

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI AĞIR METALLERİN (Hg^{++} , Cd^{++} , Cu^{++} ve Pb^{++}) FASULYE
FİDELERİNİN (*Phaseolus vulgaris* L.) GELİŞMESİ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN BİYOKİMYASAL YÖNDEN ARAŞTIRILMASI

116624

FİKRİYE KIRBAĞ ZENGİN

T.C. YÖKSEK ÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ELAZIĞ, 2002

116624

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI AĞIR METALLERİN (Hg^{++} , Cd^{++} , Cu^{++} ve Pb^{++}) FASULYE
FİDELERİNİN (*Phaseolus vulgaris* L.) GELİŞMESİ ÜZERİNDEKİ
ETKİLERİNİN BİYOKİMYASAL YÖNDEN ARAŞTIRILMASI**

FİKRİYE KIRBAĞ ZENGİN

**DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Bu tez, 02.01.2007 tarihinde, aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği / ~~oyçokluğu~~ ile başarılı / ~~başarısız~~ olarak değerlendirilmiştir.

Danışman: Yrd.Doç.Dr. Ömer MUNZUROĞLU

Üye: Prof.Dr. Harun EVREN

Üye: Doç.Dr. Hasan Çetin ÖZEN

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 15.01.2007 tarih ve 3/9 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bana bu çalışma konusunu veren, çalışmalarımı yönlendiren ve çalışmanın bütün kademelerinde çok büyük emeği geçen sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Ömer MUNZUROĞLU'na saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez ile ilgili maddelerin temin edilmesinde maddi olarak sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) yöneticilerine ve laboratuvar imkanlarından faydalanmama izin veren Biyoloji Bölümü Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Deneysel ölçümlerim sırasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Mustafa KARATEPE'ye ve laborant Mehmet ARICI'ya çok teşekkür ederim.

Bundan başka, tez çalışması esnasında devamlı olarak destek gördüğüm aileme ve tüm emeği geçenlere en içten saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Fikriye KIRBAĞ ZENGİN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IV
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ÖZET.....	IX
SUMMARY.....	X
1.GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOD.....	14
2.1. Materyalin Temini.....	14
2.2. Fidelerin Yetiştirilmesi ve Ağır Metal Uygulanması.....	14
2.2.1. Fidelerde kök-gövde boyu ve yaprak alanının tespiti.....	17
2.2.2. Fidelerde pigment analizi.....	17
2.2.3. Fidelerde protein analizi.....	18
2.2.3.1. Protein standart eğrisinin çizimi.....	18
2.2.3.2. Fidelerde protein ekstraksiyonu ve tespiti.....	19
2.2.4. Fidelerde Hormon Ekstraksiyonu ve Tayini.....	20
2.2.4.1. ABA Ekstraksiyonu ve Tayini.....	21
2.2.4.2. Sitokinin ekstraksiyonu ve biyotesti.....	23
2.2.5 Vitamin Ekstraksiyonu ve Tayini.....	24
2.2.5.1. C vitamini ekstraksiyonu ve tayini.....	24
2.2.5.2. A ve E vitamini Ekstraksiyonu ve Tayini.....	26
2.3. İstatistik Analizler.....	30
3. SONUÇLAR.....	31
3.1. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Etkileri.....	31
3.2. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Pigment Miktarı Üzerine Etkileri.....	52
3.3. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Fidelerdeki Protein Miktarı Üzerine Etkileri...	56
3.4. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Fidelerdeki Absisik Asit (ABA) Miktarı Üzerine Etkileri.....	60
3.5. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Fidelerdeki Sitokinin Düzeyi Üzerine Etkileri	64

III

3.6. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Fidelerin Vitamin Miktarı Üzerine Etkileri.....	71
4. TARTIŞMA.....	75
KAYNAKLAR.....	83
ÖZGEÇMİŞ.....	106



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1. Periyodik tablodaki B sınıfı ve Sınır elementleri.....	2
Şekil 2.2.1. Çimlendirme aşamasında, tohum transplantasyonunun genel görünümü.....	14
Şekil 2.2.2. Sera ortamında büyütülen fasulye fidelerinin genel görünümü.....	15
Şekil 2.2.3. Uygulamalarda hazırlanan kavanoz + fide düzeneği.....	16
Şekil 2.2.3.1.1. Protein analizinde kullanılan standart eğri.....	19
Şekil 2.2.4.1.1. ABA standartına ait kromatogram. Mobil faz: Metanol. Akış hızı: 1,5ml. dk ⁻¹ . Dalga boyu: 254 nm. ODS1 kolonu. UV dedektörü.....	22
Şekil 2.2.4.1.2. ABA standartlarının kromatogramlarına ait pik yüksekliklerinden elde edilen standart eğri.....	22
Şekil 2.2.5.1.1. C vitamini standardına ait kromatogram. Mobil faz: 3.7 mM KH ₂ PO ₄ (pH=4).Akış hızı: 1ml dk ⁻¹ . Dalga boyu: 245 nm. Li-60 kolonu. UV dedektörü.....	25
Şekil 2.2.5.1.2. C vitamininde kullanılan standart eğri.....	26
Şekil 2.2.5.2.1. A vitamini standardına ait kromatogram. Mobil faz: Metanol/asetonitril kloroform (47:42:11 v/v). Akış hızı: 1ml dk ⁻¹ . Dalga boyu 326 nm. ODS-2 kolonu. UV dedektörü.....	28
Şekil 2.2.5.2.2. A vitamininde kullanılan standart eğri.....	28
Şekil 2.2.5.2.3. E vitamini standardına ait kromatogram. Mobil faz: Metanol / asetonitril / kloroform (47:42:11 v/v). Akış hızı: 1ml dk ⁻¹ . Dalga boyu: 296nm. ODS-2 kolonu. UV dedektörü.....	29
Şekil 2.2.5.2.4. E vitamininde kullanılan standart eğri.....	29
Şekil 3.1.1. On gün süreyle farklı konsantrasyonlarda kurşun uygulanan fasulye fidelerinin genel görünümü.....	31
Şekil 3.1.2. 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.....	32
Şekil 3.1.3. 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.....	34
Şekil 3.1.4. 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı belirlenen yaprak alanı artışı yüzdeleri.....	35

Şekil 3.1.5. On gün süreyle farklı konsantrasyonlarda bakır uygulanan fasulye fidelerinin genel görünümü.....	36
Şekil 3.1.6. 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.....	37
Şekil 3.1.7. 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.....	39
Şekil 3.1.8. 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı belirlenen yaprak alanı artışı yüzdeleri.....	40
Şekil 3.1.9. On gün süreyle farklı konsantrasyonlarda kadmiyum uygulanan fasulye fidelerinin genel görünümü.....	41
Şekil 3.1.10. 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.....	42
Şekil 3.1.11. 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.....	44
Şekil 3.1.12. 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı belirlenen yaprak alanı artışı yüzdeleri.....	45
Şekil 3.1.13. On gün süreyle farklı konsantrasyonlarda civa uygulanan fasulye fidelerinin genel görünümü.....	47
Şekil 3.1.14. 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.....	48
Şekil 3.1.15. 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.....	49
Şekil 3.1.16. 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı belirlenen yaprak alanı artışı yüzdeleri.....	51
Şekil 3.2.1. On gün süreyle 1.5, 2 ve 2.5 mM PbCl_2 uygulanan fasulye fidelerinde taze dokunun gramı başına mg olarak hesaplanan pigment miktarları.....	52
Şekil 3.2.2. On gün süreyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 uygulanan fasulye fidelerinde taze dokunun gramı başına mg olarak hesaplanan pigment miktarları.....	53
Şekil 3.2.3. On gün süreyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinde taze dokunun gramı başına mg olarak hesaplanan pigment miktarları.....	54
Şekil 3.2.4. On gün süreyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 uygulanan fasulye fidelerinde taze dokunun gramı başına mg olarak hesaplanan pigment miktarları.....	55

Şekil 3.3.1. 10 gün süreyle kurşun uygulanan fasulye fidelerinde yaş dokunun gramı başını ekstre edilen protein miktarı (mg.g^{-1} yaş ağırlık).....	56
Şekil 3.3.2. 10 gün süreyle bakır uygulanan fasulye fidelerinde yaş dokunun gramı başını ekstre edilen protein miktarı (mg.g^{-1} yaş ağırlık).....	57
Şekil 3.3.3. 10 gün süreyle kadmiyum uygulanan fasulye fidelerinde yaş dokunun gramı başını ekstre edilen protein miktarı (mg.g^{-1} yaş ağırlık).....	58
Şekil 3.3.4. 10 gün süreyle civa uygulanan fasulye fidelerinde yaş dokunun gramı başını ekstre edilen protein miktarı (mg.g^{-1} yaş ağırlık).....	59
Şekil 3.4.1. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda PbCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin ABA içerikleri (ng.g^{-1} yaş ağırlık).....	60
Şekil 3.4.2. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda CuCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin ABA içerikleri (ng.g^{-1} yaş ağırlık).....	61
Şekil 3.4.3. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinin ABA içerikleri (ng.g^{-1} yaş ağırlık).....	62
Şekil 3.4.4. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda HgCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin ABA içerikleri (ng.g^{-1} yaş ağırlık).....	63
Şekil 3.5.1. On gün süreyle kurşun uygulanan fasulye fidelerinden elde edilen ekstrelerin bazik maddeleri içeren su fazlarında, 500 lüks ışık altında ve 60 saat süreyle bekletilen turp kotiledonlarının genel görünümleri.....	64
Şekil 3.5.2. Kontrol, 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl_2 uygulanan fasulye fidelerden 10. gün sonunda elde edilen ekstrelerin bazik maddelerini içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile belirlenen sitokinin aktiviteleri (%).....	65
Şekil 3.5.3. On gün süreyle bakır uygulanan fasulye fidelerinden elde edilen ekstrelerin bazik maddeleri içeren su fazlarında, 500 lüks ışık altında ve 60 saat süreyle bekletilen turp kotiledonlarının genel görünümleri.....	66
Şekil 3.5.4. Kontrol, 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 uygulanan fasulye fidelerden 10. gün sonunda elde edilen ekstrelerin bazik maddelerini içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile belirlenen sitokinin aktiviteleri (%).....	66
Şekil 3.5.5. On gün süreyle kadmiyum uygulanan fasulye fidelerinden elde edilen ekstrelerin bazik maddeleri içeren su fazlarında, 500 lüks ışık altında ve 60 saat süreyle bekletilen turp kotiledonlarının genel görünümleri.....	67
Şekil 3.5.6. Kontrol, 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerden 10. gün sonunda elde edilen ekstrelerin bazik maddelerini içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile belirlenen sitokinin aktiviteleri (%).....	68

- Şekil 3.5.7.** On gün süreyle civa uygulanan fasulye fidelerinden elde edilen ekstrelerin bazik maddeleri içeren su fazlarında, 500 lüks ışık altında ve 60 saat süreyle bekletilen turp kotiledonlarının genel görünümleri..... 69
- Şekil 3.5.8.** Kontrol, 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerden 10. gün sonunda elde edilen ekstraların bazik maddelerini içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile belirlenen sitokinin aktiviteleri (%)...... 69
- Şekil 3.6.1.** 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin yapraklarındaki A, E ve C vitamini düzeyleri (µg.g⁻¹ yaş ağırlık). *C vitamini değerleri 10⁻¹ ile çarpılmıştır..... 71
- Şekil 3.6.2.** 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda CuCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin vitamin içerikleri (µg.g⁻¹ yaş ağırlık). *C vitamini değerleri 10⁻¹ ile çarpılmıştır..... 72
- Şekil 3.6.3.** 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda CdCl₂.H₂O uygulanan fasulye fidelerinin vitamin içerikleri (µg.g⁻¹ yaş ağırlık). *C vitamini değerleri 10⁻¹ ile çarpılmıştır..... 73
- Şekil 3.6.4.** 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin vitamin içerikleri (µg.g⁻¹ yaş ağırlık). *C vitamini değerleri 10⁻¹ ile çarpılmıştır..... 74

TABLOLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1.1. 10 gün süreyle 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.....	32
Tablo 3.1.2. 10 gün süreyle 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.....	33
Tablo 3.1.3. 10 gün süreyle 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen yaprak alanı artışı yüzdeleri.....	35
Tablo 3.1.4. 10 gün süreyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.....	37
Tablo 3.1.5. 10 gün süreyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.....	38
Tablo 3.1.6. 10 gün süreyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen yaprak alanı artışı yüzdeleri.....	40
Tablo 3.1.7. 10 gün süreyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl ₂ .H ₂ O uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.....	42
Tablo 3.1.8. 10 gün süreyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl ₂ .H ₂ O uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.....	43
Tablo 3.1.9. 10 gün süreyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl ₂ .H ₂ O uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen yaprak alanı artışı yüzdeleri.....	45
Tablo 3.1.10. 10 gün süreyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.....	47
Tablo 3.1.11. 10 gün süreyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.....	49
Tablo 3.1.12. 10 gün süreyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl ₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen yaprak alanı artışı yüzdeleri.....	50

DOKTORA TEZİ

BAZI AĞIR METALLERİN (Hg^{++} , Cd^{++} , Cu^{++} ve Pb^{++}) FASULYE FİDELERİNİN
(*Phaseolus vulgaris* L. Strike) GELİŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
BİYOKİMYASAL YÖNDEN ARAŞTIRILMASI

Fikriye KIRBAĞ ZENGİN

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

2002, Sayfa:118

Bu çalışmada fasulye fidelerinin kök, gövde ve yaprak büyümesi ile protein, pigment, hormon (absisik asit, sitokinin) ve vitamin (A, E, C) miktarları üzerine civa, bakır, kadmiyum ve kurşunun etkileri araştırılmıştır.

Her dört ağır metal fidelerin kök, gövde ve yaprak büyümesini önemli oranlarda engellemiştir. Ağır metal tuzunun konsantrasyonundaki artış ile kök, gövde ve yaprak büyümesinin inhibisyon oranı arasında bir paralellik görülmüştür. Yapraklarda yapılan pigment analizlerinde civa, bakır, kadmiyum ve kurşunun klorofil a, klorofil b, total pigment I ve total pigment II miktarlarını azalttığı, buna karşılık karotenoid miktarını artırdığı tespit edilmiştir. Ağır metal tuzu içeren solüsyonlarda yetiştirilen fidelerin total protein miktarları kontrol bitkilerine göre daha düşük çıkmıştır. Ağır metal uygulaması fidelerin hormon düzeylerinde de önemli değişiklikler yapmıştır. HPLC' de yapılan analizlerde absisik asit miktarının ağır metal uygulaması ile arttığı belirlenmiştir. Ağır metallerin, fidelerin turp kotiledonu genişleme testi ile belirlenen sitokinin aktivitelerini azalttığı görülmüştür. Son olarak, fidelerin yapraklarından HPLC ile tespit edilen A, E ve C vitaminlerinin miktarları ağır metal etkisiyle artmıştır. Çalışılan parametreler üzerinde, genel olarak, en fazla toksik etkiyi civa göstermiş, civayı sırayla kadmiyum, bakır ve kurşun izlemiştir. Sonuçlar istatistik açıdan $p<0.05$ ve $p<0.01$ düzeylerinde önemli bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Ağır metal, kök, gövde ve yaprak büyümesi, klorofil, karotenoid, protein, absisik asit, sitokinin ve vitamin.

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

AN INVESTIGATION ON THE BIOCHEMICAL EFFECT OF SOME HEAVY METALS (Hg^{++} , Cd^{++} , Cu^{++} ve Pb^{++}) ON THE GROWTH OF THE BEAN SEEDLINGS (*Phaseolus vulgaris* L. Strike)

Fikriye KIRBAĞ ZENGİN

Firat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

2002, Page:118

In this study, the effects of mercury, copper, cadmium and lead on the growth of root, shoot and leaves of bean seedlings and on the protein, pigment, hormone (abscisic acid, cytokinin) and vitamin (A, E and C) amounts were investigated.

All of these four metals significantly prevented the growth of root, shoot and leaves of seedlings. A parallel relation was observed between an increase in the concentration of the heavy metal salt and rate of inhibition of root, shoot and leaf growth. Pigment analyses on the leaves revealed that the mercury, copper, cadmium and lead led a decrease in chlorophyll a, chlorophyll b, total pigment I and total pigment II amounts while increasing the carotenoid amounts. Total protein amounts of the seedlings raised in the solutions of heavy metal salts were found to be lower than those control plants. Heavy metal application caused significant changes to the hormone levels of the seedlings as well. The analyses performed at HPCL showed that the abscisic acid amounts increased in proportion to heavy metal application. It was found that heavy metals led a decrease in cytokinin activities of seedlings as determined by the radish cotyledon expansion test. Finally, the vitamin A, E and C amounts determined by HPLC on the leaves of the seedlings rose under the influence of heavy metals. Mercury generally had the highest toxic effect on the parameters studied, and it is followed by cadmium, copper and lead. The results were found to be statistically significant ($p < 0.05$ ve $p < 0.01$).

Key Words: Heavy metal, root, shoot and leave growth, chlorophyll, carotenoid, protein, abscisic acid, cytokinin and vitamin.

1. GİRİŞ

Ekosistemlerin toprak, su ve hava gibi cansız ögeleri başta insan olmak üzere bitki ve hayvanların etkileri ile kirlenmektedir. Ayrıca çeşitli doğa olayları bu kirlmeyi artırmaktadır. 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren endüstri gelişimine paralel olarak artan kirlilik günümüzde bütün canlıları tehdit eder bir duruma gelmiştir. Bu tehdit ana üretici konumunda olan bitkiler üzerinde çok daha fazladır.

Çevre kirliliği konusunda en çok kullanılan terimlerden biri ağır metallerdir. Endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların egzoz gazları, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik faaliyetler, tarımda gübreleme ve ilaçlama gibi pek çok etken ağır metal kirliliğinin nedenleri arasında yer alır.

Bilindiği gibi periyodik tablo 109 element içerir. Bu elementler metaller ve ametaller şeklinde iki büyük gruba ayrılır. Metaller de kendi aralarında hafif ve ağır metaller ile metaloidler (madensel metaller) şeklinde üç grup altında incelenir. Bunlardan ağır metaller için çeşitli tanımlamalar yapılmış ve diğer elementlerden farklı bazı kriterler getirilmiştir. En yaygın tanımlamaya göre, bir metalin ağır metal sayılabilmesi için yoğunluğunun 5 g/cm^3 den fazla olması gerekir. Bir başka tanımlamaya göre, ağır metal geçiş elementleri sınıfına giren, d orbitallerinde elektron bulunduran ve yoğunluğu 5 g/cm^3 den fazla olan metallerdir (Barcelo ve Poschenrieder, 1990). Bazı araştırmacılar atom ağırlığı 100 a.k.b (g) nin üzerinde olan metalleri bu gruba sokmuşlardır. Bu durumda bütün lantanit ve aktanitlerin de ağır metal olması gerekir. Fakat bu kendi başına yeterli bir ölçü değildir. Bazı kimyasal özelliklerinin ve biyolojik fonksiyonların da göz önüne alınması gerekir. Tiller (1989) ağır metalleri çevre kirlletici olarak sınıflandırmıştır. Bir başka sınıflandırma yönteminde ağır metaller Şekil 1 deki periyodik cetvel üzerinde B sınıfı ve sınır elementleri olarak gösterilmiştir. Bu tablodaki sınır elementlerin tümü ve B sınıfı elementleri genel olarak ağır metal terimi içerisinde sınıflandırılmıştır.



Sınır elementi



B sınıfı elementi

H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt									

Lantanit

Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Aktinit

Th	Pa	U	Nb	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr
----	----	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

Şekil 1. Periyodik tablodaki B sınıfı ve Sınır elementleri

Şekil 1 deki sınıflandırma yapılırken metalin sadece fiziksel ve kimyasal özellikleri değil, aynı zamanda biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri de göz önüne alınmıştır. Bu durumda, aşağıdaki elementler ağır metal olarak kabul edilmektedir.

Sınır elementleri				B sınıfı elementleri	
Titanyum	Ti ⁺²	Çinko	Zn ⁺²	Rhodium	Rh
Vanadyum	V ⁺²	Galliyum	Ga ⁺²	Paladyum	Pd ⁺²
Krom	Cr ⁺²	Arsenik	As (III)	Bakır	Cu ⁺²
Mangan	Mn ⁺²	Kadmiyum	Cd ⁺²	Gümüş	Ag
Demir	Fe ⁺² , Fe ⁺³	İndiyum	In ⁺³	İridyum	Ir
Kobalt	Co ⁺²	Kalay	Sn ⁺² , Sn (IV)	Platin	Pt ⁺²

Ağır metaller arasında yer alan Mn, Fe, Cu, Zn ve Ni gibi elementler yüksek bitkiler için esansiyal besinlerdir (Nedelkoska ve Doran, 2000; Welch, 1995; Salisbury ve Ross, 1992). Mesela bakır ve çinko gibi ağır metallerin normal konsantrasyonları bitkilerin büyüme ve gelişmesinde önemli rol oynayan protein ve enzimlerin yapısı için gerekli kofaktör olarak görev alırlar (Steffens, 1990; Moustakas ve diğ., 1994). Mikrobesein elementi olsun veya olmasın ağır metallerin bitkide aşırı birikimi fizyolojik strese, büyüme ve gelişmede azalmaya sebep olur (Clijters ve Van Assche, 1985; Phalsson, 1989; Van Assche ve Clijters, 1990; Ouzounidou, 1994). Bitki dokularında ağır metal birikimi fazla olursa mineral besin alımı (Greger ve Lingberg, 1987; Ouzounidou ve diğ., 1992), transpirasyon (Poschenrieder ve diğ., 1989; Costa ve diğ., 1994), fotosentez (Lidon ve diğ., 1993), enzim aktivitesi (Nussbaum ve diğ., 1988; Van Assche ve diğ., 1980), nükleik asit yapısı (Shah ve Dubey, 1995; Doncheva ve diğ., 1996), klorofil biyosentezi (Lidon ve Henriques, 1991; Somashekaraiah ve diğ., 1992) ve çimlenme (Munzuroğlu ve Geckil, 2002) gibi çok sayıda olay olumsuz yönde etkilenir. Bunlara membranlarda hasar (Haug ve Caldwell, 1985; Kennedy ve Gonsalves, 1987), hormon dengesinin bozulması, su ilişkisinin değişmesi gibi fizyolojik olaylar da eklenebilir.

Hücre büyümesinin ağır metaller tarafından engellenmesi hususunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Mesela *Phaseolus vulgaris* bitkisine 48 saat süreyle 3 μ M Cd uygulanmış ve yaprak hücrelerinde genişlemenin engellendiği, hücre duvarı elastikiyetinin azaldığı görülmüştür (Poschenrieder ve diğ., 1989). Ağır metaller içerisinde sınıflandırılmayan, fakat bitkilerde önemli toksik etkileri olduğu bilinen alüminyumun hücre duvarındaki pektinin karboksil gruplarına bağlanarak hücre duvarının uzama kabiliyetini ve elastikiyetini azalttığı bildirilmiştir (Klimashevski ve Dedov, 1975; Matsumoto ve diğ., 1976). Bu elementin (Al) *Pisum sativum* kök hücrelerinde pektin fraksiyonları ile birlik oluşturup, hücre duvarı plastikiyetine paralel olarak kök uzamasında azalmaya neden olduğu anlaşılmıştır (Klimashevski ve Dedov, 1975). Aynı şekilde kadmiyum (Khan ve diğ., 1984), çinko (Peterson, 1969) ve kurşunun (Wierzbicka, 1987) da pektine bağlandığı rapor edilmiştir. *Zea mays* köklerinde kadmiyum birikimini x-ışınları mikroanaliz yöntemiyle inceleyen Khan ve diğerleri (1984) kadmiyumun büyük oranda orta lamel ve hücre duvarı ile birlik oluşturduğunu görmüşler, orta lamelde kadmiyumun pektine bağlanmasının artmasıyla

hücre adezyonunun artabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca bakırın hücre uzamasını engellediği (Barcelo ve Poschenrieder, 1990) ve hücre duvarında ligninleşmeyi artırdığı belirtilmiştir (Arduini ve diğ., 1995). Metaller tarafından hücre duvarı esnekliğinin engellenmesi sonucu hücre duvarı sentezinin azaldığı görülmüştür (Barcelo ve Poschenrieder, 1990). Al (Bennet ve diğ., 1985), Cr (Vazquez ve diğ., 1987) ve Cd (Marcenko, 1986)'un golgi aktivitesini değiştirdiği anlaşılmıştır. Hücre genişlemesinin metaller tarafından azaltılmasında gerek oksin metabolizmasının ve gerekse oksin taşınımının etkisi olduğu rapor edilmiştir (Lane ve diğ., 1978; Hasenstein ve diğ., 1988).

