

Biber (*Capsicum annuum* L.) Fidelerinde Farklı Çinko Konsantrasyonlarının Total Protein, Hidrojen Peroksit İçeriği ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi

Esra Koç¹, Ayşen Sülün Üstün¹, Yeliz Kaşko Arıcı²

¹Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Ankara

²Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyometri ve Genetik Bölümü, Ankara

Eser Bilgisi

Araştırma makalesi

Sorumlu yazar: Esra KOÇ, ekoc78@gmail.com

ÖZET

Bu çalışmada biber (*Capsicum annuum* L.) fidelerinin yapraklarında peroksidaz aktivitesi, total protein ve hidrojen peroksit içeriğine çinko ($ZnCl_2$)'un farklı konsantrasyonlarının etkisi araştırılmıştır. 6-7 yapraklı fideler 48 saat aralıkla altı gün süresince 1, 10 ve 50 μM $ZnCl_2$ uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları biberin bazı fizyolojik olaylarının çinkodan etkilendiğini göstermiştir. Uygulamanın 2. gününde Km-Acı biber yapraklarında en yüksek total protein miktarı 50 μM $ZnCl_2$ uygulamasında belirlenmiştir ($P<0,05$). Uygulamanın 6. gününde Km-Acı biber yapraklarında en düşük total protein miktarı 50 μM $ZnCl_2$ uygulamasında belirlenmiştir ($P<0,05$). Uygulamanın 6. günde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında peroksidaz aktivitesindeki en fazla artış 10 ve 50 μM $ZnCl_2$ uygulamalarında belirlenmiştir ($P<0,05$). Yüksek çinko konsantrasyonlarında hidrojen peroksit miktarında değişimler gözlenmiştir. En yüksek hidrojen peroksit içeriği uygulamanın 6. gününde 50 μM $ZnCl_2$ uygulamasında belirlenmiştir. Bu çalışmada bibere uygulanan çinkonun, yaprak dokularında peroksidaz düzeyinde bir artışa yol açtığı gözlenmiştir. Peroksidazın aktivasyonu artan H_2O_2 üretimi ile bağlantılı olabilir. Artan peroksidaz aktivitesi ağır metal stresi altında onarım yollarını (lignifikasyon gibi) uyarabilir. Bu da, bitkilerin olumsuz koşullarda hayatta kalmak için adaptif yolları harekete geçirdiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Biber, çinko, hidrojen peroksit, peroksidaz, protein, stres

Effect of Different Zinc Concentrations on Total Protein, Hydrogen Peroxide Content and Peroxidase Activity in Pepper (*Capsicum annuum* l.) Seedlings

Article Info:

Research article

Corresponding author: Esra KOÇ, ekoc78@gmail.com

ABSTRACT

In this study, the effect on different concentrations of zinc ($ZnCl_2$) on peroxidase activity, total protein and hydrogen peroxide content in leaf of pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings were researched. 6-7 leafed seedlings were exposed to 1, 10 and 50 μM $ZnCl_2$ for six days at 48 h intervals. The results of the present study showed that the physiological status of pepper was affected by Zn exposure. The highest total protein amount was detected in 50 μM $ZnCl_2$ application, on the two day after the application in the leaves of KM-hot pepper ($P<0,05$). The lowest total protein content was detected in 50 μM $ZnCl_2$ application, on the sixth day after the application ($P<0,05$). When compared to control, the maximum increase of peroxidase activity was determined in 10 ve 50 μM $ZnCl_2$ applications, on the sixth day following the application ($P<0,05$). The changes of hydrogen peroxide amount in high zinc concentrations was observed ($P<0,05$). The highest hydrogen peroxide content was detected in 50 μM $ZnCl_2$ application, on the sixth day after the application. In this study, it was observed that treatment of pepper with zinc led to an increased level of peroxidase in the leaf tissues. The activation of peroxidase could be probably associated with enhanced H_2O_2 production. The increased peroxidase activity could

further stimulate the repair processes (lignification i.e) in heavy metal-stressed. This suggests that the plants had started adaptive processes to survive adverse conditions, and plants.

