archives. Environ. Contamination Toxicol., 45: 168-76.

Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J., 1996. NaCl-Induced senesence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of Botany., 78: 389-398.

Malecka, A., Piechalak, A., Mensinger, A., Hanć, A., Barałkiewicz, D., 2012. Antioxidative Defense System in *Pisum sativum* Roots Exposed to Heavy Metals (Pb, Cu, Cd, Zn). Pol. J. Environ. Study, 21(6): 1721-1730.

Meletiou-Christou, M.S., Banilas, G.P., Bardis, C.,

Rhizopoula, S.R., 2011. Plant Biomonitoring: Impact of urban environment on seasonal dynamics of storage substance and chloropphyll of oleander. Global NEST Journal, 13(4): 395-404.

Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A., Cambraia, J., 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environmental Exp. Bot., 49: 69-76.

Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology., 59: 651 681.

Noctor, G., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annu. Rev. Plant Physiol., 49: 249-279.

Öncel, I., Keleş, Y., 2002. Tuz stresi altında buğday genotiplerinde büyüme, pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler. Cumhuriyet Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Fen Bilimleri Dergisi, 23(2): 8-16.

Palett, K.E., Young, A.J., 1993. Carotenoids. In Antioxidants in Higher Plants (Edited by R. G. Alscher and J. L. Hess), pp. 60-89. CRC Press Inc., Boca Raton, FL.

Parida, A., Das, A.B., Das, P., 2002. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. Journal of Plant Biol., 45(1): 28-36.

Parmar, N.G., Vithalani, S.D., Chanda, S.V. 2002. Alteration in growth and peroxidase activity by heavy metals in phaseolus seedling. Acta Physiol. Plant, 24(1): 89-95.

Pell, E.J., Schlagnhaufer, C.D., Arteca, R.N., 1997. Ozone induced oxidative stress: Mechanisms of action and reaction. Physiol. Plantarum, 100: 264-273.

Pierre, M., Queiroz, Q., 1981. Enzymic and metabolic changes in bean leaves during continuous pollution by necrotic levels of SO2. Environ. Pollut., 25: 41-51.

Risom, L., Moller, P., Loft, S., 2005. Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution. Mutat. Res. Fund. Mol. M., 592: 119-137.

Sairam, R.K., Saxena, D.C., 2000. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science, 184(1): 55-61.

Serr, E.F., 1964. The nut crops of Turkey. Proc. Nut Growers Society of Oregon and Washington, 50: 11-12.

Serrano, L., 2008. Effects of leaf structure on reflectance estimates of chlorophyll content. International Journal of Remote Sensing., 29: 5265-5274.

Sharma, P., Bhardwaj, R., Arora, N., Arora, H.K., 2007. Effect of 28-homobrassinolide on growth, zinc metal uptake and antioxidative enzyme activities in *Brassica juncea* L. seedlings. Brazil. J. Plant Physiol., 19(3): 203-210.

Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. J. Bot., 1-26.

Sharma, S.S., Dietz, K.J., 2006. The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. Exp. Bot., 57: 711-726.

Sharmila, P., Saradhi, P., 2002. Proline accumulation in heavy metal stressed plants: an adaptive strategy. In: Prasad M.N.V., Strazlka K. (eds) physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. Kluwer, Dordrecht., 179-199.

Sinha, S., Saxena, R., 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant Bacopa monnieri L. Chemosphere, 62: 1340-1350.

Smirnoff, N., 2005. Ascorbate, Tocopherol and Carotenoids: Metabolism, Pathway Engineering and Functions. In: Smirnoff N., Ed. AntioXidants and Reactive Oxygen Species in Plants. Oxford: Blackwell Publishing Ltd., p:53-86.

Sofo, A., Xiloyannis, B.C., Masia, A.E., 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. Plant Sci., 166: 293-302.

Sütyemez, M., 2000. Kahramanmaraş'ta ceviz yetiştiriciliği. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi, 3(2): 69-74.

Sütyemez, M., Eti, S., 2001. Kahramanmaraş bölgesinde selekte edilen ümitvar ceviz tiplerinin genel pomolojik özellikleri. Türkiye I. Ulusal Ceviz Sempozyumu, 77-93, 5-8 Eylül, Tokat.

Sütyemez, M., Kaşka, N., 2002. Bazı yerli ve yabancı ceviz (*Juglans regia* L.) çeşitlerinin Kahramanmaraş ekolojisine adaptasyonu. KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 5(1): 148-158.

Sykes, J.T., 1975. Tree crops. In: crop genetic resources of today and tomorrow (Ed: Frankel, OH., Hawkes, JG)., Cambridge University Press., London, P:123-137.

Şen, S.M. 2011. Ceviz yetiştiriciliği, besin değeri, folklorü. ÜÇM Yayıncılık, 220, Ankara.

Şen, S.M., Yaviç, A., Kazankaya, A., 2001. Bahçesaray yöresinden ümitvar ceviz seleksiyonları. Türkiye I. Ulusal Ceviz Sempozyumu, 32-36, Tokat.

Tanaka, K., Kondo, N., Sugahara, K., 1982. Accumulation of hydrogen peroxide in chloroplasts of SO_2 fumigated spinach leaves. Plant Cell Physiol., 23: 999-1007.

Tanou, G., Job, C., Rajjou, L., Arc, E., Belghazi, M., Diamantidis, G., 2009. Proteomics reveals the over lapping roles of hydrogenperoxide and nitricoxide in the acclimation of citrus plants to salinity. Plant J., 60: 795-804.

Turan, M., Sezen, Y., Aydın, A., 2002. Effect of Different Doses of Lime Material on Soil Properties and Growth of Spinach (spinacia oleracea). International Conference on Sustainable Land Use and Management "Sharing Experiences Sustainable Use of Natural Resources" 10-13 June 2002, Çanakkale-Turkey.

TUİK, 2015. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Bölgesel İstatistikler <URL: http://tuikapp.tuik.gov.tr/Bolgesel/anaSayfa.do?dil=tr >

Turan, M.A., Türkmen, N., Taban, N., 2007. Effect of NaCl on stomatal resistance and proline, chlorophyll, Na, Cl and K concentrations of lentil plants. J. Agron., 6: 378-381.

Vallivodan, B., Nguyen, H.T., 2006. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. Curr. Opin. Plant Biol., 9: 189-195.

Velikova, V., Yordanov, I., Edrava, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Plant Science, 151: 59-66.

Witham, F.H., Blaydes, D.F., Devli, R.M., 1971. Experiments in plant physiology. pp 55-56. Van Nostrand Reinhold Company, New York.

Woo, S.Y., Je, S.M., 2006. Photosynthetic Rates and Antioxidant Enzyme Activity of *Platanus occidentalis* Growing under Two Levels of Air Pollution along the Streets of Seoul. Journal of Plant Biology, 49(4): 315-319.

Zengin, F.K., Kirbag, S., 2007. Effects of copper on chlorophyll, proline, protein and abscisic acid level of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings. J. Environ

Biol., 28(3): 561-566.

Zengin, F.K., Munzuroğlu, Ö., 2006. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fidelerinin toplam çözünebilir protein, prolin ve klorofil miktarları üzerine civa klorürün ($HgCl_2$) etkileri. Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Der., 1: 25-30.

Zhang, J., Kırkham, M.B., 1994. Drought stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxide in wheat species. Plant Cell Physiology, 35: 785-791.

Zhu, J.K., 2007. Salt tolerance and salinity effects on plants. A review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60(3): 324-349.