Metal iyonları bitki hücre membranlarında hasar meydana getirerek, hem kimyasal kompozisyonlarında hem de fiziksel organizasyonlarında değişikliklere yol açarlar (Stefanov ve diğ., 1999). Metal varlığında özellikle membran yağ asitlerinin kompozisyonu değişir. *Lycopersicum esculentum* fidelerinde kadmiyum ve bakırın glikolipid, fosfolipit, nötral yağ ve total lipit içeriğini azalttığı (Ouariti ve diğ., 1997), bu azalmanın kloroplastlar gibi hücresel organellerin intrasellular membranlarındaki polar lipit seviyelerinde de (glikolipit ve fosfolipit) görüldüğü (Ouzounidou ve diğ., 1992) ve lipit kaybına, lipit sentezi çemberindeki karışıklığın neden olduğu belirtilmiştir (Ouariti ve diğ., 1997). Lipit peroksidasyonunu katalizleyen lipoksigenaz aktivitesinin bakır ve kadmiyum tarafından artırıldığı, özellikle doymamış yağ asitlerinin substrat olarak kullanıldığı bu reaksiyonlar sonucu peksil, alkoksil ve hidroksil radikallerinin oluştuğu, bunların da membran yapısının bozulmasına yol açtığı rapor edilmiştir (Devos ve Schat, 1991). Membranlardaki fosfolipit seviyesinin azalmasıyla ATPaz aktivitesinin azaldığı (Kennedy, 1987) ve permeabilitenin değiştiği (Devos ve Schat, 1991) bildirilmiştir. Metallerin membran lipitlerinin peroksidasyonunu aktif hale getiren oksijen radikallerinin oluşmasına neden olduğu (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Asada, 1994; Gille ve Singler, 1995; Alia ve diğ., 1997) ve bu oksijen radikallerinin lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi bileşiklerde hasarlar meydana getirdiği tespit edilmiştir (Somashekaraiah ve diğ., 1992; Alia ve diğ., 1995). Diğer taraftan metallerin serbest radikal dengesini değiştirerek membran lipitlerinin bozulmasına yol açtıkları ve bu suretle membranlarda K^+ , H^+ iyonu, şeker ve amino asit sızıışına neden oldukları bildirilmiştir (Woolhouse, 1983; Foy ve diğ., 1978; Cocucci ve Morgutti, 1986). Kadmiyumun membranlardaki fosfolipitlere bağlanarak K^+ bağlanma alanlarını

etkilediği ve K-ATPaz aktivitesini engelleyerek K^+ alımını inhibe ettiği rapor edilmiştir (Lindberg ve Winstrand, 1985).

Metallerin bitkilerdeki kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine önemli etkiler yaptığı çok sayıda çalışma ile tespit edilmiştir. 4000 $\mu\text{g Cu L}^{-1}$ uygulanan 2 yıllık *Pinus resinosa* bitkilerinde solgunluk ve köklerde kahverengileşme olduğu, lateral kök gelişiminin engellendiği ve kontrollere göre ağırlıklarının %30 azaldığı rapor edilmiştir (Phalsson, 1989). *Picea abies* fidelerine 5 hafta boyunca 2000 $\mu\text{g Zn L}^{-1}$ uygulandığında su içeriğinin azaldığı bildirilmiştir (Schlegel ve diğ., 1987). 4000 $\mu\text{g Cu L}^{-1}$ uygulanan *Lonicera tatarica* fidelerinin ağırlıklarında kontrollere göre %75 oranında azalma olmuştur (Heale ve Ormrod, 1982). 14 gün boyunca 20 $\mu\text{g Cu L}^{-1}$ 'ye maruz bırakılan *Lolium perenne* bitkilerinde kök ve gövde büyümesi engellenmiş, özellikle kök gelişiminde %50 ye varan oranlarda azalmalar olmuştur (Wong ve Bradshaw, 1982). *Secale cereale* 'nin kök büyümesi üzerine denenen 10 ağır metal arasında bakır 0,02 ppm gibi çok düşük konsantrasyonda bile %50 oranında inhibisyona neden olmuştur (Fernandes ve Henriques, 1991). 104 $\mu\text{g Pb L}^{-1}$ uygulanan *Picea abies* fidelerinin kök uzunluğu %30 oranında azalmış, kurşun konsantrasyonun 4 kat artırılması durumunda bu değer %50'ye çıkmıştır (Godbold ve Hüttermann, 1985). 5 mM kobalt ile muamele edilen fidelerin gelişimi engellenmiş ve klorozis meydana gelmiştir (Liu ve diğ., 2000). Yüksek konsantrasyonda çinko katyonu bitkilerin kök uzamasını engellemiş (Sresty ve Madhava, 1999; Harmens ve diğ., 1993), klorozis ve nekrozise sebep olmuştur (Delgado ve diğ., 1993). Çinko ve kadmiyum katyonlarının beyaz pamukta bodurlaşmaya ve nekrozise sebep olduğu, çinkonun gelişmeyi büyük oranda azalttığı rapor edilmiştir. Kadmiyumun nekrosise, krom ve çinkonun ise klorozise yol açtığı (Delgado ve diğ., 1993) belirlenmiştir. Düşük konsantrasyonda kadmiyum ile muamele edilen *Lemna gibba*'da gelişmenin önemli oranda inhibe edildiği (Polar ve Küçükcezzar, 1986), metal bulaşmasına maruz bırakılan *Pinus* türlerinde bakır ve nikelin gelişmeyi azalttığı (Nieminen ve diğ., 1998) gözlenmiştir. Mangan *Glycine wightii* bitkisinin gelişen genç yapraklarında şekil bozukluklarına, yaprak yüzeyinde nekrotik bölgelerin oluşmasına, özellikle yaprak yüzeyinin üst kısmındaki orta ve yan damarların sertleşerek kahverengileşmesine ve nekrozise sebep olmuştur (Andrew ve Pieters, 1976). Bu metal katyonu ayrıca tropikal baklagillerin genç yapraklarında baştan başa sararma ve uçlarda nekrozis (Holmes ve Coorts, 1980), *Glycine max* ve

Gossypium' da yaprak buruşukluğu, *Nicotiana tabacum* yapraklarında ise nekrozis ve klorozis meydana getirmiştir (Mukhopadhyay ve Sharma, 1991). Mung fasulyesinde kobalt toksitliğinin belirtileri genç yapraklarda klorozis ile beyaz yaprak uçları ve ayrıca kök uçlarında zararlar şeklinde olmuştur (Kabata-Pendias ve Pendias, 1991).

207 µg PbL⁻¹ uygulanan *Hordeum vulgare* ve *Zea mays* bitkilerinin kök/gövde oranları kontrol bitkilerine göre azalmıştır (Stiborova ve diğ., 1986b,c). Çeşitli ağır metallere (Se,Cd, Pb, Cu ve Zn) maruz bırakılan *Sorghum bicolor* L. bitkisinde çimlenmenin azaldığı, kök ve gövde gelişiminin engellendiği tespit edilmiştir (Pandit ve Prasannakumar, 1999). Toksik seviyedeki Al, Pb, Cu, Mn, Zn, Cd ve Cr'un çok kısa lateral kök oluşumuna ve bunun sonucu kompakt bir kök sisteminin meydana gelmesine neden oldukları belirtilmiştir (Breckle, 1989).

Metal etkisi ile kök tüyü yoğunluğunun azaldığı rapor edilmiştir (Breckle, 1989). Bakır uygulanan *Euphorbia hirta* bitkisinde kök tüylerinin kontrol bitkilerine göre %28 azaldığı bildirilmiştir (Nedelskoska ve Doran, 2000). Metal stresi sonucunda kök tüylerinin azalması topraktan su ve besin maddelerinin alınmasını engeller ve bitki-su ilişkisini etkiler. Metal stresindeki bitkilerde su alınmasını sadece kök sistemi boyutunun azalması değil, aynı zamanda kök içindeki su akış direncinin de etkili olduğu bildirilmiştir (Barcelo ve Poschenrieder, 1990).

Çinko ve kurşun köklerde lignifikasyonun artmasına sebep olmuştur (Paivöke,1983). Alüminyum, krom, kurşun ve arsenik kökün anatomik yapısını etkilemiş; endodermis, hipodermis ve perisikl yapılarını değiştirmiş, kortikal hücrelerin plazmolizine yol açmıştır (Matsumoto ve diğ., 1976; Vazquez ve diğ., 1987; Paivöke , 1983). Nikel ve bakır uygulaması bitkide fenolik bileşik sentezini artırmış ve bunun sonucu olarak epiderma tabakasında kalınlaşmalar görülmüş, bitkide su alımı engellenmiş ve solgunluk belirtileri ortaya çıkmıştır (Kukkola ve diğ., 2000).

Ağır metallerin bitkilerdeki iletim demetlerini etkilediği hususunda çeşitli raporlar mevcuttur. Farklı bitki türlerine toksik konsantrasyonlarda kadmiyum (Lamoreaux ve Chaney, 1977; Barcelo ve diğ., 1988), çinko (Paivöke, 1983; Robb ve diğ., 1980), alüminyum (Bennet ve diğ., 1985) ve krom (Vazquez ve diğ., 1987) uygulanmasıyla iletim demeti çapının azaldığı görülmüştür. 44,5 µM kadmiyuma maruz bırakılan *Phaseolus vulgaris* bitkilerinde iletim demetlerinin çapları küçülmüş ve sayıları azalmıştır (Barcelo ve Poschenrieder, 1990). Kadmiyum uygulanan *Phaseolus*

vulgaris bitkilerinde prokambiyum ve kambiyumda hücre bölünmesinin engellenmesi sonucu damar çapının küçüldüğü ve sayısının azaldığı bildirilmiştir (Schnabl ve Ziegler, 1974). Toksik konsantrasyonlardaki çinko ve kadmiyumun bitki iletim demetlerinin hücre duvarında lignin ve fenolik bileşik birikimine yol açarak damar çapını daralttığı rapor edilmiştir (Fuhrer, 1982). Damar çapındaki küçülmelerin sıvıların akışını azalttığı ileri sürülmüştür (Lamoreaux ve Chaney, 1977; Barcelo ve diğ., 1988).

Ağır metallerin çeşitli bitki hücrelerinde gerek tohum ve gerekse polen çimlenmesini önemli oranlarda etkilediği çok sayıda çalışmayla ortaya çıkarılmıştır. Mesale *Lolium perenne* tohumlarına Cd uygulanmış ve tohum çimlenmesinin engellendiği görülmüştür (Wong ve Bradshaw, 1982; Scherbatskoy ve diğ., 1987). *Betula pendula* ve *B. verrucosa* tohumları $10^4 \mu\text{g ZnL}^{-1}$ maruz bırakıldığında sadece tohum çimlenmesinin değil, hipokotil ve radikula büyümesinin de engellendiği bildirilmiştir (Brown ve Wilkins, 1986). Bakır, civa ve kadmiyumun 10-100 mg/L, çinkonun ise 50-200 mg/L arasındaki konsantrasyonları ile muamele edilen *Lens esculenta* L. tohumlarında, yüksek konsantrasyonlarda çimlenme kademeli bir şekilde azalma göstermiştir (Ayaz ve Kadioğlu, 1997). %0,05 lik MnSO_4 *Lycopersicum esculentum* tohumlarında (Foy, 1984) 10,000 mg/kg Mn *Pisum sativum* tohumlarında (Mukhopadhyay ve Sharma, 1990), ağır metal içerdiği bilinen egzoz gazları *Triticum aestivum* ve *Cucumis sativus* tohumlarında (Munzuroğlu ve Baltepe, 1993) çimlenmeyi azaltmış veya tamamen durdurmuştur. *Oryza sativa*'nın iki farklı kültür formunda (Ratna ve IR36) civa ve kurşun muamelesi çimlenme yüzdesi ve çimlenme indeksini azaltmıştır (Mishra ve Choudhuri, 1999). 15 bitki türüne ait toplam 34 tip tohumda kurşunun $10,000 \text{ mg dm}^{-3}$ gibi yüksek konsantrasyonlarının çimlenmeyi belirli oranlarda engellediği gözlenmiştir (Wierzbicka ve Obidzinska, 1998). *Phaseolus vulgaris* bitkisinde krom ve kobaltın yüksek konsantrasyonlarda çimlenmeyi azalttığı belirlenmiştir (Zeid, 2001).

Ağır metallerin kalıtım materyalleri üzerinde de çeşitli olumsuz etkiler yaptığına dair bulgular mevcuttur. Nikelin yüksek konsantrasyonlarda nükleustaki eukromatin ile heterokromatin oranında değişikliklere sebep olduğu bildirilmiştir (Burca, ve diğ.,

1984). *Allium cepa* da sülfat formunda uygulanan manganın kromatin materyali ve hücresel zarları da içine alan narkotik ve subnarkotik etkilerinin yanı sıra, farklı bitki hücrelerinde kromozomal abberasyonlara yol açtığı anlaşılmıştır (Joardar, 1988).

Ağır metallerin enzimler üzerindeki etkileri çok sayıda çalışmayla ortaya çıkarılmıştır. Mesela *Pisum sativum*'a kadmiyum uygulanmasıyla glikolizis ve pentoz fosfat yolundaki enzimlerin (Alkol dehidrogenaz, heksokinaz, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz ve 6- fosfoglukonat dehidrogenaz) engellendiği bildirilmiştir (Chugh ve Sawheney, 1999). Fosfataz ve ribonükleaz aktivitesi üzerinde ağır metallerin etkisi olduğu bildirilmiştir (Agarwala ve Diğ., 1977; Malhotra ve Khan, 1980). *Pisum sativum*'a 650 µg ZnL⁻¹ uygulandığında kotiledonlardaki asit fosfotaz aktivitesinin önemli derecede etkilendiği rapor edilmiştir (Paivöke, 1983). Yine kadmiyumun (100-151µg CdL⁻¹) fosfataz, ribonükleaz, deoksiribonükleaz gibi hidrolitik enzimlerin aktivitesini engellediği, peroksidaz aktivitesini arttırdığı ve bunun sonucu olarak bitkide erken yaşlanmaya sebebiyet verdiği rapor edilmiştir (Lee ve diğ., 1976b).

Bitkilerdeki metabolik olayların başında fotosentez gelir. Fotosentetik ölçümler sonucu CO₂ fiksasyonunun ağır metaller tarafından etkilendiği bilinmektedir (Weigel, 1985; Becerril ve diğ., 1988; Sheoran ve diğ., 1990; Moya ve diğ., 1993). C₄ bitkilerinde fotosentezin anahtar enzimi olan fosfoenolpirüvat karboksilaz (PEPC) ve C₃ bitkilerinde ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz (RuBPC) aktivitesinin 64µg Cu L⁻¹ tarafından engellendiği rapor edilmiştir (Stiborova ve diğ., 1986a, c). Ağır metallerin bu enzimlerin sülfidril grubuna bağlanmak suretiyle aktivitelerini azalttıkları anlaşılmıştır (Stiborova ve diğ., 1986a, c). Uzun süre kadmiyum uygulanması ile CO₂ alımı kapasitesinin düştüğü, bunun ise fotosentetik ünitelerin (kloroplast, klorofil) azalmasıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Greger ve Ogren, 1991). Yine kadmiyumun stomaları kapatmak suretiyle fotosentezi engellediği (Lamoreaux ve Chaney, 1978; Schlegel ve diğ., 1987), RuBP karboksilaz/oksijenaz aktivitesini değiştirdiği, enzim inhibisyonu yoluyla malat seviyesini azalttığı, bu azalışın pirüvat < fosfoenal pirüvat < oksalat < malat şeklinde olduğu rapor edilmiştir (Weigel, 1985). Kadmiyum tarafından fotofosforilasyonun engellenmesi, elektron taşınımının ve proton gradientlerinin tilakoid membranlarda engellendiği kloroplastların izole edilmesi ile ortaya çıkarılmıştır (Lucero ve diğ., 1976).

Civanın CO₂ fiksasyonunu engellediği, hem ışık hem de karanlık reaksiyonlarını etkilediği ve özellikle de fotosistem I (PS-I)'i engelleyerek (Golbeck ve diğ., 1977; Kojima ve diğ., 1987) ferrodoksin-NADP-oksidoredüktaza zarar verdiği bildirilmiştir (Honeycutt ve Krogmann, 1972). Ağır metallerle yapılan bu tip çalışmalar sonucu PS-II aktivitesinin azaldığı (Singh ve diğ., 1989), PS-II' nin PS-I'den daha fazla etkilendiği bildirilmiştir (Stobart, 1985; Skorzynska ve diğ., 1995). Mesela 6 gün süreyle 0,1 mM Cd uygulanan *Pisum sativum* fidelerinde PS-I'in hemen hemen etkilenmediği, fakat PS-II'nin aktivitesinde %46 azalma oluğu tespit edilmiştir (Chugh ve Sawheney, 1999). Bakırın hem devresel hem de devresel olmayan fotofosforilasyonu etkilediği bildirilmiştir (Uribe ve Stark, 1982). *Pisum sativum*'a 5 mM Cd 6 gün boyunca uygulandığında fotosentez oranının %30, 12 gün uygulandığında %42 azaldığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan yapraklardaki klorozisin de bu olayla ilgili olduğu anlaşılmıştır. Yapılan araştırmalarda metal etkisi ile yaprak gelişiminin ve klorofil içeriğinin azaldığı gösterilmiştir (Baszynski ve diğ., 1980; Padmaja ve diğ., 1990; Skorzynska ve diğ., 1995). Bununla birlikte fotosentetik aktivite oranı klorofil içeriğinden daha fazla etkilenmektedir. Mesela 5 mM Cd uygulanan *Pisum sativum* fidelerinin fotosentez oranında %42, klorofil içeriğinde %15 azalma olduğu bildirilmiştir (Chugh ve Sawheney, 1999).

Ağır metallerin kloroplastlar üzerindeki etkileri de oldukça önemlidir (Matilde ve diğ., 1995). Özellikle tilakoid membran yapısını bozmaları ışık reaksiyonlarında, klorofil miktarında ve O₂ oluşumunda azalmayla sonuçlanır (Rascio ve diğ., 1993). Lipit peroksidasyonunun artması ile bu olayların meydana gelme oranı arasında pozitif bir korelasyon olduğu ileri sürülmüştür (Sandmann ve Böger, 1980). Ağır metallerin tilakoid membran sistemini ve lipitlerin yapısını bozmaları, etilen biyosentezini teşvik ederek kloroplastlarda yaşlanmaya yol açar (Fuhrer, 1982; Pennazio ve Roggero, 1992). *Lycopersicum esculentum* bitkisine kadmiyum uygulanması ile (Baszynski ve diğ., 1980) kloroplastlarda yaşlanma ve grana tilakoid membranlarındaki yağ asitlerinin serbest kalması sonucu PS-II' nin engellendiği rapor edilmiştir (Baszynski, 1986).

Ağır metaller bitkinin klorofil içeriğini de önemli oranlarda etkiler. Klorofil sentezinin kadmiyum tarafından engellendiği *Lycopersicum esculentum* (Baszynski ve

diğ., 1980) ve *Beta vulgaris*'de (Greger ve Ogren, 1991) gösterilmiştir. 250 μ M Cd'un *Zea mays* bitkisinin kloroplastlarında hasar meydana getirdiği, klorofil miktarını ve O₂ oluşumunu azalttığı tespit edilmiştir (Rascio ve diğ., 1993). Metal etkisi ile klorofil a/b oranının azaldığı, stroma (Fotosistem I ve klorofil a) ve grana lamellerinde yapısal bozuklukların meydana geldiği (PS-II) tespit edilmiştir (Chettri ve diğ., 1998). Cu, Co ve Cr uygulanan *Brassica oleracea* var. *botrytis* bitkilerinde klorofil a ve b miktarları kontrol bitkilerine göre azalmıştır (Chatterjee ve Chatterjee, 2000). Cu-Ni içeren topraklarda yetişen *Empetrum nigrum*'un klorofil miktarı kontrol bitkilerine göre azalma göstermiştir (Monni ve diğ., 2001).

Ağır metallerin transpirasyon üzerindeki etkileri metalin çeşidine, konsantrasyonuna, bitki türüne ve maruz kalma süresine bağlı olarak önemli farklılıklar gösterir. Mesela kadmiyumun *Phaseolus vulgaris*' de transpirasyon oranını artırdığı (Paul ve Foresta, 1981), fakat *Chrysanthemum morifolium*, *Picea abies*, *Acer saccharinum* ve *Fagus sylvatica*'da ise azalttığı (Kirkham, 1978; Schlegel ve diğ., 1987; Lamoreaux ve Chaney, 1978; Hagemeyer ve diğ., 1986) rapor edilmiştir. Transpirasyon oranındaki bu farklılıkların bitki türlerindeki kutikula membranlarının kompozisyonunun ve lipit içeriklerinin farklı olmasından (Johansson, 1985) kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Holloway, 1982; Hunt ve Baker, 1982). Mesela 0,09 mM Cd uygulanan *Chrysanthemum morifolium*'da transpirasyonun ve yaprak turgorunun arttığı, stoma direnci ve osmotik potansiyelin azaldığı görülmüştür (Paul ve Foresta, 1981). Çinko (Van Assche ve diğ., 1980) ve kadmiyum (Barcelo ve diğ., 1986) gibi toksik seviyelerdeki metallere maruz kalan *Phaseolus vulgaris* bitkisinde stoma yoğunluğunun arttığı, fakat transpirasyonun azaldığı bildirilmiştir. Farklı populasyonlarda bulunan *Lolium* ve *Trifolium* bitkilerine bakır uygulanması sonucu; Brabant populasyonunda bulunan *Lolium*'da transpirasyon oranının azaldığı, *Trifolium*'da arttığı, fakat Firesland populasyonunda bunun tam tersi bir durumun ortaya çıktığı görülmüştür (Dueck, 1986).

Çeşitli ağır metal iyonlarının solunumdaki elektron taşıma sistemini etkilediği ve enzimleri inaktif hale getirdiği bilinmektedir. *Pinus resinosa* polenlerinin çimlenmesi sırasında Cd 'un solunumu etkilemediği, fakat yüksek konsantrasyonlarda CO₂ çıkışını ve O₂ girişini azalttığı tespit edilmiştir (Strickland ve Chaney, 1979). *Vallisneria*

spinalis'de 0.6 ppm gibi düşük bakır konsantrasyonu bile solunumu kısmen de olsa engellemiştir (Fernandes ve Henriques, 1991). Bakıra maruz bırakılan *Pisum sativum* bitkisinde solunum %20-30 oranında azalmıştır (Matilde ve Sandman, 1988).