Keywords: Pepper, Zinc, hydrogen peroxide, peroxidase, protein, stress

GİRİŞ

Ağır metaller endüstriyel faaliyetler, kentsel atıklar, madencilik, tarımda gübre ve pestisit kullanılması, motorlu taşıtların eksoz gazları ve volkanik faaliyet gibi pek çok kaynaktan etrafa yayılmakta, tarım ve ziraat ile ormancılıkta büyük problemler oluşturmaktadır. Bu gibi nedenlerden dolayı ağır metaller (Cd, Zn, Cr, Pb...) toprağın toksik maddelerce zenginleşmesine neden olmaktadır. Bu metallerin toprakta ve çevrede yaygın bir şekilde birikmesi, bitkiden insana hemen her çeşit organizma için boyutları giderek artan bir tehlike oluşturmaktadır (Ceran 2005; Kırbağ ve Munzuroğlu 2006).

Çinko (Zn^{+2}) bitki tarafından iyon olarak kullanılır ve bitki içinde oksitlenme ve indirgenme özelliğine sahiptir. Genel olarak en az toksik olarak kabul edilen ağır metaldir, fakat bitkiler için toprak Zn toksisitesinin kritik seviyesi iklim faktörleri, toprak çeşitleri ve bitki genotipine bağlı olarak değişmektedir. Zn toksisitesi bitkilerde hücre bölünmesine zarar vererek meristematik kök (Mohammadi ve Kazemi 2002) ve ROS

metabolizmasına katılması (Delledonne ve ark. 2002) bu antioksidanın önemini artırmaktadır.

Bitkilerin stres faktörlerine karşı olan toleransları farklıdır. Bunda bitkinin türü, stres faktörü, strese maruz kalma süresi ve strese maruz kalan doku veya organın yapısı etkilidir. Bitkilerin bu ağır metallere karşı hangi tepkiler verdiğini ve hangi savunma mekanizmaları geliştirdiğini belirlemek oldukça önemlidir. Bu araştırmada Kahramanmaraş-Acı (KM-

hücrelerinin çekirdeğinin hasarlı olmasına neden olmaktadır (Bobak 1985). Zn' nun yüksek konsantrasyonu klorozise neden olur, bitki görünüşünü küçültür, tohum sayısını, tohum ağırlığını, kök uzunluğunu, çözünabilir protein ve klorofil miktarının azalmasına neden olmaktadır (Bekiaroglou ve Karataglis 2002, Khurana ve Chatterjee 2001).

Ağır metaller membran lipidlerinin de dahil olduğu biyomoleküllere hasar vererek oksidatif stresin oluşmasına neden olan hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olmaktadır (Burzynski ve Klobus 2004). Biyotik ve abiyotik stres bitki hücrelerinde birçok karışık savunma mekanizmasını harekete geçirmektedir. Savunmada biyokimyasal mekanizmalarda birçok antioksidan molekül görev almaktadır. Bu moleküllerden biri de peroksidazdır. Peroksidazın H_2O_2 'in yıkılmasında görev aldığı tahmin edilmesi (He ve ark. 2002), bitki savunma enzimleri arasında hücre yapısını güçlendiren savunma bariyerlerinin oluşumuna katkıda bulunması

Acı) biber çeşidine çinko ($ZnCl_2$)'nun farklı konsantrasyonlarının peroksidaz, total protein ve H_2O_2 üzerindeki etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Bitkisel Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak KM-Acı (*Capsicum annuum* cv. Kahramanmaraş-Acı) biber çeşidi kullanılmıştır. KM-Acı biber çeşidi

Kahramanmaraş Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir.

KM-Acı biber çeşidine ait tohumlar % 0.75 sodyum hipoklorürde 1-2 dakika bekletildikten sonra steril su ile iyice yıkanarak yüzeysel sterilizasyonu yapılmıştır. Tohumlar bahçe toprağı-elenmiş yanmış ahır gübresi-ince kum (1:1:1 v/v/v) bulunan saksılara 5 cm aralık olacak şekilde hazırlanmış yuvaya bırakılmış ve gün aşırı sulanarak çimlenmeye bırakılmıştır. Sera şartlarında gelişen fideler 2-3 yapraklı evreye geldiklerinde içlerinde eşit büyüme gösterenler seçilmiş ve saksılarda seyreltme yapılmıştır. Yaklaşık iki aylık süre sonunda 6-7 yapraklı evreye erişen fideler su kültürüne alınmıştır. Değişen ortam koşullarına uyum sağlaması için 3 gün $22\pm3^{\circ}\text{C}$, % 60 nem, 14 saat ışık periyoduna ayarlanmış bitki yetiştirme odasına bırakılmışlardır. KM-Acı fideleri altı gün süresince 1, 10 ve 50 μM ZnCl_2 uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Deneylerimizde kontrol grubu olarak tam Hoagland çözeltisi kullanılmıştır. Uygulamaların 2. ve 6. günlerinde yaprak örnekleri alınmış ve analize kadar -80°C 'de saklanmıştır.