Karbohidrat ve azot metabolizmasına ağır metallerin olumsuz etkiler yaptığı hususunda çok sayıda bulgu mevcuttur. *Anacystis nidulans* mavi-yeşil alginde 0.3 ppm gibi çok düşük bakır konsantrasyonunun bile NO_3^- , NO_2^- ve NH_4^+ alımını ve NO_2^- 'in redüktaz aktivitesini engellediği görülmüştür (Larcher, 1995). *Silene vulgaris* de nitrat redüktaz ve fenol oksidaz aktivitesinin bakır tarafından engellendiği rapor edilmiştir (Fernandes ve Henriques, 1991). Kadmiyum ve yüksek konsantrasyonda çinkonun azot fiksasyonunu ve yumru gelişimini engellediği, kadmiyumun toksik etkisinin çok daha fazla olduğu bildirilmiştir (Fernandes ve Henriques, 1991). $2000 \mu\text{g PbL}^{-1}$ içeren ortamda gelişmeye bırakılan *Pisum sativum*'da nitrogenaz aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (Paivöke, 1983). *Picea abies* fidelerine $100 \mu\text{g CdL}^{-1}$ uygulandığında nitrat redüktaz aktivitesinin azaldığı rapor edilmiştir (Bergkvist, 1987). *Glycine max* çeşitli bakır konsantrasyonlarına ($1000-10000 \mu\text{gL}^{-1}$) maruz bırakıldığında leghemoglobin içeriğinin azaldığı, azot fiksasyonunun olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (Phalsson, 1989). Kadmiyum uygulanan bitkilerde NH_4 miktarının arttığı, bunun ise nitrogenaz aktivitesinin engellenmesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Huang ve diğ., 1974). Civa uygulanan *Bacopa monnieri* (L.) bitkisinde karbohidrat ve protein içeriği azalma göstermiştir (Sinha ve diğ., 1996). Ağır metal bakımından zengin topraklarda yetişen *Triticum aestivum* L. cv. Vergina bitkisinin, normal topraklarda yetişen buğdaylara göre daha az protein ve nişasta içerdiği tespit edilmiştir (Lanaras ve diğ., 1993). Bir siyanobakter olan *Anacystis nidulans* bakıra maruz bırakılmış ve bunun sonucu olarak sakkarit, RNA, DNA ve protein miktarı azalmıştır (Gupta, 1986). *Lemna minor*'a 8 gün çeşitli konsantrasyonlarda kadmiyum (0.5, 1.5 ve $10 \mu\text{M Cd}$) ve kurşun (0.25, 0.50, 0.75 ve 1 mM Pb) uygulanmış ve karbohidrat miktarının azaldığı görülmüştür (Mohan ve Hosetti, 1997). Bakır ve çinkoya maruz bırakılan *Scenedesmus acutus*'da toplam karbohidrat miktarı kontrole göre azalma göstermiştir (Abd-El Monem ve diğ., 1998). Kadmiyum şeker pancarında (*Beta vulgaris*) sukroz, glukoz, fruktoz ve nişasta içeriğini önemli miktarlarda azaltmış ve kök solunumu ile fotosentezi engellemiştir (Greger ve diğ., 1991). *Vigna unguiculata* L. var. *Pusa Falguni* tohumları kadmiyum ve civaya maruz bırakılmış, protein ve amino asit içeriklerinde azalma, prolinde ise artma tespit

edilmiştir (Nagoor, 1997). Kadmiyum, bakır ve çinko uygulanan *Silene vulgaris* bitkisi (Schat ve diğ., 1997 ile civa, bakır ve nikel uygulanan *Camellia sinensis* bitkisinde (Basak, ve diğ., 2001) prolin miktarı artış göstermiştir. Metal stresindeki bitkilerin prolin düzeylerini su dengelerini korumak maksadıyla artırdıkları ileri sürülmüştür.

Bitkilerde gerek vejetatif, gerekse reproduktif büyüme ve farklılaşma hormonların denetimi altında gerçekleşir. Bilindiği gibi bitki hormonlarının bir kısmı büyümeyi arttırıcı, bir kısmı da yavaşlatıcı etkilere sahiptir. Bitki büyümesi enzimlerin oluşmasına ve bu oluşumu kontrol eden nükleik asitlere sıkı bir bağımlılık gösterir. Bitkideki hormon oluşumu ise kısmen ortamın etkisi altındadır. Ortamın bitki üzerindeki etkilerinin bazıları da hormonlar vasıtasıyla ortaya çıkmaktadırlar. Mesela Absisik asitin (ABA) stres durumlarında arttığı ve bitkiye direnç sağladığı bilinmektedir. Ağır metallerin bitkiler üzerindeki etkileri konusunda çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, bu olayın hormonal yönüne dair araştırma sayısı yok denecek kadar azdır. Mesela kadmiyuma maruz kalan *Phaseolus vulgaris* yaprak su içeriğinin azaldığı, stoma direnci ile kök ve yapraklarda ABA seviyesinin arttığı belirtilmiştir (Poschenrieder ve diğ., 1989). Bakır ve nikel kirliliğinin ABA seviyesini artırdığı rapor edilmiştir (Monni ve diğ., 2001). Kobalt, nikel ve çinko stresi altındaki fasulye bitkilerinde ABA birikimi görülmüştür (Rauser ve Dumbroff, 1981).

Bilindiği gibi vitaminler çeşitli biyokimyasal işlemler için gerekli olan ve genellikle vücutta sentez edilmedikleri için diyetle alınması zorunlu olan besin maddeleridir. Özellikle yeşil bitkiler bu besinlerin ana kaynaklarıdır. Diyetle vitaminlerin yokluğu veya nispeten yetersiz oluşları çeşitli hastalıklara yol açmaktadır (Murray ve diğ., 1993). Son zamanlarda biyokimyasal ara ürünler ve stress sonucu oluşan serbest radikallerin bir çok hastalıklarla ilişkili olduğunun tespit edilmesi antioksidan vitaminlere karşı olan ilgiyi artırmıştır (Cheesman ve Slater, 1993; Longenstroer ve Pieper, 1992). Vitaminler antioksidan özellik gösteren önemli bileşiklerdir. Bu moleküller süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijeni gibi serbest radikallere bağlanarak onları etkisiz hale getirir. Kurşun ve civanın klor tuzu stresi altında çimlendirilen ve büyütülen iki pirinç kültüründe (Ranta ve IR 36) indirgenmiş glutatyon, sistein, askorbik asit ve α -tokoferol miktarının arttığı rapor edilmiştir (Mishra ve Choudhuri, 1998). 14 gün süreyle civanın çeşitli konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Bacopa monnieri* L. bitkisinde sistein, indirgenmiş

glutasyon ve askorbik asit içeriğinin arttığı bildirilmiştir (Sarita ve diğ., 1996). Ağır metaller dışındaki diğer bazı stres faktörlerinin bitkilerin antioksidant özellik gösteren vitamin içeriklerini arttırdığı hususunda bilgiler mevcuttur (Havaux ve Kloppstech, 2001).

Kirletici unsurlar arasında önemli bir yer tutan ağır metaller, başta bitkiler olmak üzere bütün canlılarda büyük tahribatlar meydana getirmiş ve getirmeye devam etmektedir. Ağır metal stresinin bitkilerdeki metabolik prosesleri nasıl etkilediğini açıklığa kavuşturmak, ayrıca bitkilerin bu kirleticilere karşı hangi tepkiler verdiğini ve hangi adaptif mekanizmalar geliştirdiğini belirlemek oldukça önemlidir. Problemin boyutu bu durumda daha iyi anlaşılabilir. Bu da alınacak önlemlerin ve gelecekle ilgili yapılacak planlamaların daha sağlıklı olmasını sağlar. Yukarıdaki literatür bilgilerinden de anlaşılacağı gibi ağır metallerin bitkilerdeki etkileri konusunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Fakat bu kirletici unsurun bitkilerdeki antioksidan bileşiklerin düzeyini ve bitki metabolizmasında büyük rolleri olan absisik asit ile sitokinin hormonlarının seviyesini nasıl etkilediği hususunda yeterli bilgi mevcut değildir.

Bu çalışmada fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerine klor tuzları şeklinde uygulanan kurşun, bakır, kadmiyum ve civa gibi ağır metal katyonlarının ($PbCl_2$, $CuCl_2$, $CdCl_2 \cdot H_2O$, $HgCl_2$) kök, gövde ve yaprak büyümesi; protein, klorofil ve karotenoid miktarları; A, E ve C vitaminleri gibi antioksidan bileşiklerin düzeyleri ve sitokinin ile ABA gibi hormonların seviyeleri üzerine olan etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca bu dört ağır metalin belirtilen parametreler açısından birbiriyle kıyası yapılarak toksiklik dereceleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu araştırmanın hem bu konuda yapılmış çalışmalara önemli katkılar sağlayacağı, hem de yeni çalışmaların planlanmasına ışık tutacağı kanaatindeyiz.

2. MATERYAL VE METOD

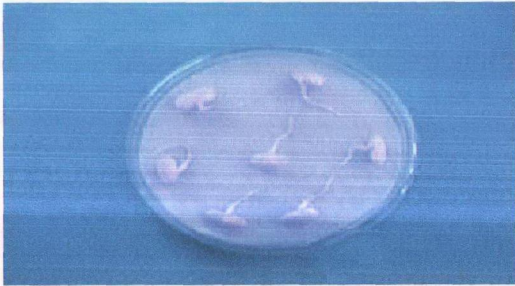
2.1. Materyalin Temini

Araştırmalarımızda bitkisel materyal olarak, dikotil bir bitki olan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fideleri kullanıldı. Fasulye tohumları, Elazığ Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitim ve Yerleştirme Şubesinden temin edildi.

Ağır metal olarak kurşun (Pb^{++}), bakır (Cu^{++}), kadmiyum (Cd^{++}) ve civa (Hg^{++})'nın klor tuzları ($PbCl_2$, $CuCl_2$, $CdCl_2.H_2O$ ve $HgCl_2$) kullanıldı. Ağır metaller ve kimyasal maddeler Merck firmasından sağlandı. Sitokinin biyotesti için kullanılan turp (*Raphanus sativus* L.) tohumları ise İstanbul Tohum Pazarından sağlandı.

2.2. Fidelerin Yetiştirilmesi ve Ağır Metal Uygulanması

Fidelerin yetiştirilmesi sırasında, ilk önce saptanacak parametrenin her bir ağır metal konsantrasyonu için 300 adet fasulye tohumu alındı ve 2 dakika süreyle 0.001 M $HgCl_2$ 'de bekletilerek steril edildi (Sresty ve Madhova, 1999). Daha sonra 15-20 dakika saf su ile yıkanan tohumlar 500 ml lik bir behere konularak üzerine 250 ml musluk suyu ilave edildi ve 24-25 °C lik karanlık ortamda 7 saat süreyle şişmeye bırakıldı. Bu sürenin sonunda şişme ortamından çıkarılan tohumlar, içerisine çift katlı filtre kağıdı döşenmiş ve 10 ml musluk suyu ile ıslatılmış 11 cm çapındaki petrilerin her birine 10'ar adet gelecek şekilde ekildi (Şekil 2.2.1).



Şekil 2.2.1. Çimlendirme aşamasında, tohum transplantasyonunun genel görünümü.

Ekimden hemen sonra kapağı kapatılan petriler 24-25 °C lik karanlık iklim dolabına kaldırılarak çimlenmeye bırakıldı. Bu arada içleri dere kumu ile doldurulan 13,5-14 cm çapında ve 13 cm derinliğinde plastik saksılar hazırlandı. Dere kumu saksılara aktarılmadan önce elendi, çeşme suyu ile yıkandı ve içerisinde HCl bulunan küvetlerde 2 gün süreyle bekletildi. Daha sonra iki defa çeşme suyu, 1 defa da saf su ile yıkandı ve 400 °C lik etüvde yakılarak, tüm organik maddelerden arındırıldı. Her bir ekim işleminde, önceki ekimden kalan kum birkaç defa çeşme suyu ve bir defa da saf su ile yıkandıktan sonra 150 °C de kurutuldu (Rovira, 1956). Etüve kaldırıldıktan yaklaşık 55 saat sonra, çimlenmiş ve radikula uzunlukları 2-2,5 cm ye ulaşmış tohumlardan bu saksılara ekim yapıldı. Ekim her bir saksıya 8 adet çimlenmiş tohum gelecek şekilde planlandı. Bundan sonra saksılar sera koşullarına alınarak fideler büyümeye bırakıldı (Şekil 2.2.2). Sera koşulları, ışık için 3500 lüks, sıcaklık için 24-25 °C, fotoperiyot 16 saat ışık, 8 saat karanlık (uzun gün) olacak şekilde düzenlendi.



Şekil 2.2.2. Sera ortamında büyütülen fasulye fidelerinin genel görünümü.

Bu koşullarda bekletilen her saksı gün aşırı 50 ml musluk suyu ile sulandı. Sera koşullarında büyümeye terk edilen bu fidelerden, tohumun ıslatılmasından itibaren başlayan zaman diliminin 5. gününde sağlıklı büyüme göstermeyenler elimine edildi. Bu seleksiyondan 2 gün sonra, yani bir haftalık olan homojen görünüme sahip fideler alınarak ağır metal çözeltilerine konuldu. Bu işlem için önce ağır metallerin (CuCl_2 ,

$\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, HgCl_2) stok konsantrasyonu (2 mM) hazırlandı. Bu stok çözeltilerden kadmiyum için; 0.05, 0.06 ve 0.08 mM, bakır için 0.1, 0.2 ve 0.3 mM, civa için 0.02, 0.04 ve 0.06 mM konsantrasyonlarında solüsyonlar hazırlandı. Kurşun için stok konsantrasyonu 20 mM olarak hazırlandı ve bundan seyreltme yoluyla 1.5, 2.0 ve 2.5 mM konsantrasyonlarında çözeltiler elde edildi. Stok çözeltilerden seyreltme işlemi hoagland besin çözeltisi kullanılarak yapıldı. Daha sonra 500 ml'lik alüminyum folyo ile kaplı kavanozlara her ağır metalin 3 konsantrasyonundan 200 ml (kontrol için hoagland solüsyonu) bırakıldı.

Yetiştirilen 7 günlük fasulye fideleri saksılardan alınarak kökleri musluk suyunda iyice yıkandı. Bu fidelerden her bir ağır metal konsantrasyonu için 10'ar adet (her kavanoza iki fide olacak şekilde) sünger kapaklar yardımıyla kavanozlara yerleştirildi (Şekil.2.2.3). 10 gün boyunca uzun gün şartlarında (gündüz 16 saat ve gece 8 saat) fideler gelişmeye bırakıldı. Bu süre içerisinde gün aşırı olacak şekilde fidelerin kök ve gövde boylarıyla yaprak alanları tespit edildi. Ayrıca 10 günlük sürenin sonunda pigment, protein, hormon ve vitamin analizleri gerçekleştirildi.



Şekil 2.2.3. Uygulamalarda hazırlanan kavanoz + fide düzeneği.

2.2.1. Fidelerde kök-gövde boyu ve yaprak alanının tespiti

2.2'de anlatıldığı gibi yetiştirilen bir haftalık fasulye fidelerinin her biri işaretlendikten ve kök, gövde uzunluklarıyla yaprak alanlarına ait ilk ölçümler alındıktan sonra kavanozlardaki solüsyonlara zedelenmeden yerleştirildi. Fidelerin kök ve gövde uzunlukları milimetrik bir cetvel yardımıyla, yaprak alanları ise Munzuroğlu (1999) da anlatılan yöntemle belirlendi. 10 gün boyunca koşulları yukarıda belirtilen serada büyümeye bırakılan fidelerin bu üç özelliği gün aşırı belirlenerek sonuçlar kaydedildi. Her bir ağır metal konsantrasyonu için toplam 20 adet fide kullanıldı.

2.2.2. Fidelerde pigment analizi

Fidelerin klorofil a, klorofil b, karotenoid, total pigment I ve total pigment II miktarları aşağıdaki metoda (Witham ve diğ., 1971) göre belirlendi.

Ağır metal + Hoagland solüsyonlarında büyümeye bırakılmış her bir fidenin primer yapraklarından 1 gram taze doku alındı. Steril bir havanda küçük parçalara ayrılan bu 1 gram taze yaprak dokusu 40 ml %80 lik asetonla 3-4 dakika ezildi ve yeşil renkli bir ekstre elde edildi. Daha sonra bu ekstre Buchner hunisi ile vakumlanarak süzüldü. Geri kalan tortu 30 ml %80 lik aseton ile tekrar ezildi. Ezme işlemi tortunun rengi tamamen beyazlaşınca kadar sürdürüldü ve Buchner hunisi ile tekrar süzülerek süzüntüler birleştirildi. Geriye kalan renksiz tortu %80 lik asetonla, toplam süzüntünün son hacmi 100 ml oluncaya kadar yıkandı. Her bir ağır metal konsantrasyonu için ayrı ayrı olacak şekilde toplam 20 adet fide kullanıldı. Bütün bu işlemler kontrol, bakır, civa, kurşun ve kadmiyum konsantrasyonlarının her biri için ayrı ayrı yapıldı.

Daha sonra CE-5502 Scanning Double Beam UV spektro fotometrede bu ekstraktların 440, 645, 652 ve 663 nm dalga boylarında ayrı ayrı absorbansları (optik yoğunlukları) köre (%80 lik asetona) karşı okundu. Absorbans tayinlerinde 1 cm³ hacmindeki kuarz tüpler kullanıldı. Elde edilen absorbans değerleri aşağıda belirtilen formüllerde yerlerine konularak klorofil a, klorofil b, karotenoid, total pigment I ve total pigment II miktarları tayin edildi (Witham ve diğ., 1971).

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = [12,7 (D_{663}) - 2,69 (D_{645})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = [22,9 (D_{645}) - 4,68 (D_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Karotenoidler (mg/g)} = [4,69 (D_{440}) - (\text{klorofil a} + \text{klorofil b}) \times 0,286] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

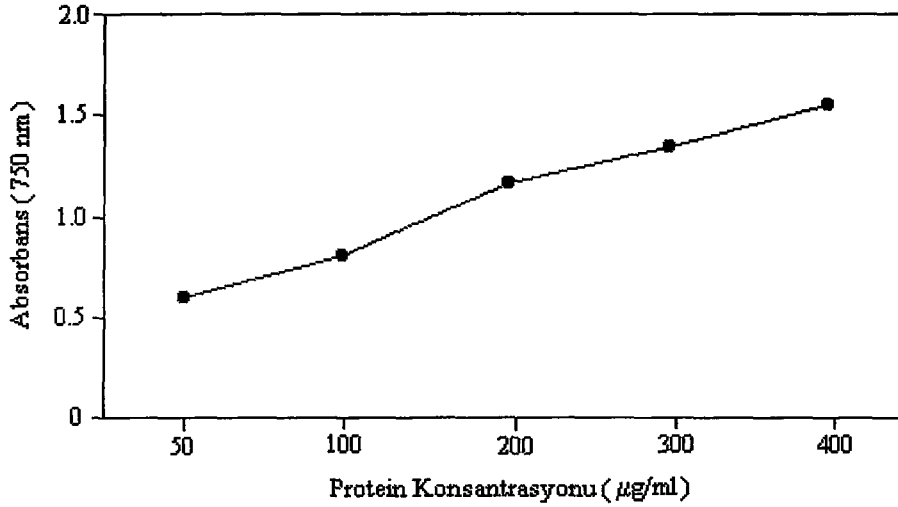
$$\text{Doku başına total klorofil miktarı I (mg/g)} = [20,2 (D_{645}) + 8,02 (D_{663})] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

$$\text{Doku başına total klorofil miktarı II (mg/g)} = [\frac{D_{652} \times 1000}{34,5}] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

2.2.3. Fidelerde protein analizi

2.2.3.1. Protein standart eğrisinin çizimi

Total protein miktarının saptanmasında Lowry metodu (1951) kullanıldı. Bu amaçla bir standart protein eğrisi çizildi. Standart protein eğrisinin çiziminde ilk olarak Sigma Diagnostics'ten temin edilen 400 µg/ml konsantrasyonundaki sığır serum albümini stok proteininden 50, 100, 200 ve 300 µg/ml lik konsantrasyonlar hazırlandı. Daha sonra 5 deney tüpü alınarak, her deney tüpüne hazırlanan bu farklı protein konsantrasyonlarından 1ml konuldu. Son tüpe ise aynı hacimde saf su bırakıldı (kör). Bundan sonra bütün tüplere stokun DOC (deoksilat) solüsyonundan 0.1 ml eklendi ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Bu sürenin bitiminde, her tüpe yine stokun orijinal TCA (triklor asetik asit) solüsyonundan 0.1 ml ilave edilerek 5-10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra sıvı kısım atıldı, çöken kısım 1ml Lowry reagent solüsyonuyla çözüldü ve ayrı bir deney tüpüne aktarıldı. Bu arada santrifüj tüpü 1ml saf su ile yıkanarak deney tüpündeki çözeltiye eklendi. Daha sonra bu deney tüpleri oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda her deney tüpüne stokun orijinal folin-ciocalteus fenol reaktifinden 0.5 ml ilave edildi ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Bu şekilde hazırlanan örneklerin absorbanları, CE-5502 Scanning Double Beam UV Spektrofotometrede 750 nm de köre karşı okundu. Spektrofotometrede okunan absorban değerleri kullanılarak Şekil 2.2.3.1.1 deki standart eğri çizildi.



Şekil 2.2.3.1.1. Protein analizinde kullanılan standart eğri.

2.2.3.2. Fidelerde protein ekstraksiyonu ve tespiti

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerinden protein ekstraksiyonu Ross (1974) da anlatılan Larson ve Beevers (1965) metoduna göre yapıldı. Bunun için 2.2. de anlatıldığı gibi yetiştirilen ve 10 gün boyunca ağır metal + Hoagland solüsyonlarında büyümeye bırakılan fideler kullanıldı.

İlk olarak kadmiyumun ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) farklı konsantrasyonlarında (0.05, 0.06, 0.08 mM) büyümeye bırakılan her bir fidenin son yaş ağırlığı tespit edildi ve steril bir makasla küçük parçalara bölünerek homojenizatöre konuldu. Bundan sonra üzerine 100 ml 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH=7.5) eklenerek, 4 dakika süreyle homojenize edildi. Bu sürenin bitiminde, oluşan ekstrakt Buchner hunisiyle süzüldü. Daha sonra homojenizatör 40 ml 50 mM tamponla yıkanarak tekrar 30 sn homojenize edildi ve süzüldü. Süzüntüler toplamı 250 ml lik bir mezüre aktarıldı ve saf su ile hacmi 150 ml ye tamamlandı. Bundan sonra 15 ml lik santrifüj tüpü alınarak, içine bu süzüntüden 10 ml konuldu ve 10 dakika buz banyosunda tutuldu. Sonra tüpün üzerine %20 lik TCA dan 3.3 ml ilave edildi ve tekrar 10 dakika süreyle buz banyosunda bekletildi. Bu sürenin bitiminde buz banyosundan çıkarılan tüpler 2000 gravitede 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstte kalan sıvı kısım atıldı. Altta kalan çökeltiye 5 ml 0.1 N NaOH ilave edildi ve 10 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Daha sonra bu

ekstraktan 1 ml alınarak deney tüpüne konuldu ve 2.2.3.1 de anlatılan Lowry metodu ile protein analizi yapıldı. Bu işlemi takiben, örneğin absorbansı CE-5502 Scanning Double Beam UV spektrofotometrede ve 750 nm de köre (saf su) karşı okundu. Spektrometrede okunan absorbans değeri grafikte yerine konularak, buna karşılık gelen protein konsantrasyonu mg/g cinsinden tespit edildi. Her bir ağır metal konsantrasyonu için ayrı ayrı olacak şekilde toplam 20 adet fide kullanıldı. Buraya kadar anlatılan işlemlerin tamamı kontrol, bakır (Cu), kurşun (Pb) ve civa (Hg) konsantrasyonları için de yapıldı. Fide ekstraktının 150 ml'sindeki yaş dokunun gramı başına protein miktarı şu formülle hesaplandı.

$$\text{Dok.Yaş.Ağır.Gr.Baş.Prot.Mik.(mg/g)} = \frac{\text{Grafikte bulunan protein miktarı (mg)} \times 5 \times 150 \times (1)}{\text{Fidenin Toplam Ağırlığı} \times 10}$$

Formülde;

150: başlangıçtaki toplam süzüntü miktarını (ml),

5: kullanılan 0.1 N NaOH miktarını (ml),

10: 150 ml lik toplam süzüntüden kullanılan çözeltinin hacmini

1: sulandırma katsayısını belirtmektedir.

2.2.4. Fidelerde Hormon Ekstraksiyonu ve Tayini

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fidelerinin hormon (Absisik asit ve sitokinin) düzeylerini tespit etmek maksadıyla, ilk önce kullanılacak fideler yetiştirildi. 2.2. de anlatıldığı gibi yetiştirilen fideler 10 gün boyunca ağır metal (Cu, Pb, Hg ve Cd) + Hoagland solüsyonlarında büyümeye bırakıldı. Daha sonra bu fidelerin her birinden sitokinin ve ABA ekstraksiyonu yapıldı. ABA ve sitokinin ekstraksiyonunda Cobat (1986) da anlatılan yöntemin aşağıdaki gibi modifikasyona uğratılmış şekli kullanıldı.

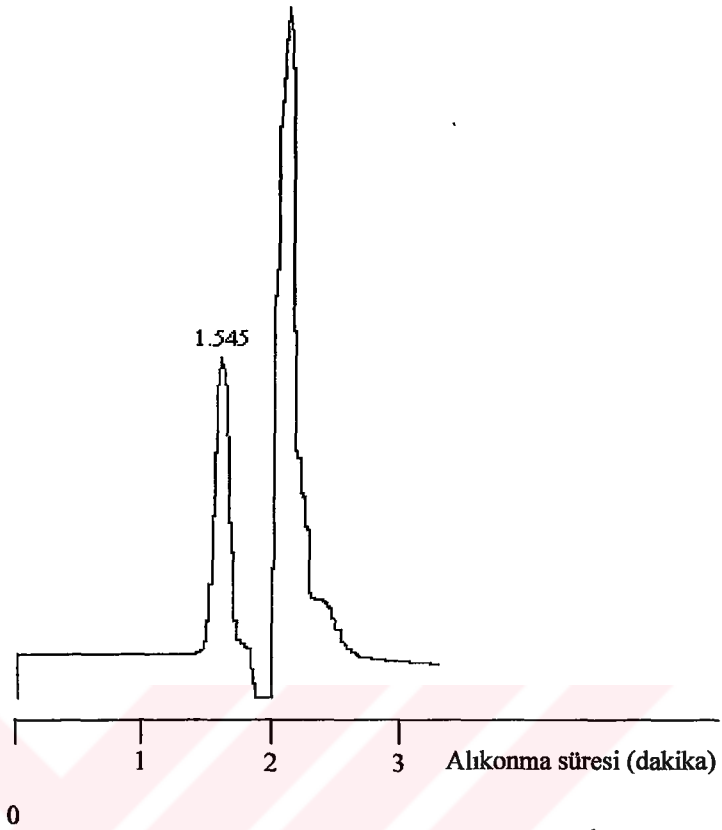
İlk olarak kadmiyumun farklı konsantrasyonlarında (0.05mM, 0.06mM ve 0.08mM) 10 gün boyunca büyütülen fideler ayrı ayrı alınarak bir makasla küçük parçalara bölündü ve homojenizatöre konuldu. Üzerine %90 lık 100 ml metanol ve antioksidan olarak 20 mg butilated hidroksi toluenden (BHT) eklendi ve 2 dakika homojenize edildi. Daha sonra bu ekstrakt 12 saat süreyle 4 °C de buzdolabında bekletildi. Whatman no 1 filtre kağıdı kullanılarak Buchner hunisi ile süzüldü. Süzüntü

35 °C de rotavaporda su fazına kadar uçuruldu. Su fazının pH'sı 6N NaOH ile 8'e ayarlandı ve ayırma hunisinde 3x50 ml etil asetat ile çalkalanarak bazik ve nötr maddelerin etil asetat fazına geçmesi sağlandı. Bazik ve nötr maddeleri içeren etil asetat fazları bir kaptan toplanarak sitokinin biyotesti için, geriye kalan su fazı ise absisik asit (ABA) tayini için kullanıldı. Her bir ağır metal konsantrasyonu için ayrı ayrı olacak şekilde toplam 20 adet fide kullanıldı. Buraya kadar anlatılan işlemlerin tamamı kontrol, bakır (Cu), kurşun (Pb) ve civa (Hg) konsantrasyonları için de yapıldı.

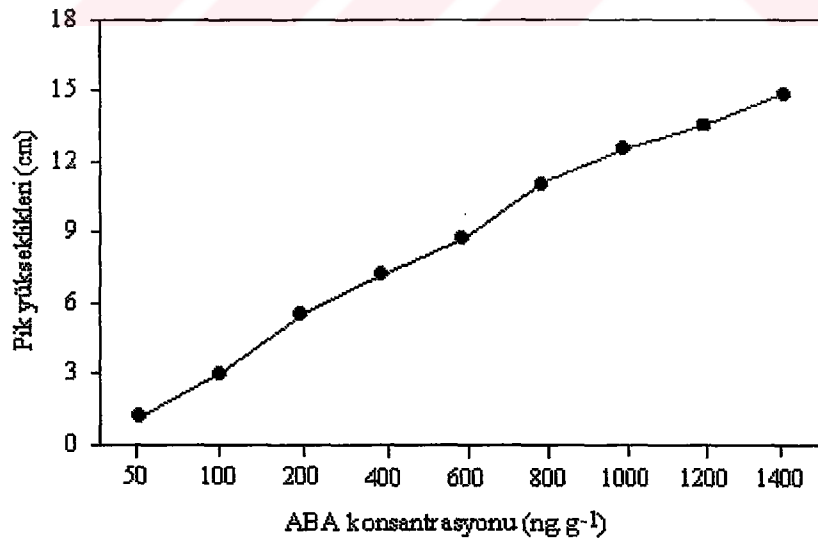
2.2.4.1. ABA Ekstraksiyonu ve Tayini

Her bir fideden 2.2.4.'de anlatıldığı gibi elde edilen su fazının pH' ı 6N HCl ile 2,5' a ayarlandı ve ayırma hunisinde 3x50 ml etil asetat ile çalkalandı. Böylece asidik maddelerin etil asetat fazına geçmesi sağlandı. Daha sonra su fazı atılarak, geriye kalan etil asetat fazı 35 °C de düşük basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu ve kalıntı 2 ml metil kloridle (CH_2Cl) alındı. Bu şekilde elde edilen 2 ml'lik metil klorid ekstresi ABA tayininde kullanıldı.

HPLC çalışmasında CECİL 1100 serisi HPLC cihazı, UV dedektörü ve ODS-1 kolonu kullanıldı. İlk olarak standart ABA (HPLC standardı)'nın kromatogramı elde edildi (Şekil 2.2.4.1.1). Burada mobil faz olarak metanol kullanıldı ve akış hızı 1.5 ml/dak⁻¹ olarak belirlendi. Standart ABA'ya ait piki ve dolayısıyla alı konma süresini belirlemek için, değişik konsantrasyonlardaki ABA çözeltileri hazırlandı. Standart ABA konsantrasyonlarının her birinden 20'şer µl enjekte edilerek 254 nm dalga (Cabot ve diğ., 1986) boyunda absorpsanları okundu. Çalışmanın bu kısmı çok sayıda tekrarlanarak standart ABA'nın belirtilen koşullarda alı konma süresi kesin bir şekilde belirlendi. Bundan sonra standart ABA'nın 50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400 metil kloridli çözeltileri hazırlandı ve her birinden 20'şer µl enjekte edilerek konsantrasyona karşı pik yükseklikleri alındı. Bunlardan elde edilen veriler yardımıyla fidedeki endogen ABA miktarının tespitinde kullanılacak konsantrasyona karşı pik yüksekliği grafiği çizildi (Şekil 2.2.4.1.2).



Şekil 2.2.4.1.1. ABA standartına ait kromatogram. Mobil faz: Metanol. Akış hızı: 1,5 ml. dk⁻¹. Dalga boyu: 254 nm. ODS1 kolonu. UV dedektörü.



Şekil 2.2.4.1.2. ABA standartlarının kromatogramlarına ait pik yüksekliklerinden elde edilen standart eğri.

Bütün bu işlemlerden sonra, her bir fideden elde edilen 2 ml'lik metil klorid ekstreleri ABA tayininde kullanıldı. Bu amaçla ekstrelerin herbirinden 20'şer µl HPLC'ye enjekte edildi ve belirtilen şartlarda pik yükseklikleri belirlendi. Bundan sonra çalışma grafiği kullanılarak bu pik yüksekliklerine karşı gelen ABA miktarları tespit edildi.

2.2.4.2. Sitokinin ekstraksiyonu ve biyotesti

2.2.4.'de anlatıldığı gibi elde edilen her bir fidenin etil asetat fazı rotavaporda 35 °C'de su fazına kadar uçuruldu. Su fazını pH'ı seyreltik NaOH ile 7'ye ayarlandı ve hacmi saf su ile 10 ml'ye tamamlandı. Bu 10 ml'lik su fazlarının içerdiği sitokinin grubu maddelerin belirlenmesinde Letham (1971)'ın aşağıdaki gibi modifiye edilmiş turp kotiledonu genişleme biyotesti kullanıldı.

Turp (*Raphanus sativus* L.) tohumları musluk suyunda 4 saat süreyle ıslatıldı. Sonra bu tohumlar ıslak pamuk üzerine ekilerek 24 °C'lik karanlık ortamda 92 saat süreyle çimlenmeye ve gelişmeye bırakıldı. Bu süre sonunda gelişen fideler arasında homojenite bakımından seleksiyon yapıldı. Bu fidelerden 4-4.5 cm boyuna gelmiş olanların kotiledon yaprakları kullanıldı. Bu arada 11 cm çapındaki petrilere her birine, ağırlıkları eşit olacak şekilde çift katlı filtre kağıtları yerleştirildi.

Sonra her bir fideden elde edilen ve son hacimleri saf suyla 10 ml ye tamamlanan su fazları bu petrilere ayrı ayrı döküldü. Bu arada kalibrasyon için saf suda hazırlanmış değişik konsantrasyonlardaki kinetin çözeltileri yine aynı şekilde petrilere içindeki filtre kağıtlarının üzerine dökülerek test sistemleri hazırlandı. Daha sonra her bir petriye teker teker tartılmak suretiyle 10'ar kotiledon adaksial yüzleri filtre kağıdındaki çözelti ile temas edecek şekilde yerleştirildi. Kotiledonlar, belli bir plan dahilinde petrilere yerleştirilerek hangi kotiledonun nereye konulduğu kolayca belirlenebildi. Daha sonra bütün petrilere kapakları kapatıldı ve 23-24 °C'lik ortamda 500 lüks ışık şiddetinde devamlı floresans ışığı altında 60 saat süreyle bekletildi. Bu sürenin sonunda petri kutularından birer birer çıkarılan kotiledonların yüzeyindeki su bir kurutma kağıdına emdirildikten sonra son ağırlıkları tespit edildi. Her bir kotiledonun ilk ve son ağırlıkları göz önüne alınarak, ağırlık artışları yüzde olarak belirlendi.

2.2.5. Vitamin Ekstraksiyonu ve Tayini

2.2.5.1. C vitamini ekstraksiyonu ve tayini

2.2. de anlatıldığı gibi yetiştirilen ve 10 gün boyunca sera koşullarında büyütülen kontrol grubu fidelerinin her birinden 0.5 g taze yaprak dokusu alınarak, üzerine 0.3 ml 0.5 M HClO₄ ilave edildi ve doku iyice ezilerek proteinleri çöktürüldü. Bu karışım vortekslenerek son hacmi deiyonize su ilavesiyle 1 ml'ye tamamlandı ve 5 dakika süreyle 4500 devirde santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstteki berrak kısım dikkatlice otomatik pipet yardımıyla alınarak ayrı bir tüpe boşaltıldı ve bu ekstreden C vitamini tayin edildi (Cerhata ve diğ., 1994). Burada kontrol ve her bir ağır metal konsantrasyonu için ayrı ayrı olacak şekilde 20'şer adet fide kullanıldı. Bu arada geri kazanım için kontrol fidesinin taze yaprak dokusundan 0.5 g alınarak yukarıda anlatılan işlemler yapıldı. Karışıma deiyonize su ilavesi yapılmadan önce, son hacminin standart C vitamini konsantrasyonu belli olacak şekilde, C vitamini standardı ilave edildi ve son hacmi deiyonize suyla 1 ml'ye tamamlandı ve 5 dakika süreyle 4500 devirde santrifüj edildi. Bu süre sonunda üstteki berrak kısım dikkatlice alınarak ayrı bir tüpe boşaltıldı. Ayrıca geri kazanım için elde edilen ekstrenin konsantrasyonu aynı olacak şekilde C vitamini standart konsantrasyonu hazırlandı. Daha sonra normal ekstre (standart ilave edilmeyen), ekstre+C vitamini standardı ve C vitamini standardından elde edilen sonuçlar aşağıdaki formülde yerlerine konularak % geri kazanım hesaplandı.

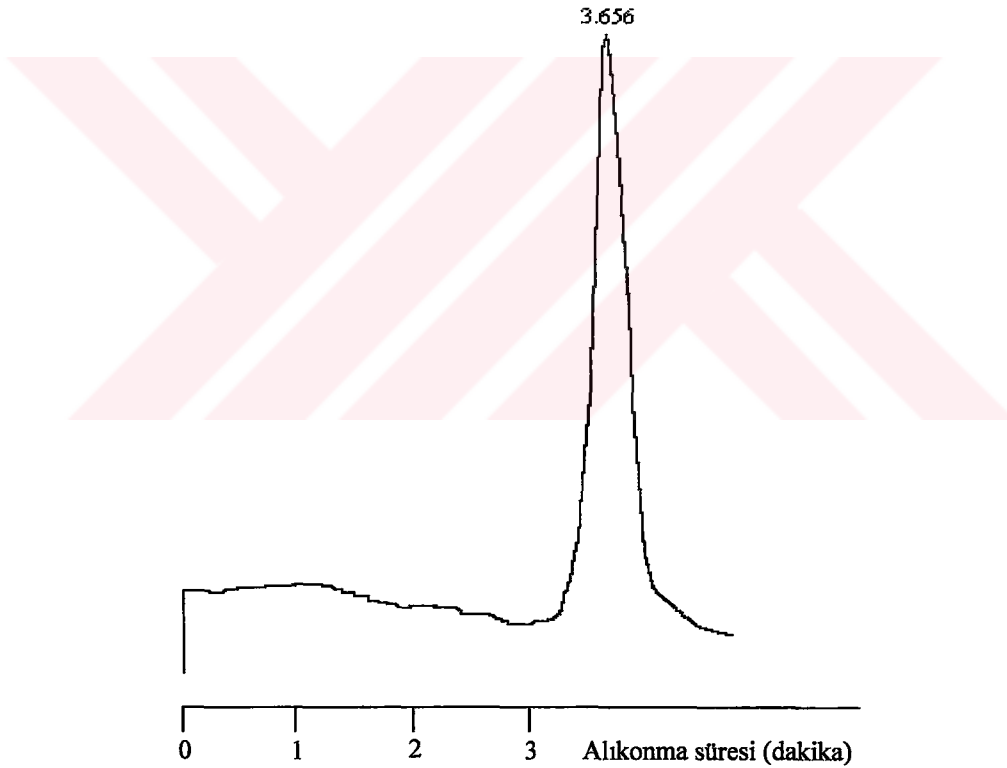
$$\% \text{ Geri kazanım} = \frac{\text{Standart ilaveli ekstre} - \text{standart}}{\text{Normal ekstre}} \times 100$$

HPLC analizlerinde mobil faz olarak pH'ı 4 olan 3.7 mM KH₂PO₄ çözeltisi ve Li-60 (25 cm x 4.6 mm) kolonu kullanıldı. Dalga boyu 246 nm'ye, mobil fazın akış hızı dakikada 1 ml'ye ayarlandı (Tavazzi ve diğ., 1992).

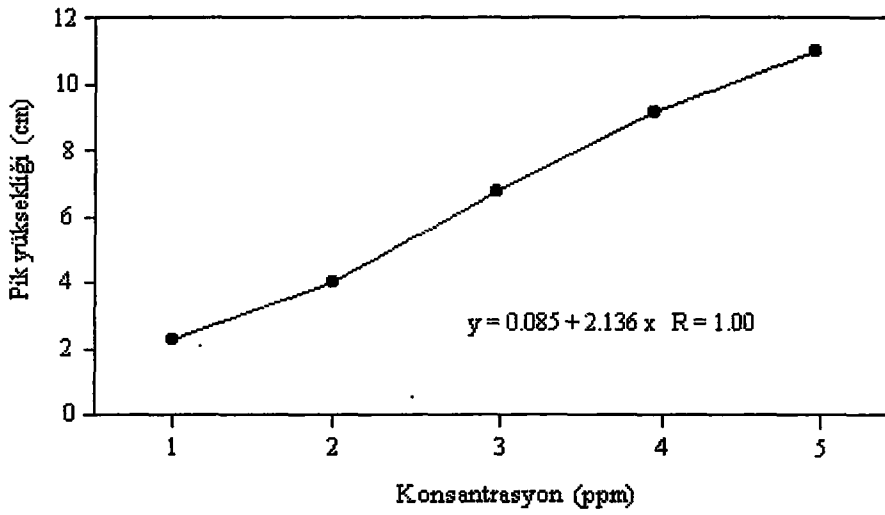
Vitamin C standardına ait piki ve dolayısıyla alıkonma süresini belirlemek için değişik konsantrasyonlardaki vitamin C standardı çözeltileri hazırlandı. Bu standart vitamin C konsantrasyonlarının her birinden 20'şer µl HPLC'ye enjekte edilerek 246 nm dalga boyunda absorbanları okundu. Çalışmanın bu kısmı çok sayıda tekrarlanarak standartların belirtilen koşullarda alıkonma süresi belirlendi.

Bu arada C vitamini standardından 1, 2, 3, 4 ve 5 ppm'lik konsantrasyonlar hazırlandı. Bu konsantrasyonların her birinden 20'şer μL HPLC'ye enjekte edilerek konsantrasyona karşı pik yükseklikleri tespit edildi (Şekil 2.2.5.1.1). Buradan elde edilen veriler yardımıyla fidedeki C vitamini miktarının tespitinde kullanılacak konsantrasyona karşı pik yüksekliği grafiği çizildi (Şekil.2.2.5.1.2).

Bütün bu işlemlerden sonra, her bir fideden elde edilen ekstrelerin her birinden 20'şer μL HPLC'ye enjekte edildi ve belirtilen şartlarda pik yükseklikleri belirlendi. Bundan sonra çalışma grafiği kullanılarak bu pik yüksekliklerine karşı gelen C vitamini miktarları tespit edildi.



Şekil 2.2.5.1.1. C vitamini standardına ait kromatogram. Mobil faz: 3.7 mM KH_2PO_4 (pH=4). Akış hızı: 1 ml dk^{-1} . Dalga boyu: 245 nm. Li-60 kolonu. UV dedektörü.



Şekil 2.2.5.1.2. C vitamininde kullanılan standart eğri.

2.2.5.2. A ve E vitamini Ekstraksiyonu ve Tayini

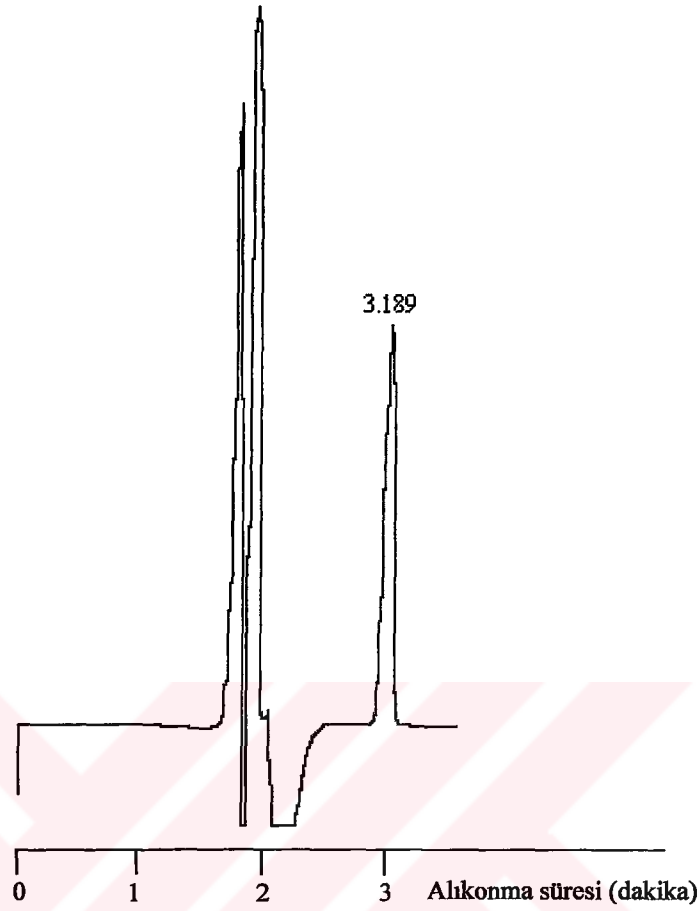
2.2. de anlatıldığı gibi yetiştirilen ve 10 gün boyunca sera koşullarında büyütülen kontrol grubu fidelerinin her birinden 0.5 g taze yaprak dokusu alındı. Üzerine %1'lik H_2SO_4 ihtiva eden etil alkolden 2 ml ilave edildi ve iyice parçalanarak proteinleri çöktürüldü. Karışım vortekslendikten sonra 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendi ve üstteki süpernatant Whatman No 1 filtre kağıdı ile süzüldü. Süzüntüye 0.3 ml n-hegzan ilave edilerek çalkalandı, böylece A ve E vitaminleri n-hegzan fazına ekstrakte edildi. Bu ekstraksiyon işleminin iki kez tekrarı ile elde edilen ve birleştirilen n-hegzan fazları azot gazı altında kuruluğa kadar buharlaştırıldı. Tüpteki kalıntı 0.5 ml metanolla çözülerek HPLC'de analize hazır hale getirildi (Çetinkaya ve Özcan, 1991). Bu arada geri kazanım için kontrol fidesinin taze yaprak dokusundan 0.5 g alınarak yukarıda anlatılan işlemler yapıldı. n-hegzan fazları azot gazı altında kuruluğa kadar uçurulduktan sonra tüpteki kalıntı 250 µl metanolla çözüldü (ekstre) ve son hacminin A vitamini konsantrasyonu belli olacak şekilde, A vitamini standardı ilave edilerek son hacmi metanolla 0.5 ml'ye tamamlandı. Ayrıca geri kazanım için elde edilen ekstrenin konsantrasyonu aynı olacak şekilde A vitamini standart konsantrasyonu hazırlandı. Daha sonra ekstre, ekstre + A vitamini standardı ve A vitamini standardından elde

edilen sonuçlar formülde yerlerine konularak % geri kazanım hesaplandı. A vitamini için yapılan geri kazanım işlemlerinin tümü E vitamini için de yapıldı. Elde edilen sonuçlar 2.2.5.1 de belirtilen formülde yerlerine konularak % geri kazanım oranları hesaplandı.

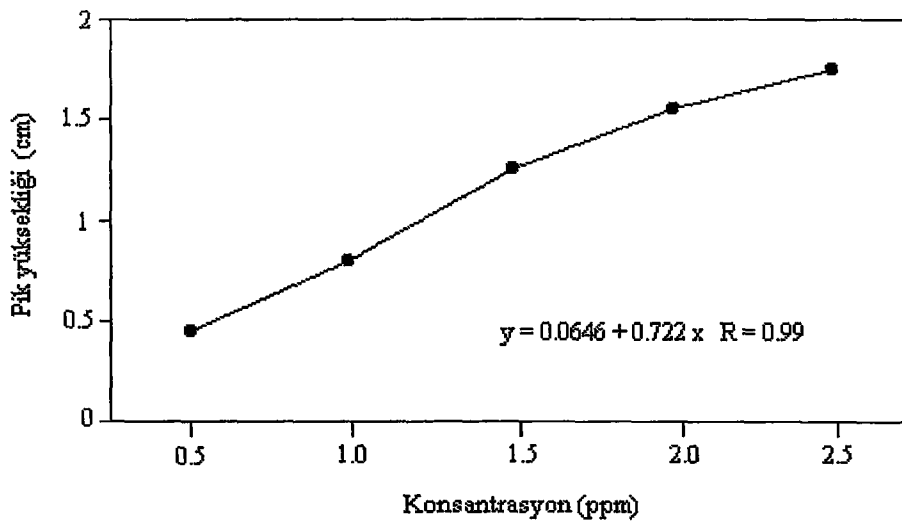
A ve E vitaminleri tayininde ODS-2 (25 cm x 4.6, 80 Å, 5µ) kolonu ve metanol asetonitril kloroform (47:42:11, v/v) karışımından oluşmuş mobil faz kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 1 ml.dk⁻¹ olarak ayarlandı. E vitamini 296 nm ve A vitamini 326 nm’de tayin edildi (Catignani, 1983; Miller ve diğ., 1984).