Peroksidaz (POD: EC 1.11.1.7) Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz enzim ekstraksiyonu Zheng ve ark. (2005)' e göre belirlenmiştir. Peroksidaz aktivitesi ise Lin ve Kao (2001)'ya göre belirlenmiştir. 20 mmol/L guaiacol, 10 mmol/L KH_2PO_4 (pH 7.0), 40 mmol/L H_2O_2 ve 100 μL enzim ekstraktı içeren reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon H_2O_2 'in eklenmesiyle başlatılmıştır. 470 nm'de absorbandaki artış 1 dakika boyunca spektrofotometrede kaydedilmiştir. Peroksidaz aktivitesi tetraguicolaol'un ekstinksiyon katsayısı ($26.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplanmıştır. Peroksidaz aktivitesinin bir

ünitesi (Ü) oda sıcaklığında 1 dakikada 1 μmol tetraguicolaol'un oluşumu için gerekli olan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır ve sonuçlar g taze ağırlık başına verilmiştir.

H_2O_2 İçeriğinin Belirlenmesi

H_2O_2 ekstraksiyonu Velikova ve ark. (2000)' e göre belirlenmiştir. H_2O_2 miktarı farklı H_2O_2 konsantrasyonları ile oluşturulan standart eğri kullanılarak hesaplanmıştır.

Total Protein Miktarının Belirlenmesi

Total çözünür protein ekstraksiyonu Kurkela ve ark. (1988)' e göre belirlenmiştir. Taze yaprak materyali % 1 β -merkaptoetanol ve 50 mgL^{-1} PVP içeren pH: 6.8 olan 50 mM Tris HCl ile homojenize edilmiştir. Homojenat 15.800 g'de $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 5 dakika santrifüjlenip, elde edilen süpernant analize kadar -20°C 'de saklanmıştır. Protein miktarı ise Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiş, bovin serum albumin (BSA) standart olarak kullanılmıştır.

İstatistik Analiz

Değişkenlerin normal dağılıma uyumu Anderson-Darling testi ile kontrol edilmiştir. Grup varyanslarının homojenliği ise Levene Testi ile kontrol edilmiştir. Değişkenler tesadüf parselleri deneme tertibinde 2×4 faktöriyel düzende varyans analizi ile analiz edilmiştir. Farklı ortalamaların belirlenmesinde %5 önem düzeyinde yapılan Student-Newman-Keuls Testi (SNK) kullanılmıştır. Varyans analizleri SPSS (versiyon 18, SPSS, Inc, Chicago, IL, USA) paket programı ile Student-Newman-Keuls testleri ise MSTAT-C programı ile yapılmıştır

SONUÇ ve TARTIŞMA

Varyans analizleri sonucunda üç özellik içinde konsantrasyon*gün ikili interaksyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0,01$). Buna uygun olarak yapılan SNK testi sonuçları ortalamaların yanında harfli gösterim şeklinde ifade edilmiştir. Küçük harfler aynı konsantrasyonda günler arası farkı, büyük harfler ise aynı günde konsantrasyonlar arası farkı göstermektedir. Ortak harf taşımayan ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($P<0,05$).

Biber fidelerine uygulanan $ZnCl_2$ 2. günden itibaren bitkilerdeki peroksidaz aktivitesini etkilemiş ve 1, 10 ve 50 μM $ZnCl_2$ konsantrasyonu uygulanan fidelerin yapraklarında meydana gelen peroksidaz aktivitesi kontrollerine göre azalmıştır (Tablo 1). En fazla aktivite kaybı en yüksek konsantrasyon olan 50 μM $ZnCl_2$

uygulamasında tespit edilmiştir. Buna karşın uygulamanın 6. gününde peroksidaz aktivitesi her üç konsantrasyonda da kontrolüne göre artış göstermiştir. Fakat en yüksek aktivite artışı 10 μM $ZnCl_2$ uygulamasında saptanmıştır ($P<0,05$) (Tablo 1).