Bu arada A vitamini standardından 0.5, 1.0, 1.5, 2, 2.5 ppm’lik ve E vitamini standardından 5, 10, 15, 20, 25 ppm’lik konsantrasyonlar hazırlandı. Bu konsantrasyonların her birinden 20’şer µL HPLC’ye enjekte edilerek konsantrasyona karşı pik yükseklikleri tespit edildi (Şekil 2.2.5.2.1 ve Şekil 2.2.5.2.3). Buradan elde edilen veriler yardımıyla fidedeki A ve E vitamini miktarının tespitinde kullanılacak konsantrasyona karşı pik yüksekliği grafiği çizildi (Şekil 2.2.5.2.2 ve Şekil 2.2.5.2.4).

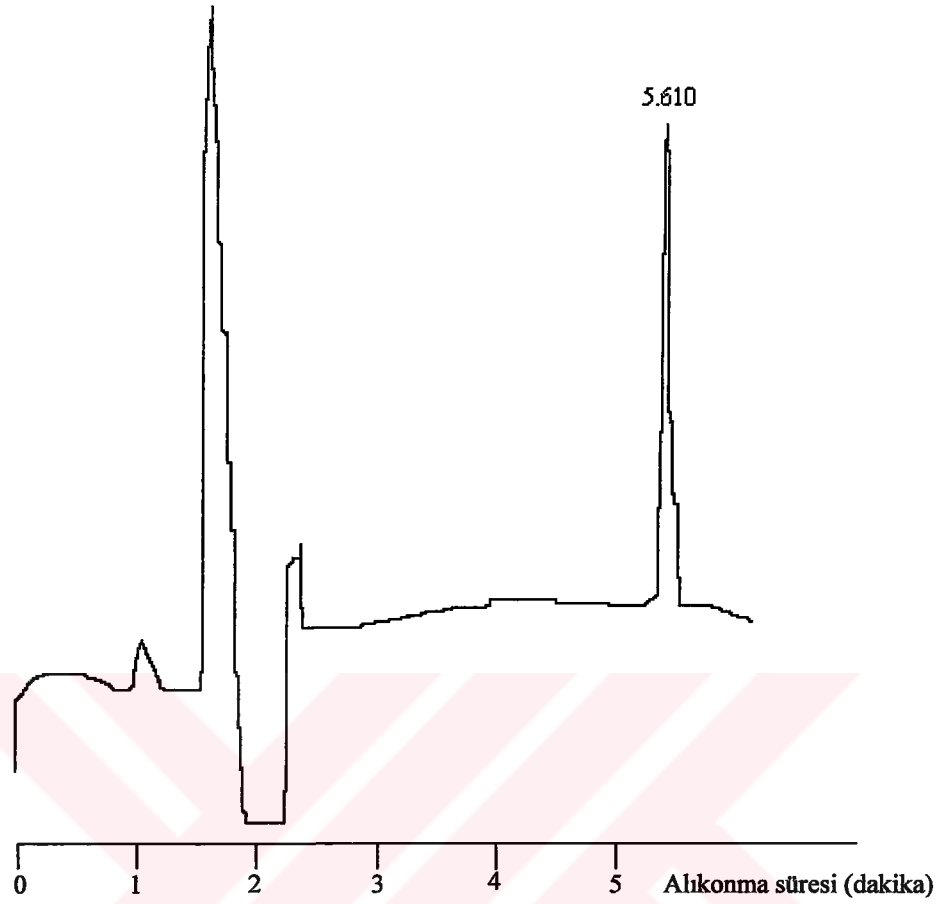
Bütün bu işlemlerden sonra, her bir fideden elde edilen ekstraktların her birinden 20’şer µL HPLC’ye enjekte edildi ve belirtilen şartlarda pik yükseklikleri belirlendi. Bundan sonra çalışma grafiği kullanılarak bu pik yüksekliklerine karşı gelen A ve E vitamini miktarları tespit edildi.



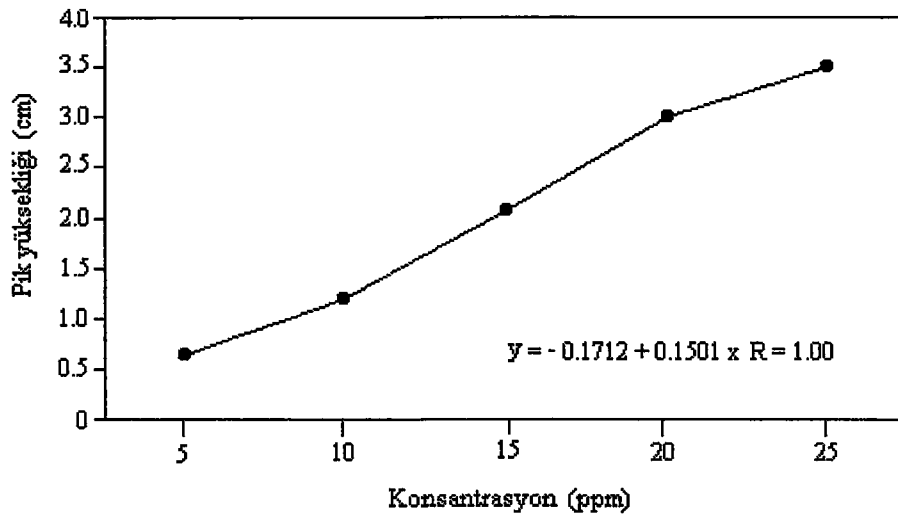
Şekil 2.2.5.2.1. A vitamini standardına ait kromotogram. Mobil faz: Metanol/asetonitril/kloroform (47:42:11 v/v). Akış hızı: 1ml dk⁻¹. Dalga boyu 326 nm. ODS-2 kolonu. UV dedektörü.



Şekil 2.2.5.2.2. A vitamininde kullanılan standart eğri.



Şekil 2.2.5.2.3. E vitamini standardına ait kromatogram. Mobil faz: Metanol/asetonitril/kloroform (47:42:11 v/v). Akış hızı: 1ml dk⁻¹. Dalga boyu: 296nm. ODS-2 kolonu. UV dedektörü.



Şekil 2.2.5.2.4. E vitamininde kullanılan standart eğri.

2.3. İstatistik Analizler

Bütün deneyler 3 defa tekrar edildi. Sonuçlar ortalamanın standart hatası alınarak ve varyans analizi yapılarak istatistik analize tabi tutuldu. Varyans analizi bilgisayarda SPSS 10.0 Windows programı kullanılarak çoklu karşılaştırma testi ile $p<0.05$ ve $p<0.01$ önem seviyelerinde yapıldı. Ortalamaların standart hatası histogramlar üzerinde dikey çizgiler (bar) şeklinde verildi. Bir vitaminin bir deney serisine ait sonucu, o deney serisinden elde edilen minimum ve maksimum değerlerin ortalaması alınarak hesaplandı.



3. SONUÇLAR

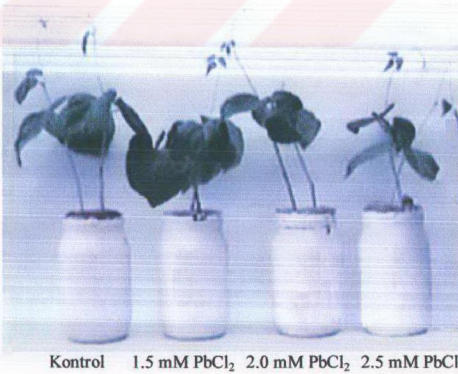
3.1. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Etkileri

Denenen ağır metallerin fasulye fidelerinin morfolojik görünüşleri üzerine önemli etkileri olmuştur. Her dört ağır metal de kök, gövde ve yaprak büyümesini önemli oranlarda ($p<0.05$, $p<0.01$) etkilemiştir.

Kurşun

Kurşunun kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine olan etkileri Tablo 3.1.1, Tablo 3.1.2, Tablo 3.1.3, Şekil 3.1.2, Şekil 3.1.3 ve Şekil 3.1.4 de verilmiştir. Bu şekil ve tablolardan da görüleceği üzere kurşun konsantrasyonlarındaki artış ile kök, gövde ve yaprak büyümesinin inhibisyonu arasında pozitif bir korelasyon vardır. Bu ağır metalin kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerindeki inhibitif etkileri uygulamanın sonuna doğru daha açık bir şekilde ortaya çıkmıştır.

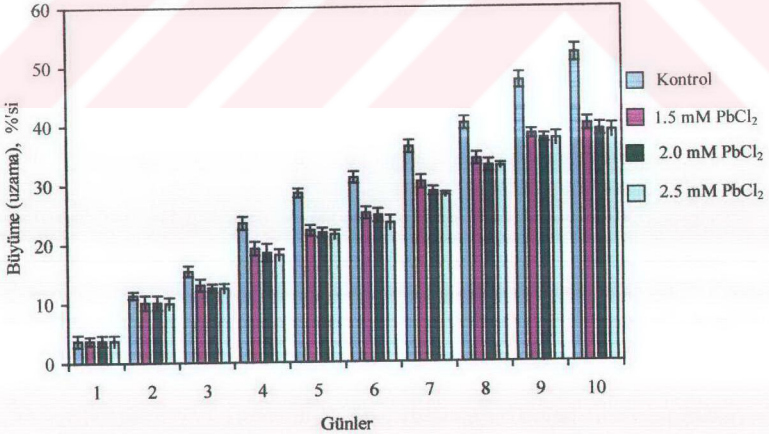
Bir haftalık fasulye fidelerine kontrol, 1.5, 2.0 ve 2.5 mM $PbCl_2$ uygulamasının onuncu gününde meydana getirdiği genel görünüm Şekil 3.1.1 de verilmiştir.



Şekil 3.1.1. On gün süreyle farklı konsantrasyonlarda kurşun uygulanan fasulye fidelerinin genel görünümü.

Tablo 3.1.1. 10 gün süreyle 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	1.5 mM PbCl ₂ (% Büyüme)	2.0 mM PbCl ₂ (% Büyüme)	2.5 mM PbCl ₂ (% Büyüme)
1.	3,75 ± 1,00	3,76 ± 0,71	3,77 ± 0,89	3,76 ± 0,92
2.	11,42 ± 0,61	10,18 ± 1,23	10,16 ± 1,22	10,06 ± 0,98
3.	15,46 ± 0,92	13,11 ± 1,03	12,59 ± 0,71	12,58 ± 0,76
4.	23,55 ± 1,13	19,26 ± 1,13	18,54 ± 1,53	18,17 ± 0,92
5.	28,61 ± 0,75	22,25 ± 0,90	21,85 ± 0,80	21,54 ± 0,76
6.	31,18 ± 0,95	25,18 ± 1,03	24,79 ± 1,11	23,49 ± 1,23
7.	36,32 ± 1,08	30,41 ± 1,12	28,80 ± 0,75	28,23 ± 0,38
8.	40,30 ± 1,06	34,29 ± 1,06	33,12 ± 1,05	33,05 ± 0,48
9.	47,54 ± 1,39	38,46 ± 0,76	37,70 ± 0,72	37,66 ± 1,16
10.	52,12 ± 1,46	40,10 ± 1,13	39,19 ± 1,13	38,95 ± 1,25

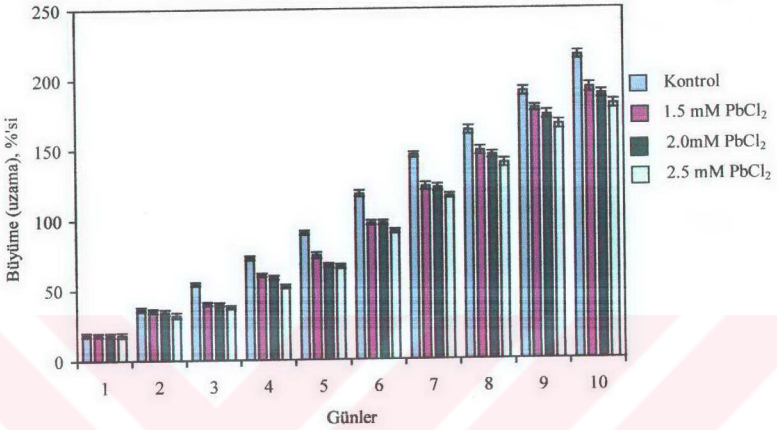


Şekil 3.1.2. 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.

1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ içeren Hoagland solüsyonlarında büyümeye terk edilen fasulye fidelerinin kök büyümeleri, uygulamanın ikinci gününde kontrole göre sırasıyla %10.85, %11.03 ve %11.90 oranlarında daha az olmuş ve bu değerler önemli (p<0.05) bulunmuştur. Bu fark on günlük uygulama süresinin sonuna doğru daha da artmıştır (p<0.01). On günlük uygulama süresinin sonunda yapılan ölçümlerde 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ konsantrasyonlarının fidelerin kök uzunluklarını kontrollere göre, sırasıyla, %23.06, %24.80 ve %25.26 oranlarında azalttığı tespit edilmiştir. Bu parametre açısından genel olarak deney gruplarının kendi aralarında önemli sayılabilecek bir farklılık ortaya çıkmamıştır.

Tablo 3.1.2. 10 gün süreyle 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	1.5 mM PbCl ₂ (% Büyüme)	2.0 mM PbCl ₂ (% Büyüme)	2.5 mM PbCl ₂ (% Büyüme)
1.	18,39 ± 1,51	18,41 ± 1,44	18,28 ± 1,59	18,21 ± 1,77
2.	36,41 ± 1,56	35,33 ± 1,57	34,19 ± 1,83	33,03 ± 1,98
3.	54,37 ± 1,35	40,19 ± 1,23	39,75 ± 1,19	37,68 ± 1,13
4.	72,58 ± 1,42	60,31 ± 1,23	58,68 ± 1,32	52,44 ± 1,36
5.	90,59 ± 1,52	74,47 ± 2,06	67,34 ± 1,41	66,38 ± 1,52
6.	118,29 ± 2,28	97,29 ± 1,59	97,35 ± 1,61	91,42 ± 1,57
7.	145,69 ± 2,05	123,36 ± 2,75	122,30 ± 2,40	116,45 ± 1,76
8.	163,04 ± 3,06	148,63 ± 3,03	145,62 ± 2,45	139,66 ± 3,11
9.	190,75 ± 3,00	178,49 ± 2,23	173,86 ± 3,11	166,96 ± 3,12
10.	216,42 ± 3,46	193,10 ± 3,55	188,61 ± 2,87	181,26 ± 3,24

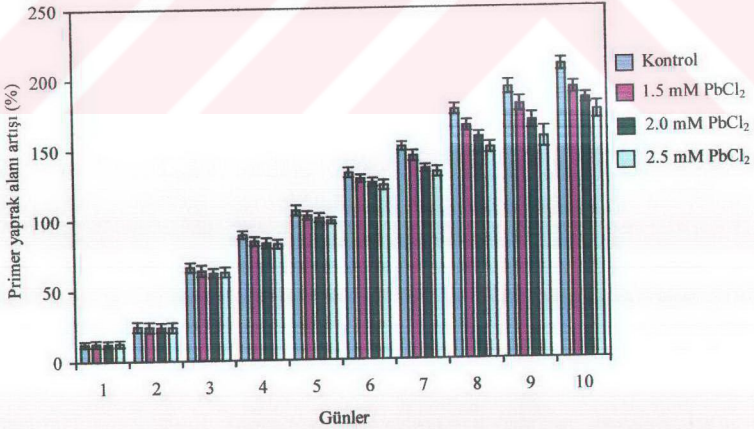


Şekil 3.1.3. 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.

1.5, 2.0 ve 2.5 mM kurşun tuzu uygulanan fidelerin gövde büyümeleri (uzunlukları) uygulamanın ikinci gününde kontrole göre, sırasıyla %2.96, %6.09 ve %9.28 oranlarında daha az olmuştur ($p < 0.05$). Bu değerler uygulamanın onuncu günü için, sırasıyla, %10.77, %12.85 ve %16.24 olarak tespit edilmiştir ($p < 0.01$). Ayrıca bu parametre açısından genel olarak deney gruplarının kendi aralarında da önemli sayılabilecek farklılıkların olduğu ($p < 0.01$) belirlenmiştir.

Tablo 3.1.3. 10 gün süreyle 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen yaprak alanı artışı yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	1.5 mM PbCl ₂ (% Büyüme)	2.0 mM PbCl ₂ (% Büyüme)	2.5 mM PbCl ₂ (% Büyüme)
1.	12,41 ± 2,23	12,71 ± 2,36	12,30 ± 2,42	12,69 ± 2,34
2.	24,53 ± 3,72	24,17 ± 3,83	24,06 ± 3,22	23,94 ± 3,54
3.	66,48 ± 3,41	64,03 ± 4,03	62,29 ± 3,18	62,86 ± 3,53
4.	89,20 ± 2,64	84,54 ± 3,17	83,20 ± 3,71	82,44 ± 3,22
5.	106,22 ± 3,72	102,49 ± 3,01	100,82 ± 3,20	98,81 ± 2,22
6.	132,72 ± 3,48	128,33 ± 2,65	125,57 ± 3,06	123,66 ± 3,37
7.	151,02 ± 3,02	144,39 ± 3,82	135,32 ± 2,83	132,83 ± 3,61
8.	177,25 ± 3,85	165,72 ± 3,89	157,38 ± 3,69	149,78 ± 3,99
9.	192,75 ± 5,05	180,60 ± 5,23	168,89 ± 5,59	157,11 ± 7,59
10.	208,52 ± 4,46	189,12 ± 4,13	185,43 ± 3,53	178,25 ± 6,25



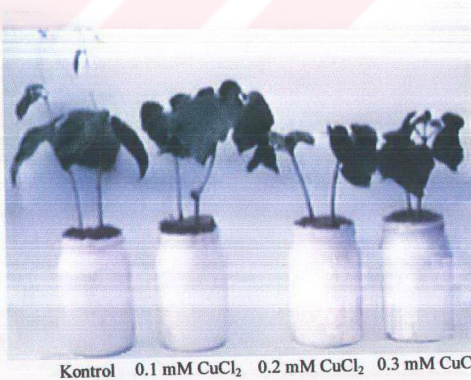
Şekil 3.1.4. 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı belirlenen yaprak alanı artışı yüzdeleri.

1.5, 2.0 ve 2.5 mM $PbCl_2$ içeren Hoagland solüsyonlarında büyümeye bırakılan fasulye fidelerinin primer yaprak alanları uygulamanın ikinci gününde kontrole göre, sırasıyla %1.46, %1.91 ve %2.40 oranlarında azalmış, fakat bu değerler istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). On günlük uygulama süresinin sonuna doğru bu ağır metalin yaprak büyümesi üzerindeki engelleyici etkisi daha belirgin olarak kendini göstermiştir ($p<0.05$). Mesela uygulamanın onuncu gününde 1.5, 2.0 ve 2.5 mM $PbCl_2$ uygulanan fidelerin yaprak alanları kontrollere göre, sırasıyla %9.30, %11.07 ve %14.51 oranlarında azalmıştır ($p<0.05$). Bu farklılıklar deney gruplarının kendi aralarında da görülmüştür ($p<0.05$).

Bakır

Bakırın kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine etkileri Tablo 3.1.4, Tablo 3.1.5, Tablo 3.1.6, Şekil 3.1.6, Şekil 3.1.7 ve Şekil 3.1.8 de verilmiştir. Bu şekil ve tablolardan görüleceği gibi bakır konsantrasyonlarındaki artış ile kök, gövde ve yaprak büyümesinin inhibisyonu arasında bir paralellik vardır. Bakırın her üç özellik üzerindeki inhibitif etkileri uygulamadan birkaç gün sonra daha açık bir şekilde ortaya çıkmıştır.

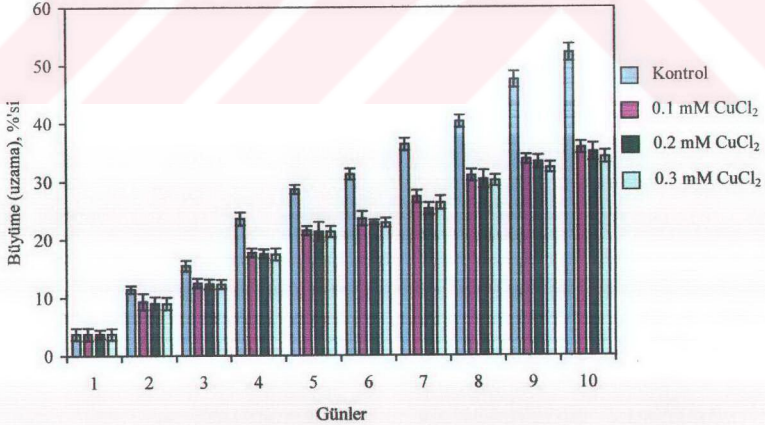
Bir haftalık fasulye fidelerine kontrol, 0.1, 0.2 ve 0.3 mM $CuCl_2$ uygulamasının onuncu gününde meydana getirdiği genel görünüm Şekil 3.1.5 de verilmiştir.



Şekil 3.1.5. On gün süreyle farklı konsantrasyonlarda bakır uygulanan fasulye fidelerinin genel görünümü.

Tablo 3.1.4. 10 gün süreyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.1 mM CuCl ₂ (% Büyüme)	0.2 mM CuCl ₂ (% Büyüme)	0.3 mM CuCl ₂ (% Büyüme)
1.	3,75 ± 1,00	3,71 ± 1,09	3,74 ± 0,77	3,71 ± 0,96
2.	11,42 ± 0,61	9,34 ± 1,40	9,04 ± 1,06	8,99 ± 1,06
3.	15,46 ± 0,92	12,49 ± 0,81	12,33 ± 0,85	12,30 ± 0,76
4.	23,55 ± 1,13	17,71 ± 0,71	17,51 ± 0,76	17,40 ± 1,01
5.	28,61 ± 0,75	21,50 ± 0,78	21,33 ± 1,62	21,30 ± 0,98
6.	31,18 ± 0,95	23,59 ± 1,26	22,92 ± 0,46	22,83 ± 0,82
7.	36,32 ± 1,08	27,35 ± 1,09	25,27 ± 1,03	26,26 ± 1,17
8.	40,30 ± 1,06	30,97 ± 1,02	30,33 ± 1,55	30,11 ± 0,95
9.	47,54 ± 1,39	33,76 ± 0,85	33,31 ± 1,15	32,35 ± 0,94
10.	52,12 ± 1,46	35,75 ± 1,03	35,01 ± 1,52	34,16 ± 1,10

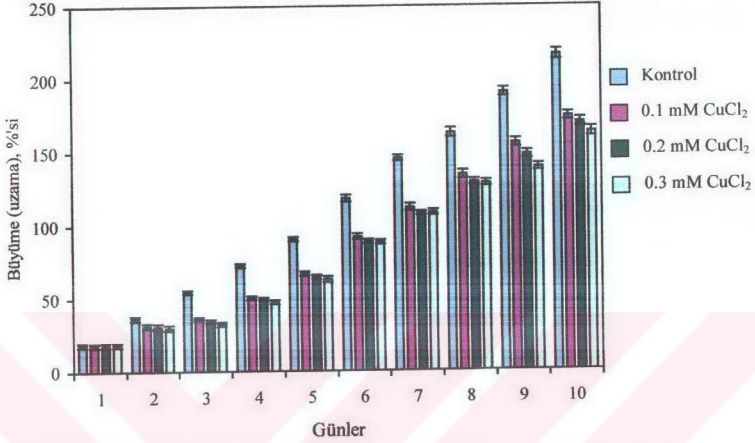


Şekil 3.1.6. 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.

0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 içeren Hoagland solüsyonlarında on gün süreyle büyütülen fasulye fidelerinin kök uzunlukları uygulamanın ikinci gününde kontrole göre, sırasıyla %18.21, %20.84 ve %21.27 oranlarında daha az olmuş (Şekil 3.1.6) ve bu değerler $p < 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Deney gruplarının kendi aralarında istatistik olarak ($p > 0.05$) bir farklılık görülmemiştir. On günlük uygulama süresinin sonunda yapılan ölçümler 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 solüsyonlarının fidelerin kök uzunluğunu kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %31.40, %32.82 ve %34.45 oranlarında azalttığını ($p < 0.01$) göstermiştir.

Tablo 3.1.5. 10 gün süreyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.1 mM CuCl_2 (% Büyüme)	0.2 mM CuCl_2 (% Büyüme)	0.3 mM CuCl_2 (% Büyüme)
1.	18,39 ± 1,51	18,17 ± 1,41	18,18 ± 1,64	18,34 ± 1,46
2.	36,41 ± 1,56	31,21 ± 1,80	30,70 ± 2,14	29,90 ± 1,98
3.	54,37 ± 1,35	35,95 ± 1,03	34,27 ± 1,33	32,51 ± 1,47
4.	72,58 ± 1,42	50,36 ± 1,42	49,26 ± 1,17	47,45 ± 1,41
5.	90,59 ± 1,52	66,78 ± 1,45	64,46 ± 1,61	63,15 ± 1,99
6.	118,29 ± 2,28	92,14 ± 2,02	88,81 ± 1,51	88,28 ± 1,40
7.	145,69 ± 2,05	111,95 ± 2,55	107,96 ± 1,30	108,43 ± 1,85
8.	163,04 ± 3,06	134,38 ± 2,78	129,44 ± 2,08	128,59 ± 2,10
9.	190,75 ± 3,00	155,94 ± 2,88	147,95 ± 2,66	139,36 ± 2,31
10.	216,42 ± 3,46	173,95 ± 2,85	170,01 ± 2,94	163,23 ± 3,12

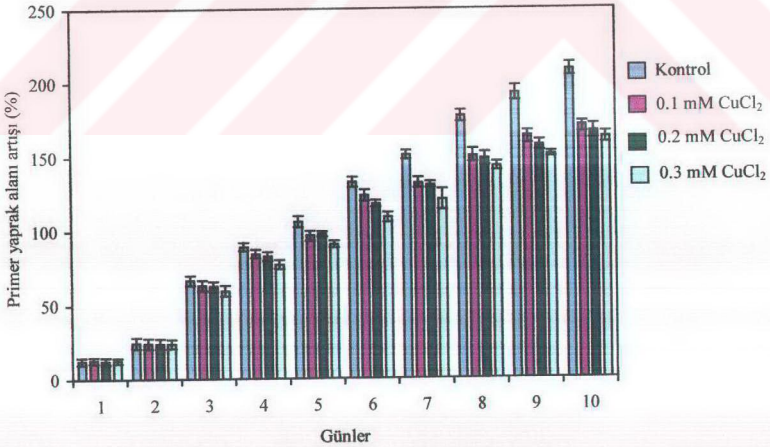


Şekil 3.1.7. 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.

Fasulye fidelerinin gövde uzunluklarını 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ konsantrasyonları uygulamanın ikinci gününde kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %14.28, %15.68 ve %17.87 oranlarında; uygulamanın onuncu gününde yine kontrol bitkilerine göre ve sırasıyla %19.62, %21.44 ve %24.57 oranlarında azaltmış (Şekil 3.1.7) ve bu değerler istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Ayrıca bu parametre açısından genel olarak deney gruplarının kendi aralarında önemli sayılabilecek farklılıkların olduğu ($p < 0.01$) ortaya çıkmıştır.

Tablo 3.1.6. 10 gün süreyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen yaprak alanı artışı yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.1 mM CuCl ₂ (% Büyüme)	0.2 mM CuCl ₂ (% Büyüme)	0.3 mM CuCl ₂ (% Büyüme)
1.	12,41 ± 2,23	12,89 ± 2,06	12,40 ± 2,29	12,61 ± 1,84
2.	24,53 ± 3,72	24,11 ± 3,48	23,94 ± 3,45	23,80 ± 3,12
3.	66,48 ± 3,41	63,14 ± 3,55	62,58 ± 3,21	59,44 ± 3,63
4.	89,20 ± 2,64	84,12 ± 3,38	82,69 ± 3,06	77,08 ± 3,00
5.	106,22 ± 3,72	96,78 ± 2,98	97,76 ± 1,72	90,74 ± 2,29
6.	132,72 ± 3,48	123,57 ± 3,91	118,00 ± 2,18	108,89 ± 3,41
7.	151,02 ± 3,02	131,71 ± 4,01	130,71 ± 2,13	120,94 ± 6,97
8.	177,25 ± 3,85	150,17 ± 5,00	148,40 ± 4,44	143,37 ± 2,89
9.	192,75 ± 5,05	163,69 ± 3,64	157,37 ± 3,65	151,17 ± 1,94
10.	208,52 ± 4,46	170,56 ± 2,75	166,63 ± 4,84	162,57 ± 3,72



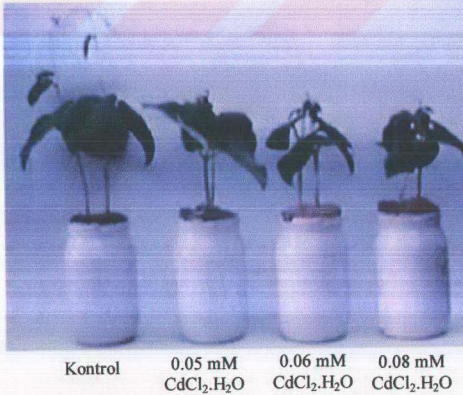
Şekil 3.1.8. 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı belirlenen yaprak alanı artışı yüzdeleri.

0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 içeren Hoagland solüsyonlarıyla büyütülen fasulye fidelerinin primer yaprak alanları uygulamanın ikinci gününde kontrollere göre, sırasıyla %1.71, %2.40 ve %2.97 oranlarında azalmış, fakat bu değerler istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). On günlük uygulama süresinin sonuna doğru bu ağır metalin yaprak büyümesi üzerindeki engelleyici etkisi daha belirgin olarak kendini göstermiştir ($p<0.05$). Mesela uygulamanın onuncu gününde 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 uygulanan fidelerin yaprak büyümeleri kontrol bitkilerine göre sırasıyla, %18.20, %20.08 ve %22.03 oranlarında azalmıştır ($p<0.05$).

Kadmiyum

Kadmiyumun kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine olan etkileri Tablo 3.1.7, Tablo 3.1.8, Tablo 3.1.9, Şekil 3.1.10, Şekil 3.1.11 ve Şekil 3.1.12 de verilmiştir. Bu şekil ve tablolardan da görüleceği üzere kadmiyum konsantrasyonlarındaki artış ile kök, gövde ve yaprak büyümesinin inhibisyonu arasında pozitif bir korelasyon vardır. Bu ağır metalin kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerindeki inhibitif etkileri uygulamanın sonuna doğru daha açık bir şekilde ortaya çıkmıştır.

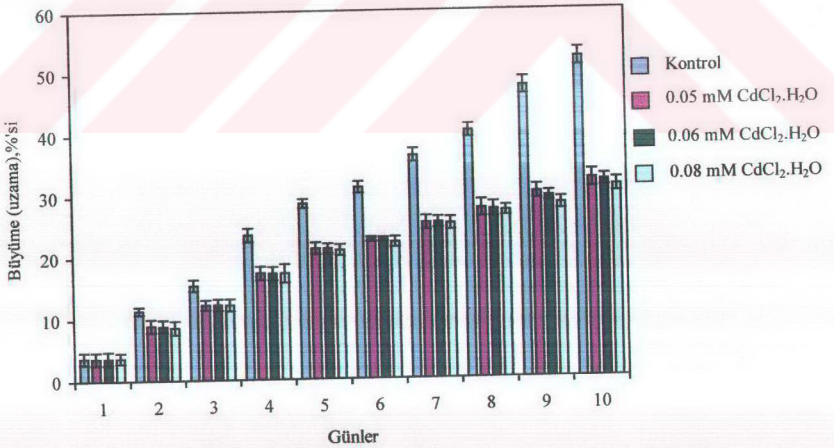
Bir haftalık fasulye fidelerine kontrol, 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulamasının onuncu gününde meydana getirdiği genel görünüm Şekil 3.1.9 da verilmiştir.



Şekil 3.1.9. On gün süreyle farklı konsantrasyonlarda kadmiyum uygulanan fasulye fidelerinin genel görünümü.

Tablo 3.1.7. 10 gün süreyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.05 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (% Büyüme)	0.06 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (% Büyüme)	0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (% Büyüme)
1.	3,75 ± 1,00	3,71 ± 1,05	3,71 ± 1,07	3,69 ± 0,87
2.	11,42 ± 0,61	8,94 ± 1,05	8,84 ± 1,00	8,63 ± 1,13
3.	15,46 ± 0,92	12,29 ± 0,79	12,28 ± 0,96	12,24 ± 0,95
4.	23,55 ± 1,13	17,35 ± 1,06	17,28 ± 1,07	17,30 ± 1,49
5.	28,61 ± 0,75	21,29 ± 0,98	21,27 ± 0,80	20,99 ± 0,90
6.	31,18 ± 0,95	22,72 ± 0,37	22,67 ± 0,38	22,26 ± 0,83
7.	36,32 ± 1,08	25,31 ± 1,14	25,37 ± 0,92	25,18 ± 1,04
8.	40,30 ± 1,06	27,60 ± 1,41	27,41 ± 1,23	27,16 ± 0,83
9.	47,54 ± 1,39	30,21 ± 1,15	29,48 ± 0,86	28,28 ± 0,99
10.	52,12 ± 1,46	32,25 ± 1,42	31,96 ± 0,93	31,16 ± 1,10

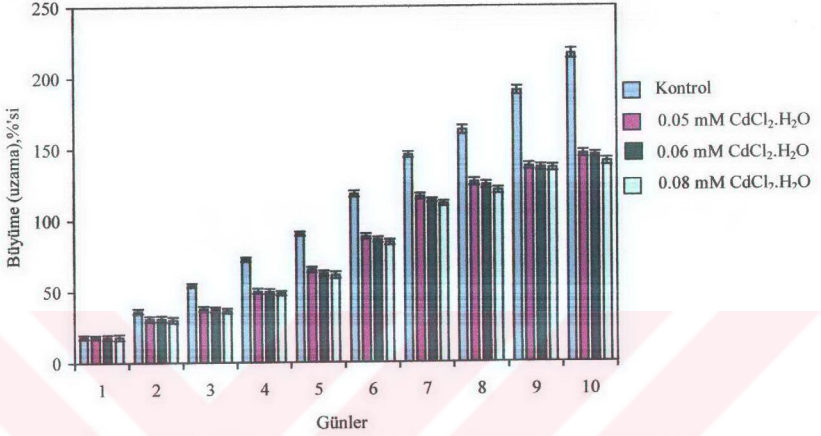


Şekil 3.1.10. 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.

0.05, 0.06 ve 0.08 mM kadmiyum tuzu içeren Hoagland solüsyonlarında büyümeye terk edilen fasulye fidelerinin kök büyümleri (uzunlukları) uygulamanın ikinci gününde kontrollere göre, sırasıyla %21.71, %22.59 ve %24.43 oranlarında azalmış (Şekil 3.1.10) ve bu değerler önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Bu fark uygulamanın sonuna doğru daha da artmıştır. Mesela uygulamanın onuncu gününde 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fidelerin kökleri kontrollere göre, sırasıyla %38.12, %38.67 ve %40.21 oranlarında azalmıştır ($p<0.01$). Bu parametre açısından genel olarak deney gruplarının kendi aralarında önemli sayılabilecek bir farklılık ortaya çıkmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 3.1.8. 10 gün süreyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.05 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (% Büyüme)	0.06 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (% Büyüme)	0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (% Büyüme)
1.	18,39 ± 1,51	18,20 ± 1,29	18,03 ± 1,83	18,03 ± 1,96
2.	36,41 ± 1,56	30,85 ± 2,15	30,70 ± 1,98	30,01 ± 2,06
3.	54,37 ± 1,35	37,75 ± 1,75	37,36 ± 1,66	36,41 ± 1,66
4.	72,58 ± 1,42	50,18 ± 2,05	49,92 ± 1,82	48,73 ± 1,62
5.	90,59 ± 1,52	65,20 ± 2,04	62,52 ± 1,81	61,51 ± 2,32
6.	118,29 ± 2,28	88,49 ± 2,03	86,16 ± 2,06	84,38 ± 1,96
7.	145,69 ± 2,05	116,42 ± 2,07	113,47 ± 1,40	111,21 ± 1,82
8.	163,04 ± 3,06	126,43 ± 2,42	124,43 ± 2,44	120,52 ± 2,25
9.	190,75 ± 3,00	137,48 ± 2,22	136,45 ± 2,50	136,14 ± 2,46
10.	216,42 ± 3,46	146,12 ± 2,55	145,16 ± 2,07	140,56 ± 2,54

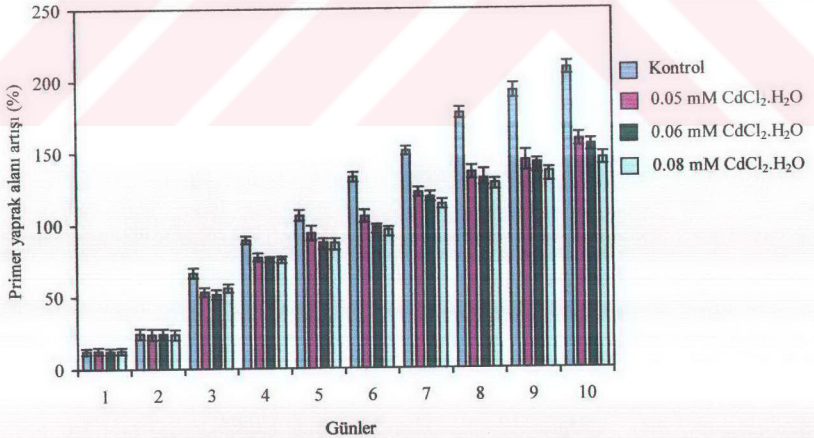


Şekil 3.1.11. 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.

0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O içeren Hoagland solüsyonunda büyümeye terk edilen fasulye fidelerinin gövde büyümeleri (uzunlukları) uygulamanın ikinci gününde kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %15.27, %15.68 ve %17.56 oranlarında; uygulamanın onuncu gününde yine kontrol bitkilerine göre ve sırasıyla %32.48, %32.92 ve %35.05 oranlarında azalmış ve bu değerler istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca bu parametre açısından genel olarak deney gruplarının kendi aralarında önemli sayılabilecek farklılıkların olduğu ($p < 0.05$) ortaya çıkmıştır.

Tablo 3.1.9. 10 gün süreyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen yaprak alanı artışı yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.05 mM CdCl ₂ .H ₂ O (% Büyüme)	0.06 mM CdCl ₂ .H ₂ O (% Büyüme)	0.08 mM CdCl ₂ .H ₂ O (% Büyüme)
1.	12,41 ± 2,23	12,71 ± 2,31	12,37 ± 2,13	12,71 ± 2,23
2.	24,53 ± 3,72	24,13 ± 3,83	24,08 ± 3,56	23,88 ± 3,36
3.	66,48 ± 3,41	53,34 ± 3,12	53,34 ± 3,49	51,50 ± 2,45
4.	89,20 ± 2,64	77,24 ± 2,78	76,71 ± 0,69	75,89 ± 1,86
5.	106,22 ± 3,72	93,95 ± 4,98	87,52 ± 2,76	87,11 ± 3,13
6.	132,72 ± 3,48	105,71 ± 4,29	98,11 ± 1,79	96,07 ± 2,00
7.	151,02 ± 3,02	122,08 ± 3,22	118,97 ± 3,39	113,82 ± 3,38
8.	177,25 ± 3,85	136,08 ± 4,61	131,63 ± 6,58	128,43 ± 2,96
9.	192,75 ± 5,05	144,18 ± 7,03	142,63 ± 2,55	136,52 ± 2,50
10.	208,52 ± 4,46	158,65 ± 4,75	155,12 ± 3,88	145,59 ± 4,32



Şekil 3.1.12. 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı belirlenen yaprak alanı artışı yüzdeleri.

0.05, 0.06 ve 0.08 mM kadmiyum tuzu içeren Hoagland solüsyonunda büyümeye terk edilen fasulye fidelerinin primer yaprak alanları uygulamanın ikinci gününde kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %1.63, %1.83 ve %2.64 oranlarında daha az artmış (Şekil 3.1.12), fakat bu değerler istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). On günlük uygulama süresinin sonuna doğru bu ağır metalin yaprak büyümesi üzerindeki engelleyici etkisi daha belirgin olarak kendini göstermiştir ($p<0.05$). Mesela uygulamanın onuncu gününde 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fidelerin yaprak büyümeleri kontrol bitkilerine göre sırasıyla %23.91, %25.60 ve %30.17 oranlarında azalmış ve bu değerler önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Bu parametre açısından deney gruplarının kendi aralarında da farklılıklar olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

Civa

Civanın kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine olan etkileri Tablo 3.1.10, Tablo 3.1.11, Tablo 3.1.12, Şekil 3.1.14, Şekil 3.1.15 ve Şekil 3.1.16 de verilmiştir. Bu şekil ve tablolardan görüleceği gibi civa konsantrasyonlarındaki artış ile kök, gövde ve yaprak büyümesinin inhibisyonu arasında bir paralellik vardır. Civanın her üç özellik üzerindeki inhibitif etkileri uygulamadan birkaç gün sonra daha açık bir şekilde ortaya çıkmıştır.

Bir haftalık fasulye fidelerine kontrol, 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 uygulamasının onuncu gününde meydana getirdiği genel görünüm Şekil 3.1.13 de verilmiştir.

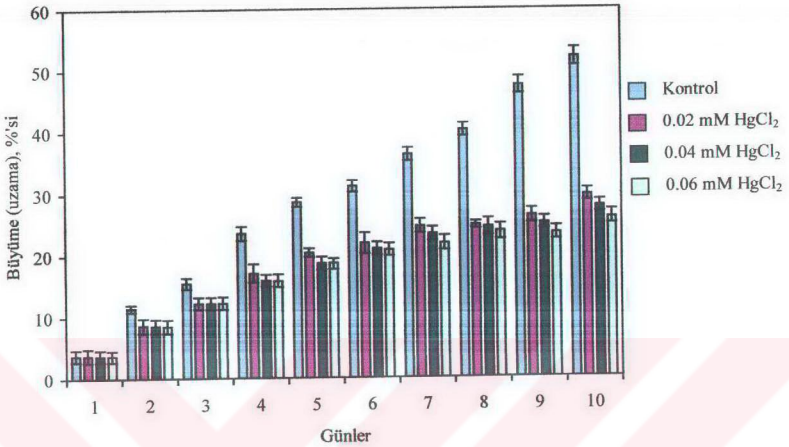


Kontrol 0.02 mM HgCl₂ 0.04 mM HgCl₂ 0.06 mM HgCl₂

Şekil 3.1.13. On gün süreyle farklı konsantrasyonlarda cıva uygulanan fasulye fidelerinin genel görünümü.

Tablo 3.1.10. 10 gün süreyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.02 mM HgCl ₂ (% Büyüme)	0.04 mM HgCl ₂ (% Büyüme)	0.06 mM HgCl ₂ (% Büyüme)
1.	3,75 ± 1,00	3,74 ± 1,09	3,68 ± 0,98	3,69 ± 0,83
2.	11,42 ± 0,61	8,58 ± 1,20	8,52 ± 1,14	8,50 ± 1,11
3.	15,46 ± 0,92	12,22 ± 0,96	12,22 ± 0,97	12,21 ± 1,05
4.	23,55 ± 1,13	17,08 ± 1,48	15,88 ± 0,97	15,79 ± 1,11
5.	28,61 ± 0,75	20,38 ± 0,70	18,65 ± 1,06	18,73 ± 0,68
6.	31,18 ± 0,95	21,89 ± 1,72	21,01 ± 1,02	20,83 ± 1,03
7.	36,32 ± 1,08	24,65 ± 1,13	23,38 ± 1,14	21,87 ± 1,25
8.	40,30 ± 1,06	24,81 ± 0,60	24,51 ± 1,40	23,82 ± 1,14
9.	47,54 ± 1,39	26,29 ± 1,17	25,13 ± 1,02	23,42 ± 1,12
10.	52,12 ± 1,46	29,65 ± 1,03	27,82 ± 0,96	25,84 ± 1,35

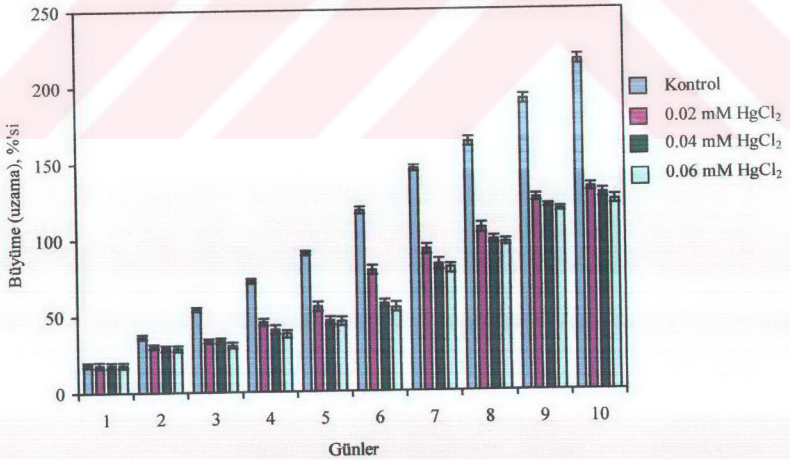


Şekil 3.1.14. 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen kök büyüme (uzama) yüzdeleri.

0.02, 0.04 ve 0.06 mM civa tuzu içeren Hoagland solüsyonlarında on gün süreyle büyütülen fasulye fidelerinin kök uzunlukları uygulamanın ikinci gününde kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %24.86, %25.39 ve %25.56 oranlarında daha az olmuş (Şekil 3.1.14) ve bu değerler $p < 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Deney gruplarının kendi aralarında istatistik olarak ($p > 0.05$) bir farklılık görülmemiştir. On günlük uygulama süresinin sonunda yapılan ölçümler 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ solüsyonlarının fidelerin kök uzunluğunu kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %43.11, %46.62 ve %50.42 oranlarında azalttığını ($p < 0.05$) göstermiştir. Ayrıca deney gruplarının kendi aralarında önemli sayılabilecek farklılıkların olduğu ($p < 0.05$) tespit edilmiştir.

Tablo 3.1.11. 10 gün süreyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.02 mM HgCl ₂ (% Büyüme)	0.04 mM HgCl ₂ (% Büyüme)	0.06 mM HgCl ₂ (% Büyüme)
1.	18,39 ± 1,51	17,97 ± 2,07	18,03 ± 1,93	18,01 ± 1,84
2.	36,41 ± 1,56	30,08 ± 1,39	28,95 ± 1,79	28,72 ± 2,18
3.	54,37 ± 1,35	33,63 ± 1,45	33,83 ± 1,67	30,37 ± 2,28
4.	72,58 ± 1,42	45,51 ± 2,17	40,80 ± 2,69	38,18 ± 1,96
5.	90,59 ± 1,52	55,65 ± 3,19	46,37 ± 2,68	45,84 ± 2,89
6.	118,29 ± 2,28	79,13 ± 3,00	57,33 ± 2,50	54,57 ± 3,65
7.	145,69 ± 2,05	92,75 ± 3,21	82,84 ± 3,80	80,82 ± 2,29
8.	163,04 ± 3,06	106,53 ± 3,29	98,78 ± 2,36	97,03 ± 2,11
9.	190,75 ± 3,00	125,91 ± 2,44	120,70 ± 1,33	118,20 ± 1,82
10.	216,42 ± 3,46	132,48 ± 2,55	128,56 ± 2,87	124,11 ± 3,04

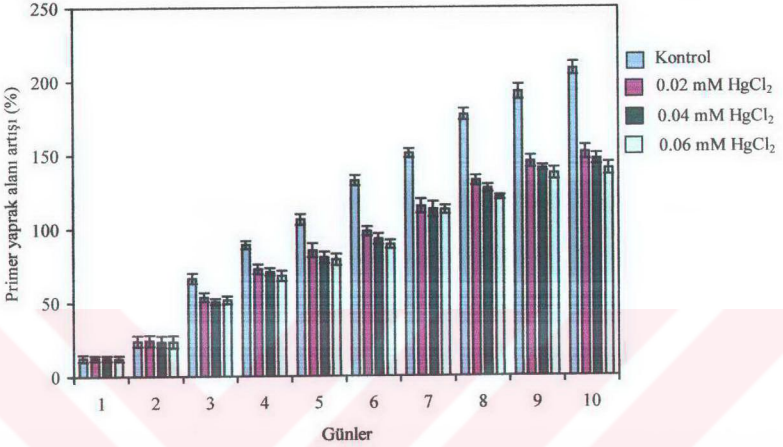


Şekil 3.1.15. 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı ölçülen gövde büyüme (uzama) yüzdeleri.