KM-Acı fidelerinde 1, 10 ve 50 μM $ZnCl_2$ konsantrasyonu uygulanan fidelerin yapraklarında kontrole göre, uygulamayı takiben 2.günde meydana gelen H_2O_2 miktarındaki en belirgin artış 10 μM $ZnCl_2$ uygulamasında saptanmıştır ($P<0,05$) (Tablo 2). Uygulamanın 6. gününde ise yine H_2O_2 miktarı kontrollerine göre artmış, en fazla artış ise 50 μM $ZnCl_2$ uygulamasında belirlenmiştir ($P<0,05$) (Tablo 2).

Tablo 1. Biber yapraklarında peroksidaz aktivitesi üzerine farklı konsantrasyonlardaki çinkonun etkisi ($\bar{X}$: Ortalama $S_{\bar{X}}$:Ortalamanın standart hatası)

Uygulanan Konsantrasyon	Peroksidaz Aktivitesi (U gr ⁻¹ t.a) [$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$]	
	2.gün (n=3)	6.gün (n=3)
Kontrol	3,85±0,18 Aa	3,44±0,04 Ca
1 μM $ZnCl_2$	3,07±0,04 Aa	4,41±0,10 BCa
10 μM $ZnCl_2$	3,24±1,33 Ab	7,33±0,57 Aa
50 μM $ZnCl_2$	2,35±0,22 Ab	6,29±1,03 ABa

KM-Acı fidelerinde 1, 10 ve 50 μM $ZnCl_2$ konsantrasyonu uygulanan fidelerin yapraklarında uygulamayı takiben 2. günde meydana gelen total protein içeriği sadece 50 μM $ZnCl_2$ uygulamasında bir artış göstermiştir ($P<0,05$) (Tablo 3). Uygulamayı takiben 6. günde protein miktarındaki en belirgin azalma 50 μM $ZnCl_2$ uygulamasında saptanmıştır (Tablo 3).

H_2O_2 birçok normal metabolik yolun meydana getirdiği zararlı bir üründür. Bu ürünün meydana getireceği zararı engellemek için H_2O_2 'in hızlı bir şekilde daha az zararlı olan diğer bir ürüne dönüştürülmesi gerekmektedir. Katalaz'ın bitki dokusunda H_2O_2 'in uzaklaştırılmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Patykowski ve Urbanek 2003). H_2O_2 'in yıkılmasında alternatif diğer bir yol ise hücrelerin tümünde

bulunan peroksidazların aktivasyonu ile gerçekleştirilebilmektedir. H_2O_2 'in suya indirgenmesini sağlamaktadır. Yani peroksidaz ROS'lerin detoksifiye

edilmesinde görev yapmaktadır. H_2O_2 'i elimine eder ve hücrelerde H_2O_2 konsantrasyonun düzenlenmesinde görev yapar.

Tablo 2. Biber yapraklarında H_2O_2 içeriği üzerine farklı konsantrasyonlardaki çinkonun etkisi ($\bar{X}$: Ortalama $S_{\bar{X}}$:Ortalamanın standart hatası)

Uygulanan Konsantrasyon	H_2O_2 miktarı ($\mu\text{mol gr}^{-1} \text{ t.a}$) [$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$]	
	2.gün (n=3)	6.gün (n=3)
Kontrol	15,33 $\pm$ 0,07 Ba	16,59 $\pm$ 0,31 Ca
1 $\mu\text{M ZnCl}_2$	16,53 $\pm$ 0,32 Bb	20,73 $\pm$ 0,18 Ba
10 $\mu\text{M ZnCl}_2$	19,13 $\pm$ 1,04 Aa	20,070 $\pm$ 0,19 Ba
50 $\mu\text{M ZnCl}_2$	18,19 $\pm$ 0,094 Ab	22,57 $\pm$ 0,61 Aa

Tablo 3. Biber yapraklarında total protein içeriği üzerine farklı konsantrasyonlardaki çinkonun etkisi ($\bar{X}$: Ortalama $S_{\bar{X}}$:Ortalamanın standart hatası)

Uygulanan Konsantrasyon	Total protein ($\text{mgr gr}^{-1} \text{ t.a}$) [$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$]	
	2.gün (n=3)	6.gün (n=3)
Kontrol	47,29 $\pm$ 1,25 Ba	53,00 $\pm$ 0,06 ABa
1 $\mu\text{M ZnCl}_2$	48,30 $\pm$ 2,30 Bb	59,00 $\pm$ 1,82 Aa
10 $\mu\text{M ZnCl}_2$	42,99 $\pm$ 3,19 Ba	47,73 $\pm$ 2,67 BCa
50 $\mu\text{M ZnCl}_2$	59,05 $\pm$ 2,95 Aa	43,51 $\pm$ 0,29 Cb

H_2O_2 gibi serbest radikallerin bölgesel birikimi bitki dokusunda erken meydana gelen cevaplardan biri olarak kabul edilmekte büyük ihtimalle de hipersensitif cevap ve sistemik kazanılmış direncin uyarılmasında görev aldığı belirtilmektedir (Bolwell ve ark. 2002).

Ayrıca ROS oluşumunu tetiklediği oksidatif hasarlara karşı bitki korumada antioksidan bir sistem gelişmektedir. Bu sistemle ROS üretimi ya baskılanır ya da daha önceden meydana gelen ROS'leri parçalanır (Torres ve ark. 2010).

Antioksidanlar üzerinde araştırmalar yapılan en önemli savunma mekanizmalarından biridir.

Ermiş (2002) dört arpa çeşidinde bor toksisitesine dayanıklılığı incelediği çalışmada peroksidaz enzim aktivitesinde artış tespit etmiştir. Eraslan ve ark. (2007) marul bitkisinin gelişiminde tuz ve bor toksisitesinin etkilerini çalışmışlardır. Bor toksisitesi ve tuzun marul bitkisinin gelişimini engellediği ve stres durumunda peroksidaz ve H_2O_2 miktarını artırdığı saptanmıştır. Nepovim ve ark. (2004) turpta ağır metal toksisitesi (0.1mM ve

0.5mM) şartlarında çeşitli enzim aktivitelerindeki değişimleri incelemişlerdir. Araştırmada 0.5mM Ni, Pb, ve Cd uygulamasında peroksidaz aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. Doğanlar ve ark. (2012) 0.25, 1, 4, 16 mg/l manganez ve nikel uyguladıkları *Lemna gibba* 'da, uygulamadan 24 saat sonra peroksidaz aktivitesinde artış tespit ederken, en yüksek peroksidaz aktivitesinin 48 saat sonra 1mg/l uygulamasında olduğunu belirlemişlerdir. Sinha ve Saxena (2006) 10, 40, 80 ve 160 μ M demir (Fe) uyguladıkları tıbbi bir bitki olan *Bacopa monnieri* L.'nin yapraklarında yaptıkları çalışmada, 48 saat sonra konsantrasyon artışına bağlı olarak peroksidaz enzim aktivitesinde azalma olmakla beraber uygulama süresi açısından en yüksek aktiveyi saptamışlardır. Buna karşın 24 ve 72 saatlik uygulamalarda kontrole göre bir aktivite kaybı belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda da konsantrasyon artışına bağlı olarak 48.saatte peroksidaz aktivitesinde bir azalma saptanmış ve bu sonuç Sinha ve Saxena'nın sonuçları benzerlik göstermesine rağmen, en fazla aktivite artışı 6. günde saptandığından uygulama süresi açısından farklılık olduğu belirlenmiştir.

Dut (*Morus sp.*) kültürlerinde tuzluluğun antioksidan enzimler üzerindeki etkileri incelenmiş 50, 100 ve 150mM tuz uygulanmış dut kültürlerinde peroksidaz enzim aktivitesi belirlenmiştir. Tuzun konsantrasyon artışına bağlı olarak dut bitkisinde peroksidaz aktivitesinde sürekli bir artışa sebep olduğu tespit edilmiştir (Harinasuf ve ark. 2003).

Katalaz'ın ağır stres koşulları ile inaktive olması durumunda ise, H_2O_2 'in toksik özelliği peroksidaz gibi diğer bir antioksidan enzimle engellenmektedir.

Çalışmamızda olduğu gibi, günümüze kadar yapılan çalışmalarda da düşük sıcaklık, tuzluluk, su, metal stresi, parazit enfeksiyonu, patojenler, patojen olmayan tümör oluşumu, sıcaklık stresi, UV- ışık tesirleri gibi çeşitli stres faktörlerin mevcudiyetinde peroksidaz aktivitesinin artışının belirlenmesi, bu enzimin stres enzimi olarak anılmasına sebep olmuştur (Kerby ve Somerville 1992; Bakardjieva ve Christov 1996; Kim ve ark. 2000). Fiziksel, kimyasal ve biyolojik stresin değişikliğine tepki olarak bitkilerde peroksidaz aktivitesi artmaktadır (Kim ve ark. 2000). Peroksidaz enziminin lokal ve sistemik direnç için anahtar bileşik olarak kabul edilmesi (He ve ark. 2002), çok sayıda fizyolojik olayda rol oynadığı ve birçok metabolik olayın gerçekleşmesine yardımcı olduğu bilindiğinden bu kadar çok fonksiyon ile bağdaştırılan bu enzimle ilgili araştırmalar halen yoğun bir şekilde sürdürülmektedir.