Fasulye fidelerinin gövde uzunluklarını 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 konsantrasyonları uygulamanın ikinci gününde kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %17.38, %20.48 ve %21.12 oranlarında; uygulamanın onuncu gününde yine kontrol bitkilerine göre ve sırasıyla %38.78, %40.59 ve %42.65 oranlarında azaltmış (Şekil 3.1.15) ve bu değerler istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca bu parametre açısından genel olarak deney gruplarının kendi aralarında önemli sayılabilecek farklılıkların olduğu ($p < 0.05$) ortaya çıkmıştır.

Tablo 3.1.12. 10 gün süreyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 uygulanan fasulye fidelerinin, uygulamanın başlangıcı baz alınarak, gün aşırı tespit edilen yaprak alanı artışı yüzdeleri.

Günler	Kontrol (% Büyüme)	0.02 mM HgCl_2 (% Büyüme)	0.04 mM HgCl_2 (% Büyüme)	0.06 mM HgCl_2 (% Büyüme)
1.	12,41 ± 2,23	12,43 ± 1,82	12,34 ± 1,76	12,23 ± 1,91
2.	24,53 ± 3,72	24,23 ± 3,69	23,54 ± 4,03	23,49 ± 4,17
3.	66,48 ± 3,41	53,61 ± 3,03	50,51 ± 2,05	51,67 ± 2,53
4.	89,20 ± 2,64	72,71 ± 3,32	70,91 ± 2,63	68,08 ± 3,48
5.	106,22 ± 3,72	85,39 ± 4,85	80,53 ± 3,89	79,12 ± 3,94
6.	132,72 ± 3,48	98,26 ± 3,19	92,94 ± 3,56	89,35 ± 2,90
7.	151,02 ± 3,02	115,13 ± 4,85	112,97 ± 5,21	112,65 ± 2,86
8.	177,25 ± 3,85	132,60 ± 3,31	127,08 ± 2,60	121,04 ± 1,63
9.	192,75 ± 5,05	145,35 ± 3,97	140,88 ± 1,88	137,30 ± 4,14
10.	208,52 ± 4,46	151,65 ± 4,75	147,12 ± 3,88	140,59 ± 4,32



Şekil 3.1.16. 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin 10 gün süreyle, gün aşırı belirlenen yaprak alanı artışı yüzdeleri.

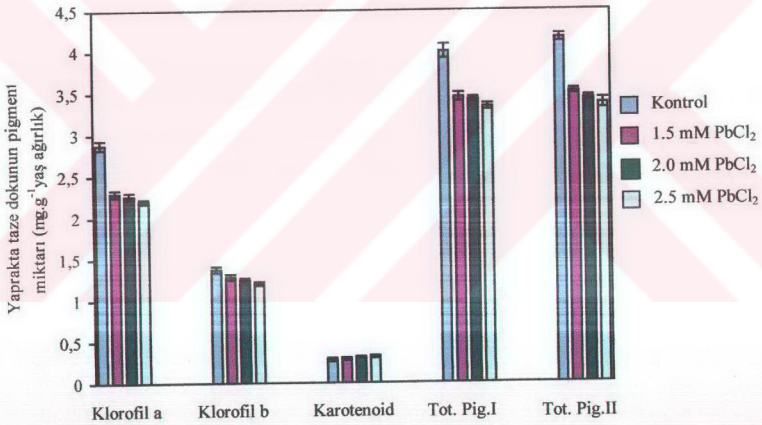
0.02, 0.04 ve 0.06 mM civa tuzu içeren Hoagland solüsyonlarıyla büyütülen fasulye fidelerinin primer yaprak alanları uygulamanın ikinci gününde kontrollere göre, sırasıyla %1.22, %4.03 ve %4.23 oranlarında daha az artmış, fakat bu değerler istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). On günlük uygulama süresinin sonuna doğru bu ağır metalin yaprak büyümesi üzerindeki engelleyici etkisi daha belirgin olarak kendini göstermiştir ($p<0.05$). Mesela uygulamanın onuncu gününde 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fidelerin yaprak büyümeleri (alanları) kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %27.27, %29.44 ve %32.57 oranlarında az olmuştur ($p<0.05$).

3.2. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Pigment Miktarı Üzerine Etkileri

Uygulanan ağır metallerin fasulye fidelerinin primer yapraklarındaki klorofil a, klorofil b, karotenoidler, total pigment I ve total pigment II miktarları üzerine önemli etkileri olmuştur. Her dört ağır metal de karotenoidler dışındaki pigmentlerin miktarını azaltmıştır ($p<0.05$, $p<0.01$).

Kurşun

Kurşunun klorofil a, klorofil b, karotenoidler, total pigment I ve total pigment II miktarları üzerine olan etkileri Şekil 3.2.1 de verilmiştir.



Şekil 3.2.1. On gün süreyle 1.5, 2 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinde taze dokunun gramı başına mg olarak hesaplanan pigment miktarları.

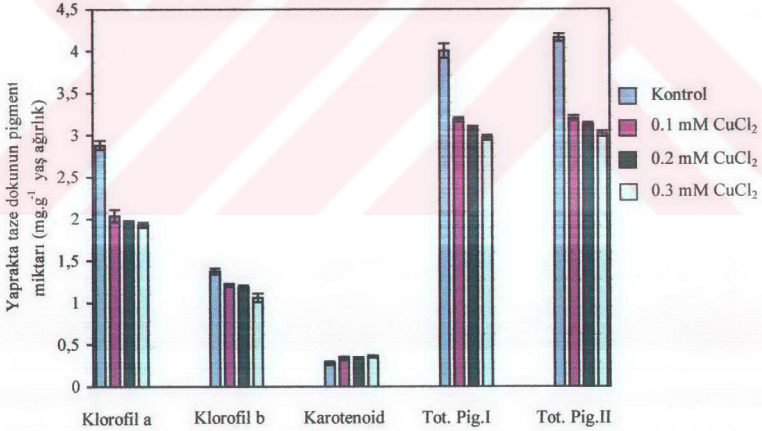
Her üç kurşun konsantrasyonu (1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂) da klorofil a, klorofil b ve total pigment miktarlarını kontrole göre önemli sayılabilecek oranlarda ($p<0.05$) azaltmıştır. Bu durumla kurşun konsantrasyonundaki artış arasında bir paralellik olduğu görülmüştür. 1.5 mM PbCl₂ uygulanan fidelerin yapraklarındaki klorofil a, klorofil b,

total pigment I ve II miktarları kontrol fidelerine göre sırasıyla %20, %6, %13 ve %15 oranlarında azalmıştır ($p<0.05$). Bu değerler 2.0 mM $PbCl_2$ uygulanan fideler için %21, %9, %14 ve %17; 2.5 mM $PbCl_2$ uygulanan fideler için %23, %12, %16 ve %23 olarak ölçülmüştür ($p<0.05$).

Klorofil miktarındaki bulguların tersine, uygulanan en düşük kurşun konsantrasyonu bile karotenoid miktarını artırmıştır ($p<0.05$). Karotenoid miktarı 1.5, 2.0 ve 2.5 mM $PbCl_2$ uygulanan fidelerde kontrole göre, sırasıyla %4, %11 ve %11 oranlarında artış göstermiştir ($p<0.05$).

Bakır

Bakırın klorofil a, klorofil b, karotenoidler, total pigment I ve total pigment II miktarları üzerine olan etkileri Şekil 3.2.2 de verilmiştir.



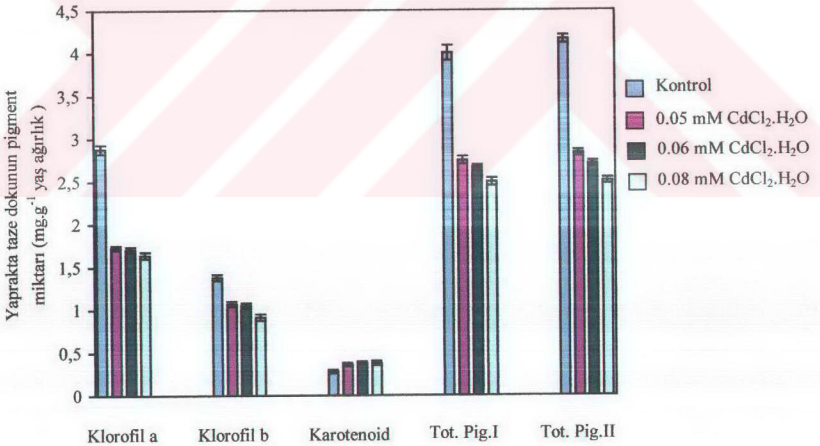
Şekil 3.2.2. On gün süreyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM $CuCl_2$ uygulanan fasulye fidelerinde taze dokunun gramı başına mg olarak hesaplanan pigment miktarları.

Uygulanan bakır konsantrasyonlarının her üçü de karotenoidler dışındaki pigmentlerin düzeyinde önemli ($p<0.05$) azalmalara sebep olmuştur. 0.1 mM CuCl_2 uygulanan fidelerdeki klorofil a, klorofil b, total pigment I ve II miktarları kontrol fidelerine göre sırasıyla, %29, %12, %21 ve %23 oranlarında azalmıştır ($p<0.05$). Bu değerler 0.2 mM CuCl_2 uygulanan fideler için %31, %14, %23 ve %25; 0.3 mM CuCl_2 uygulanan fideler için %33, %23, %26 ve %26 olarak ölçülmüştür ($p<0.05$).

Karotenoid miktarı, uygulanan en düşük bakır konsantrasyonunda bile kontrole % 18 oranında artmıştır ($p<0.05$). Bu değer 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 konsantrasyonları için sırasıyla, % 21, % 25 olarak tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Kadmiyum

Kadmiyumun klorofil a, klorofil b, karotenoidler, total pigment I ve total pigment II miktarları üzerine olan etkileri Şekil 3.2.3 de verilmiştir.



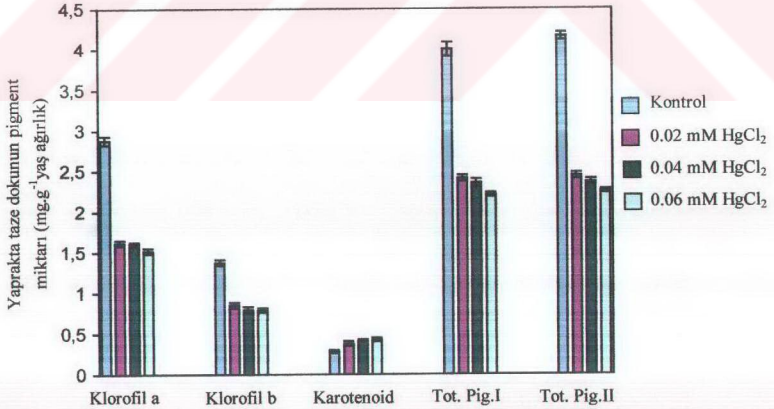
Şekil 3.2.3. On gün süreyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fasulye fidelerinde taze dokunun gramı başına mg olarak hesaplanan pigment miktarları.

Bu histogramdan da görüldüğü gibi kadmiyum uygulaması fasulye yapraklarındaki pigment miktarları üzerinde önemli etkilerde bulunmuştur. Önceki iki elementte olduğu gibi kadmiyum da karotenoidler dışındaki pigmentlerin miktarını azaltmıştır. 0.05 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ klorofil a miktarını kontrol bitkilerine göre % 40 oranında azaltmış ($p < 0.05$) ve bu değer 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ için % 41 ve % 43 olarak belirlenmiştir ($p < 0.05$). 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fidelerdeki klorofil b, total pigment I ve II miktarı kontrol bitkilerine göre sırasıyla, %22, %23 ve %33 ($p < 0.05$); %32, %34 ve %38 ($p < 0.05$); %32, %36 ve %40 ($p < 0.05$) olarak ölçülmüştür.

Karotenoid miktarı kadmiyum uygulamasına bağlı olarak önemli ($p < 0.05$) artışlar göstermiştir. 0.05, 0.06 ve 0.08 mM $\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ uygulanan fidelerdeki karotenoid miktarı kontrol bitkilerine göre sırasıyla, %29, %30 ve %32 daha fazla çıkmıştır.

Civa

Civanın klorofil a, klorofil b, karotenoidler, total pigment I ve total pigment II miktarları üzerine olan etkileri Şekil 3.2.4 de verilmiştir.



Şekil 3.2.4. On gün süreyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 uygulanan fasulye fidelerinde taze dokunun gramı başına mg olarak hesaplanan pigment miktarları.

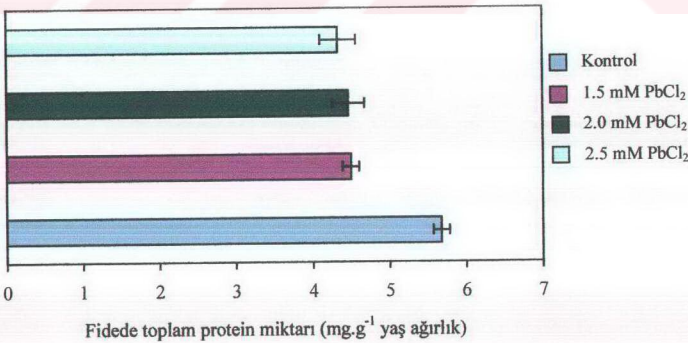
Civa uygulaması önceki üç ağır metalde olduğu gibi klorofil a, klorofil b ve total pigment miktarlarını azaltmış, karotenoid miktarını ise artırmıştır. 0.02 mM HgCl_2 uygulanan fidelerin yapraklarındaki klorofil a, klorofil b, total pigment I ve II miktarları kontrol fidelerine göre sırasıyla %44, %38, %40 ve %41 oranlarında azalmıştır ($p<0.05$). Bu değerler 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 uygulanan fideler için %45, %43, %41 ve %43; %48, %45, %45 ve %46 olarak ölçülmüştür ($p<0.05$). Civa uygulaması yapraklardaki karotenoid miktarını önemli oranda ($p<0.05$) artırmıştır. 0.02 mM civa tuzu içeren besin solüsyonunda büyümeye bırakılan fidelerin karotenoid düzeyleri kontrol bitkilerine göre % 36 'lık artış göstermiştir ($p<0.05$). Bu oran 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 içeren solüsyonda gelişen fidelerde % 46 ve % 50 gibi çok yüksek bir değere ulaşmıştır ($p<0.05$).

3.3. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Fidelerdeki Protein Miktarı Üzerine Etkileri

Uygulanan ağır metallerin dördü de fasulye fidelerindeki protein miktarını önemli sayılabilecek ($p<0.05$, $p<0.01$) oranlarda azaltmıştır.

Kurşun

Kurşunun protein miktarı üzerine etkisi Şekil 3.3.1 de verilmiştir.

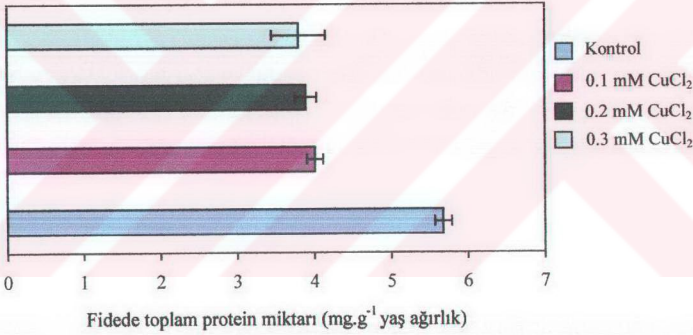


Şekil 3.3.1. 10 gün süreyle kurşun uygulanan fasulye fidelerinde yaş dokunun gramı başını ekstre edilen protein miktarı (mg.g^{-1} yaş ağırlık).

Bu şekildeki bulgulardan da anlaşılabacağı gibi her üç kurşun konsantrasyonu da fidelerin total protein miktarını kontrole göre önemli oranlarda ($p < 0.01$) azaltmıştır. Bu durumla kurşun konsantrasyonundaki artış arasında bir paralellik olduğu görülmüştür. 1.5, 2.0 ve 2.5 mM kurşun konsantrasyonları uygulanan fidelerin toplam protein miktarı kontrol grubu fidelerine göre, sırasıyla %12, %21 ve %24 oranlarında azalmış (Şekil 3.3.1) ve bu değerler önemli ($p < 0.01$) bulunmuştur.

Bakır

Bakır tuzunun protein miktarı üzerine etkisi Şekil 3.3.2 de verilmiştir.

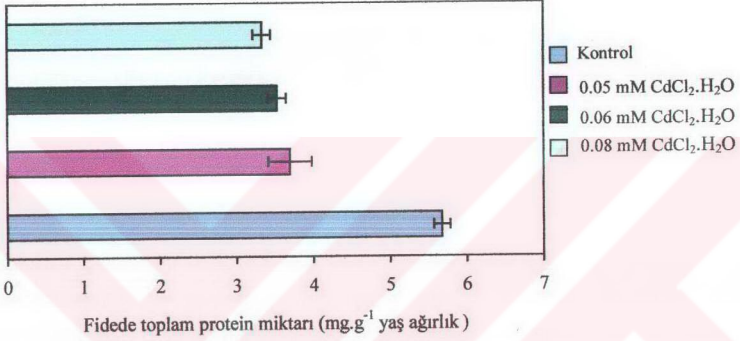


Şekil 3.3.2. 10 gün süreyle bakır uygulanan fasulye fidelerinde yaş dokunun gramı başını ekstre edilen protein miktarı (mg.g⁻¹ yaş ağırlık).

Bu şeklin incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi 0.1 mM, 0.2 mM ve 0.3 mM bakır konsantrasyonları uygulanan fidelerin toplam protein miktarları kontrol grubu fidelerine göre, sırasıyla %29, %32 ve %36 oranlarında daha az çıkmıştır ($p < 0.01$).

Kadmiyum

Kadmiyumun fasulye fidelerinin toplam protein miktarı üzerine etkisi Şekil 3.3.3 de verilmiştir.

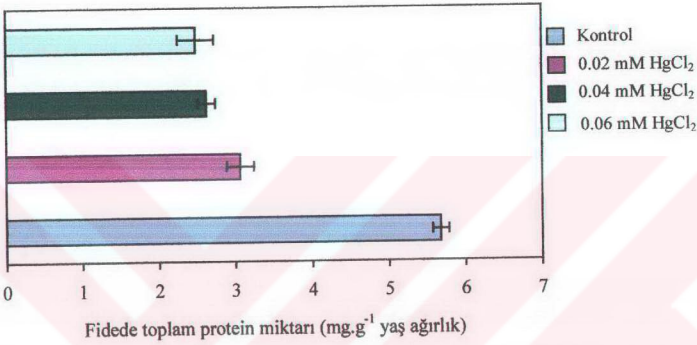


Şekil 3.3.3. 10 gün süreyle kadmiyum uygulanan fasulye fidelerinde yaş dokunun gramı başını ekstre edilen protein miktarı (mg.g⁻¹ yaş ağırlık).

On gün süreyle uygulanan CdCl₂.H₂O konsantrasyonlarının her üçü de toplam protein düzeyinde önemli ($p < 0.01$) azalmalara sebep olmuştur. 0.05 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fidelerdeki protein miktarı kontrol bitkilerine göre %41 oranında azalmıştır ($p < 0.01$). Bu değerler 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O konsantrasyonları için, sırasıyla %46 ve %47 olarak tespit edilmiştir.

Civa

Fasulye fidelerindeki toplam protein miktarında, civa tuzu uygulamasına bağlı olarak meydana gelen değişiklikler Şekil 3.3.4 de verilmiştir.



Şekil 3.3.4. 10 gün süreyle civa uygulanan fasulye fidelerinde yaş dokunun gramı başını ekstre edilen protein miktarı (mg.g⁻¹ yaş ağırlık).

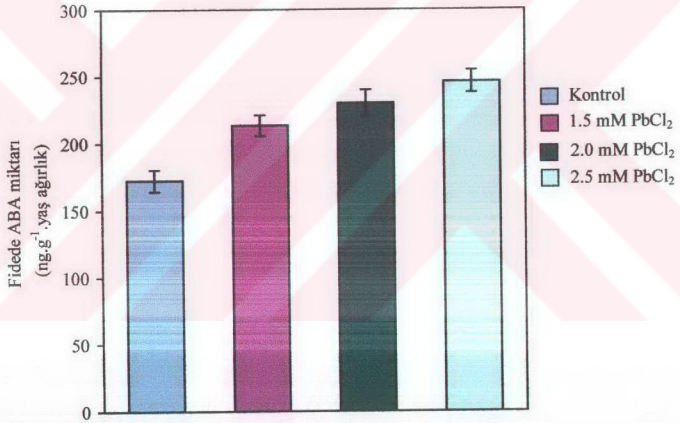
Bu şeklin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi çeşitli konsantrasyonlarda civa tuzu uygulanan fidelerin toplam protein miktarında bir azalma görülmüştür. 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fidelerin toplam protein miktarı kontrol grubuna göre, sırasıyla; % 49, % 54 ve %56 oranlarında azalmış ve bu değerler önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Bu parametre açısından deney gruplarının kendi aralarında önemli ($p < 0.05$) sayılabilecek farklılıklar görülmüştür.

3.4. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Fidelerdeki Absisik Asit (ABA) Miktarı Üzerine Etkileri

Uygulanan ağır metallerin fasulye fidelerindeki absisik asit (ABA) miktarı üzerine önemli etkileri olmuştur. Her dört ağır metal de fidelerdeki ABA miktarını artırmıştır ($p<0.05$, $p<0.01$).

Kurşun

Kurşun ağır metalinin fasulye fidelerindeki ABA miktarı üzerine olan etkisi Şekil 3.4.1 de verilmiştir.

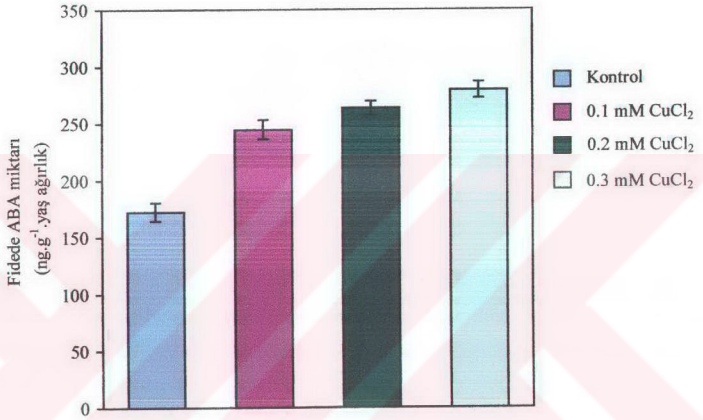


Şekil 3.4.1. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin ABA içerikleri (ng.g⁻¹ yaş ağırlık).

Bu şekilden de anlaşılacağı gibi fidelerin absisik asit (ABA) düzeyleri kurşun tuzunun konsantrasyonundaki artışla birlikte yükselmiştir. 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fidelerdeki ABA miktarı kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %23.79, %33.46 ve %42.74 daha fazla çıkmıştır ($p<0.01$).

Bakır

Bakırın fasulye fidelerindeki ABA miktarı üzerine etkisi Şekil 3.4.2 de verilmiştir.

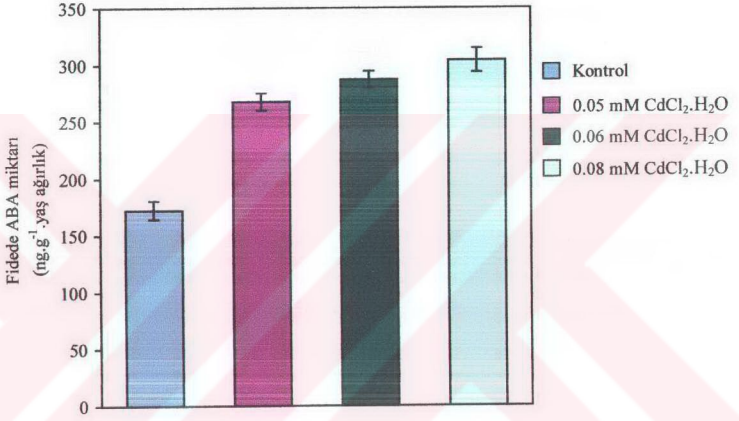


Şekil 3.4.2. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda CuCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin ABA içerikleri (ng.g⁻¹ yaş ağırlık).