Manivasagapermal ve ark. (2011), *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub'da uygulanan düşük Zn konsantrasyonlarında proteinin içeriğinin yüksek olduğunu, Zn düzeyindeki artışa bağlı olarak ise protein miktarında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da, uygulamayı takiben 6. günde yüksek Zn konsantrasyonlarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında total protein miktarında azalma olduğu belirlenmiştir. Protein miktarında bu azalma, ağır metallerin proteinleri denatüre ederek enzimleri inaktive etmesinden başka metallerin proteinlerin sülfidril gibi fonksiyonel gruplarına bağlanması ve bloke etmesi sonucu proteinlerin normal formundaki bozulmalar nedeniyle olabilir.

H_2O_2 gibi ROS türleri hücrel hasarlara neden olmalarına karşın bitkilerde sinyal molekülü olarak da görev yapmaktadırlar. Düşük konsantrasyonlarda savunma ile ilgili genlerin uyarılmasında, savunma

cevaplarının oluşmasında görev yapmasına karşın yüksek konsantrasyonlarda hücre hasarlarına, hücre ölümlerine neden olmaktadır. H_2O_2 ve diğer serbest radikallerin bölgesel birikimi bitki dokusunda erken meydana gelen cevaplardan biri olarak kabul edilmekte büyük ihtimalle de hipersensitif cevap ve sistemik kazanılmış direncin uyarılmasında görev aldığı belirtilmektedir (Bolwell ve ark. 2002). Çalışmamızda 1 ve 10 μM $ZnCl_2$ uygulamaları sonucu oluşan hidrojen peroksit bir sinyal görevi yaparak peroksidaz aktivitesini artırmış, buna karşın 50 μM $ZnCl_2$ uygulamasında, H_2O_2 miktarındaki artışa bağlı olarak H_2O_2 sitotoksik etki göstermiş ve peroksidazın aktivitesinin azalmasına neden olmuş olabilir. Dolayısıyla, uygulama süresi ve uygulanan Zn konsantrasyonu arttıkça biberin savunma mekanizmasında ki tepkilerin de azaldığı saptanmıştır.

Bitkilerin ağır metal toksisitesine karşı toleransları bitki türüne, element türüne, strese maruz kalma süresine ve strese maruz kalan doku veya organın yapısına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle ağır metalin tür ve miktarı, yayışlılığı, meydana getirdiği zarar, ayrıca meydana gelen fizyolojik olayların bilinmesi bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından oldukça önemlidir.

Bitki hücrelerinde peroksidazın diğer koruyucu moleküller ile birlikte stres periyodu süresince etkili olduğu belirtilmekle beraber fizyolojik ve ekolojik rolü bir araştırma ve tartışma konusudur. Yapılan araştırmalar ile gelecekte oksidatif strese karşı belirli antioksidanların vazgeçilmez bir koruyucu olacağı düşünülmektedir. Bu tür araştırmalar tarımsal öneme sahip olan bitkilerde peroksidaz ve diğer antioksidanların nitelik ve niceliğinin düzenlenmesine, mühendislik alanında ise antioksidanların değerini ve kullanım alanını artırmaya

yönelik çabaları da kolaylaştıracaktır. Bizim çalışmamızda çinko stresine maruz bırakılmış olan biberde total peroksidaz, total protein ve H_2O_2 miktarlarına bakılmıştır. Fakat günümüzde strese karşı plastid, apoplast, sitozol, mitokondri, peroksizom gibi birden fazla bölgede lokalize olmuş bir antioksidan molekülün farklı aktivite davranışları gösterdiğine dair çalışmaların olduğu ve bu çalışmaların sınırlı olduğu da bilinmektedir. Dolayısıyla halen tam olarak aydınlatılmayan bu mekanizma araştırılmaya değer bir konu olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Bakardjieva N, Christov K (1996) Effect of calcium and zinc ions on the sensitivity of peroxidase from mosses (*Mnium sp.*) and ferns (*Polydium vulgare*) to high temperature. Can J Bot 74: 1665-1670.
- Bekiaroglu P, Karataglis S (2002) The effect of lead and zinc on *Mentha spicata*. J Agron Crop Sci 188: 201-205.
- Bobak M (1985) Ultrastructure changes of the nucleus and its components in meristematic root cells of the horse-bean after zinc in toxication. Physiol Plants 15: 31-36.
- Bolwell GP, Bindschedler LV, Blee KA, Butt, VS, Davies, DR, Gardner SL, Gerrish C, Minibayeva F (2002) The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a tree component system. J Exp Bot 53: 1367-1376.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein 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.
- Delledone M, Murgia MI, Ederle D, Sbicego PF, Biondian A, Polveraria A, Lamb C (2002) Reactive oxygen intermediates modulates nitric oxide signalling in the hypersensitive disease-resistance response. Plant Physiol Biochem 40: 605-610.
- Doganlar ZB, Cakmak S, Yanik T (2012) Metal Uptake and Physiological Changes in *Lemna gibba* Exposed to Manganese and Nickel. I J Biol 4(3): 148-157.

- Eraslan F, İnal A, Savaşürk 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.
- Ermiş İ (2002) Bazı arpa çeşitlerinin çimlenme yüzdesi ve antioksidant enzim düzeylerine bor stresinin etkisi. Yüksek lisans tezi, Ege üniversitesi. Fen bilimleri enstitüsü, İzmir.
- Harinasuf P, Poonsopa D, Roengmogkol K, Charoensataporn R (2003) Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar. *Sci Asia* 29: 109-113.
- He CY, Hsiang T, Wolyn DJ (2002) Induction of systemic disease resistance and pathogen defence responses in *Asparagus officinalis* inoculated with nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathol* 51: 225-230.
- Kerby K, Somerville SC (1992) Purification of an infection-related, extracellular peroxidase from barley. *Plant Physiol* 100: 397-402.
- Khurana N, Chatterjee C (2001). Influence of variable zinc on yield, oil content, and physiology of sunflower. *Commun Soil Sci Plant Anal* 32: 3023-3030.
- Kırbağ F, Munzuroğlu O (2006) Toxic effects of cadmium (Cd⁺⁺) on metabolism of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings. *Acta Agric Scand, Section B - Soil and Plant Sci* 56(3): 224-229.
- Kim KY, Kwon SY, Lee HS, Hur Y, Bang CW, Choi KS, Kwak SS (2000) Differential expression of four sweet potato peroxidase genes in response to abscisic acid and ethaphon. *Phytochem* 54: 19-22.
- Kurkela S, Franck M, Heino P, Long V, Palva ET (1988) Cold induced gene expression in *Arabidopsis thaliana* L. *Plant Cell Rep.* 7: 498-598.
- Lin CC, Kao CH (2001) Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and NaCl-inhibited root growth of rice seedlings. *Plant and Soil* 230: 135-143.
- Manivasagaperumal R, Balamurugan S, Thiyagarajan G, Sekar J (2011) Effect of Zinc on Germination, Seedling Growth and Biochemical Content of Cluster Bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub). *Curr Bot* 2: 11-15.
- Mohammi M, Kazemi H (2002) Changes in peroxidase and polyphenol activity in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and – induced resistance. *Plant Sci.* 162: 491-498.
- Nepovim A, Podlipna R, Soudek P, Schröder P, Vanek T (2004) Effects of heavy metals and nitroaromatic compounds on horseradish glutathione S-transferase and peroxidase. *Chemosphere* 57 (8): 1007-15.
- Patykowski J, Urbaneck H (2003) Activity of enzymes related to H₂O₂ generation and metabolism in leaf apoplastic fraction of tomato leaves infected with *Botrytis cinerea*. *J. Phytopathol.* 151:153-161.
- 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. Torres, M.A., 2010. ROS in biotic interactions. *Physiol. Plant.* 138: 414-429.
- Velikova V, Yordanov I, Edreva A (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci* 151: 59-66.
- Zheng HZ, Cui CL, Zhang YT, Wang D, Jing Y, Kim YK (2005) Active changes of lignification-related enzymes in pepper response to *Glomus intraradices* and/ or *Phytophthora capsici*. *J Zhejiang Univ Sci* 6(8):778-786.