Görüldüğü gibi uygulanan her üç bakır konsantrasyonu da ABA miktarını kontrol bitkilerine göre önemli sayılabilecek oranlarda ($p < 0.01$) arttırmıştır (Şekil 3.4.2). Bu artış, bakır tuzunun yüksek konsantrasyonlarında daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır. 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ uygulanan fidelerin ABA miktarı kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %41.97, %52.87 ve %62.10 oranlarında daha fazla çıkmıştır ($p < 0.01$).

Kadmiyum

Kadmiyum uygulamasına bağılı olarak fidelerin endogen ABA seviyelerinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.4.3 de verilmiştir.

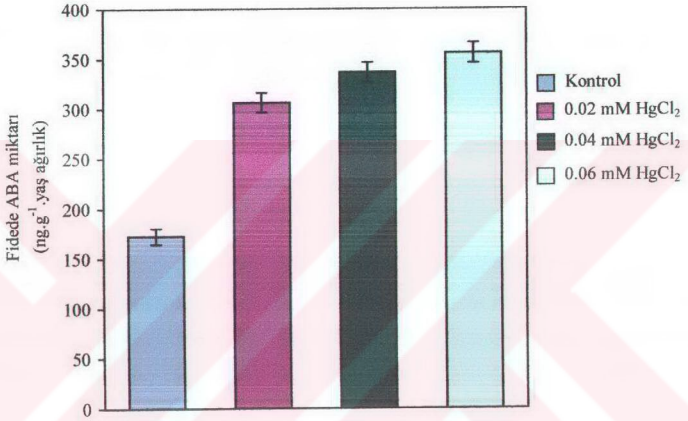


Şekil 3.4.3. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda CdCl₂.H₂O uygulanan fasulye fidelerinin ABA içerikleri (ng.g⁻¹ yaş ağırlık).

Görüldüğü gibi uygulanan CdCl₂.H₂O konsantrasyonlarının her üçü de fidelerin ABA içeriklerinde önemli artışlara sebep olmuştur. 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fidelerdeki ABA miktarı kontrol fidelerine göre, sırasıyla %55.26, %66.54 ve %76.40 oranlarında daha yüksek çıkmıştır ($p < 0.01$).

Civa

Fasulye fidelerinin endogen ABA düzeylerinde, civa tuzu uygulamasına bağlı olarak meydana gelen değişiklikler Şekil 3.4.4 de verilmiştir.



Şekil 3.4.4. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin ABA içerikleri (ng.g⁻¹ yaş ağırlık).

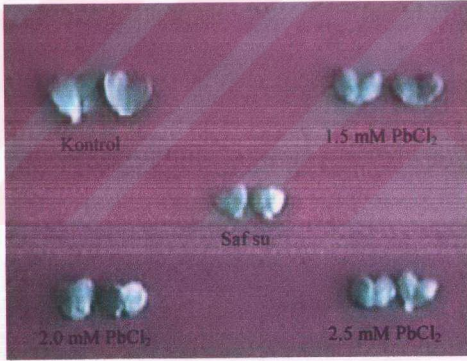
Bu şekildeki verilerden anlaşılaacağı gibi civa uygulaması fidelerdeki ABA miktarını önemli oranda arttırmıştır. 0.02, 0.04 ve 0.06 mM civa tuzu içeren besin solüsyonunda büyümeye bırakılan fidelerin ABA düzeyleri kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %77.76, %95.38 ve %106.42 daha yüksek çıkmıştır ($p < 0.01$).

3.5. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Fidelerdeki Sitokinin Düzeyi Üzerine Etkileri

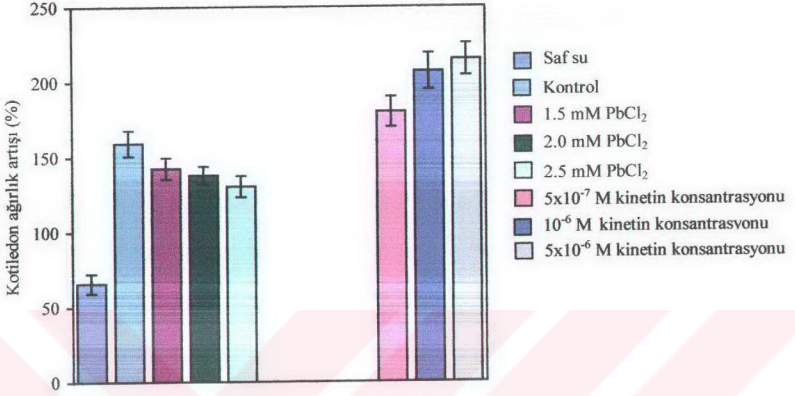
Uygulanan her dört ağır metalin de fasulye fidelerinde, turp kotiledonu genişleme testi ile saptanan sitokinin düzeyini önemli sayılabilecek düzeylerde ($p<0.05$, $p<0.01$) azalttığı tespit edilmiştir.

Kurşun

Kurşun uygulamasına bağlı olarak fidelerin sitokinin düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.5.1 ve Şekil 3.5.2' de gösterilmiştir.



Şekil 3.5.1. On gün süreyle kurşun uygulanan fasulye fidelerinden elde edilen ekstrelerin bazik maddeleri içeren su fazlarında, 500 lüks ışık altında ve 60 saat süreyle bekletilen turp kotiledonlarının genel görünüşleri.



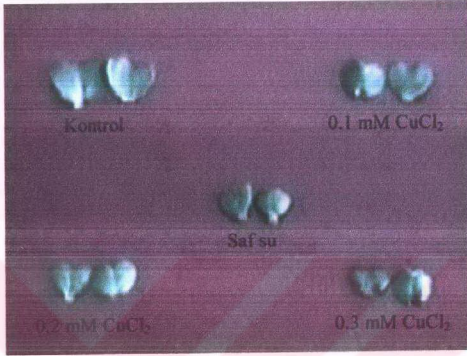
Şekil 3.5.2. Kontrol, 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerden 10. gün sonunda elde edilen ekstrelerin bazik maddelerini içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile belirlenen sitokinin aktiviteleri (%).

Bu şekilden de görüleceği üzere kurşun uygulaması fasulye fidelerdeki sitokinin düzeyi üzerine önemli etkiler yapmıştır. 10 ml saf suda, ayrıca kontrol grubu fideleriyle 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ solüsyonlarında büyütülmüş fidelerden elde edilen 10'ar ml'lik su fazlarında 60 saat süreyle devamlı flouresans ışığı altında bekletilen turp kotiledonlarının ağırlık artışı oranları, sırasıyla %66 ± 6.55, %159.33 ± 8.5, %142.66 ± 7.09, %138 ± 6 ve %130.33 ± 7.09 olarak tespit edilmiştir. Kalibrasyon amacıyla kullanılan kinetin çözeltilerinin sağladıkları kotiledon ağırlığı artışları baz alındığında kontrol fideleriyle, 1.5, 2.0 ve 2.5 mM PbCl₂ solüsyonlarında büyütülmüş fidelerin sitokinin içerikleri sırasıyla, 1.83×10^{-7} , 4.42×10^{-7} , 3.96×10^{-7} , 3.83×10^{-7} ve 3.62×10^{-7} M olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar kurşun uygulamasının fidelerin sitokinin düzeyini azalttığını ($p < 0.05$) ve bu durumun kurşun konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak daha belirgin olarak ortaya çıktığını göstermektedir.

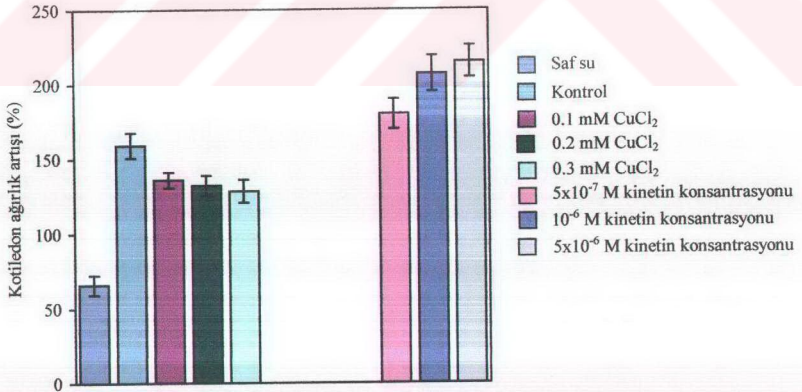
Bakır

Bakır tuzu uygulamasının fasulye fidelerindeki sitokinin miktarı üzerine etkileri

Şekil 3.5.3 ve Şekil 3.5.4.'de verilmiştir.



Şekil 3.5.3. On gün süreyle bakır uygulanan fasulye fidelerinden elde edilen ekstraktların bazik maddeleri içeren su fazlarında, 500 lüks ışık altında ve 60 saat süreyle bekletilen turp kotiledonlarının genel görüntüleri.

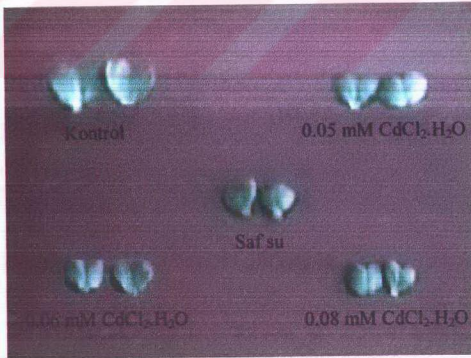


Şekil 3.5.4. Kontrol, 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl₂ uygulanan fasulye fidelerden 10. gün sonunda elde edilen ekstraktların bazik maddelerini içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile belirlenen sitokin aktivite (%)

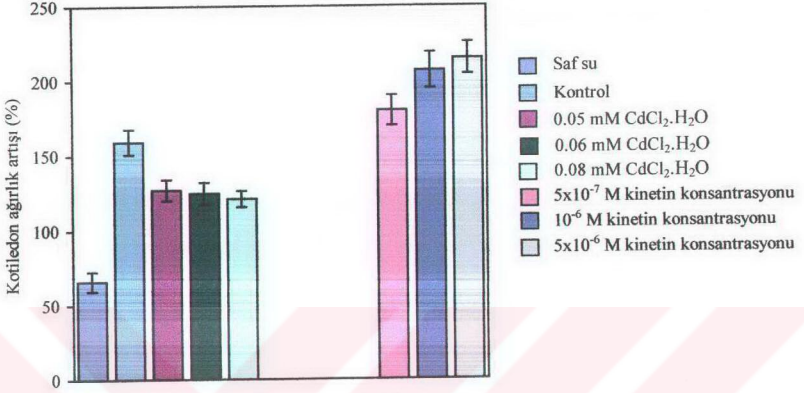
Bu histogramda da görüldüğü gibi bakır uygulaması fasulye fidelerdeki sitokinin düzeyi üzerine önemli etkiler yapmıştır. 10 ml saf suda, ayrıca kontrol grubu fideleriyle, 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 solüsyonlarında büyütülmüş fidelerden elde edilen 10'ar ml'lik su fazlarında 60 saat süreyle devamlı flouresans ışığı altında bekletilen turp kotiledonlarının ağırlık artışı oranları, sırasıyla $\%66 \pm 6.55$, $\%159.33 \pm 8.5$, $\%136 \pm 5.29$, $\%132.33 \pm 7.63$ ve $\%128.33 \pm 7.63$ olarak tespit edilmiştir. Kalibrasyon amacıyla kullanılan kinetin çözeltilerinin sağladıkları kotiledon ağırlığı artışları baz alındığında kontrol fideleriyle 0.1, 0.2 ve 0.3 mM CuCl_2 solüsyonlarında büyütülmüş fidelerin sitokinin içerikleri sırasıyla 1.83×10^{-7} , 4.42×10^{-7} , 3.77×10^{-7} , 3.66×10^{-7} ve 3.55×10^{-7} M olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar bakır uygulamasının fidelerin sitokinin düzeyini azalttığını ($p < 0.01$) ve bu durumun bakır konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak daha belirgin olarak ortaya çıktığını göstermektedir.

Kadmiyum

Kadmiyum tuzu uygulanan fasulye fidelerinin sitokinin miktarında meydana gelen değişiklikler Şekil 3.5.5 ve Şekil 3.5.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.5.5. On gün süreyle kadmiyum uygulanan fasulye fidelerinden elde edilen ekstraktların bazik maddeleri içeren su fazlarında, 500 lüks ışık altında ve 60 saat süreyle bekletilen turp kotiledonlarının genel görünüşleri.

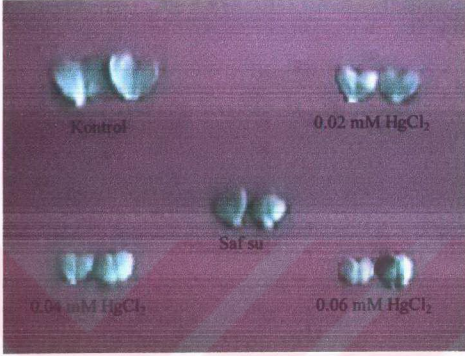


Şekil 3.5.6. Kontrol, 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fasulye fidelerden 10. gün sonunda elde edilen ekstrelerin bazı maddelerini içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile belirlenen sitokinin aktiviteleri (%).

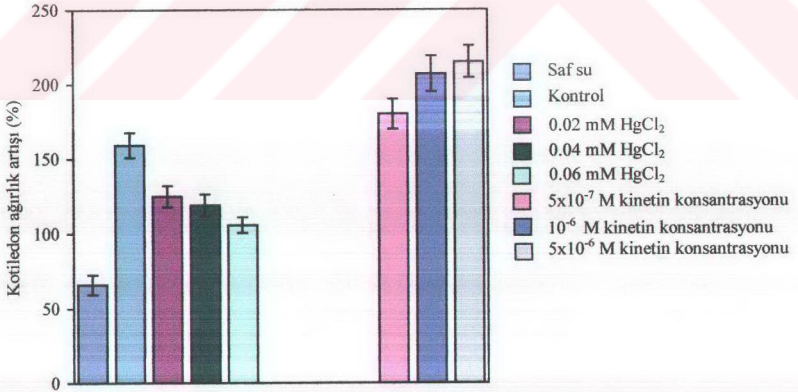
Şekil 3.5.6' nın incelenmesinden de anlaşılacağı gibi kadmiyum uygulaması sitokinin düzeyi üzerine önemli etkiler yapmıştır. 10 ml saf suda, ayrıca kontrol grubu fideleriyle, 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O solüsyonlarında büyütülmüş fidelerden elde edilen 10'ar ml'lik su fazlarında 60 saat süreyle devamlı flouresans ışığı altında bekletilen turp kotiledonlarının ağırlık artışı oranları, sırasıyla 66 ± 6.55 , 159.33 ± 8.5 , 127 ± 7 , 124.67 ± 7.51 ve 121 ± 5.29 olarak tespit edilmiştir. Kalibrasyon amacıyla kullanılan kinetin çözeltilerinin sağladıkları kotiledon ağırlığı artışları baz alındığında kontrol fideleriyle 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O solüsyonlarında büyütülmüş fidelerin sitokinin içerikleri sırasıyla 1.83×10^{-7} , 4.42×10^{-7} , 3.52×10^{-7} , 3.44×10^{-7} ve 3.36×10^{-7} M olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar kadmiyum uygulamasının fidelerin sitokinin düzeyini azalttığını ($p < 0.01$) ve bu durumun kadmiyum konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak daha belirgin olarak ortaya çıktığını göstermektedir.

Civa

Civa uygulamasına bağlı olarak sitokinin düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.5.7 ve Şekil 3.5.8' de verilmiştir.



Şekil 3.5.7. On gün süreyle civa uygulanan fasulye fidelerinden elde edilen ekstraktların bazik maddeleri içeren su fazlarında, 500 lüks ışık altında ve 60 saat süreyle bekletilen turp kotiledonlarının genel görünümü.



Şekil 3.5.8. Kontrol, 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerden 10. gün sonunda elde edilen ekstraktların bazik maddelerini içeren su fazlarında, turp kotiledonu genişleme biyotesti ile belirlenen sitokinin aktivite (%)

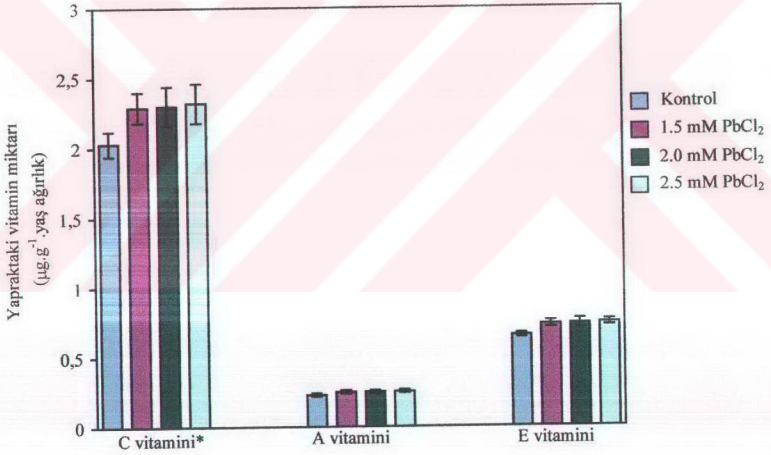
Bu şekilden de görüleceği üzere civa uygulaması sitokinin düzeyi üzerine önemli etkiler yapmıştır. 10 ml saf suda, ayrıca kontrol grubu fideleriyle, 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 solüsyonlarında büyütülmüş fidelerden elde edilen 10'ar ml'lik su fazlarında 60 saat süreyle devamlı flouresans ışığı altında bekletilen turp kotiledonlarının ağırlık artışı oranları, sırasıyla 66 ± 6.55 , 159.33 ± 8.5 , 125 ± 9.5 , 119 ± 8.54 ve 105.67 ± 5.51 olarak tespit edilmiştir. Kalibrasyon amacıyla kullanılan kinetin çözeltilerinin sağladıkları kotiledon ağırlığı artışları baz alındığında kontrol fideleriyle 0.02, 0.04 ve 0.06 mM HgCl_2 solüsyonlarında büyütülmüş fidelerin sitokinin içerikleri sırasıyla 1.83×10^{-7} , 4.42×10^{-7} , 3.47×10^{-7} , 3.30×10^{-7} ve 2.77×10^{-7} M olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar civa uygulamasının fidelerin sitokinin düzeyini azalttığını ($p < 0.05$) ve bu durumun civa konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak daha belirgin olarak ortaya çıktığını göstermektedir.

3.6. Ağır Metallerin (Pb, Cu, Cd ve Hg) Fidelerin Vitamin Miktarı Üzerine Etkileri

Kurşun, bakır, kadmiyum ve civa uygulaması fasulye fidelerinin antioksidan vitamin (A, E ve C) miktarları üzerine önemli etkiler yapmıştır. Her dört ağır metal de bu vitaminlerin düzeyinde artışa ($p<0.05$, $p<0.01$) yol açmıştır. Geri kazanım (recovery) oranları A vitamini için %96.2, E vitamini için %96.5 ve C vitamini için %95.7 olarak belirlenmiştir.

Kurşun

Kurşun uygulamasına bağlı olarak vitamin (C, A ve E) düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.6.1' de verilmiştir.



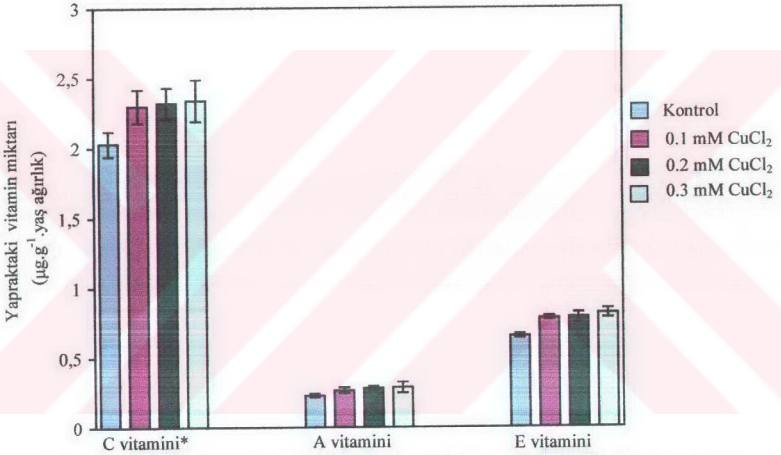
Şekil 3.6.1. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda PbCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin yapraklarındaki A, E ve C vitamini düzeyleri ($\mu\text{g.g}^{-1}$ yaş ağırlık). *C vitamini değerleri 10^{-1} ile çarpılmıştır.

Bu şekilden de görüleceği üzere kurşun uygulaması fidelerin yapraklarındaki vitamin içeriklerinde önemli sayılabilecek değişiklikler meydana getirmiştir. 1.5 mM PbCl₂ uygulanan fidelerin yapraklarındaki A, E ve C vitamini miktarları kontrol

fidelerine göre sırasıyla %9.60, %12.13 ve %12.72 oranlarında artmıştır ($p<0.05$). Bu değerler 2.0 mM $PbCl_2$ uygulanan fideler için %10.08, %12.90 ve %13.24, 2.5 mM $PbCl_2$ uygulanan fideler için %10.96, %13.67 ve %14.22 olarak ölçülmüştür ($p<0.05$).

Bakır

Bakır tuzu uygulamasının fasulye fidelerinin yapraklarındaki vitamin miktarları üzerine etkileri Şekil 3.6.2. de verilmiştir.

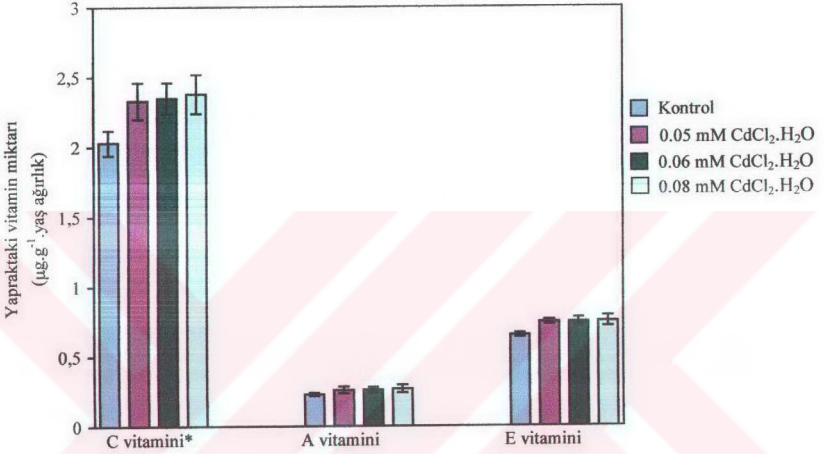


Şekil 3.6.2. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda $CuCl_2$ uygulanan fasulye fidelerinin vitamin içerikleri ($\mu g \cdot g^{-1}$ yaş ağırlık). *C vitamini değerleri 10^{-1} ile çarpılmıştır.

Uygulanan bakır konsantrasyonlarının her üçü de fidelerin yapraklarındaki vitamin düzeyinde önemli ($p<0.05$) artışlara sebep olmuştur. 0.1 mM $CuCl_2$ uygulanan fidelerin yapraklarındaki A, E ve C vitamini miktarları kontrol fidelerinin yapraklarındaki vitamin düzeylerine göre, sırasıyla %13.15, %13.67 ve %13.24 oranlarında artmıştır ($p<0.05$). Bu değerler 0.2 mM $CuCl_2$ uygulanan fideler için %13.59, %13.82, ve %14.22, 0.3 mM $CuCl_2$ uygulanan fideler için %14.47, %14.28 ve %15.21 olarak ölçülmüştür ($p<0.05$).

Kadmiyum

Kadmiyum uygulamasına bağı olarak fasulye fidelerinin yapraklarındaki vitamin düzeylerinde meydana gelen değişiklikler Şekil 3.6.3.' de verilmiştir.

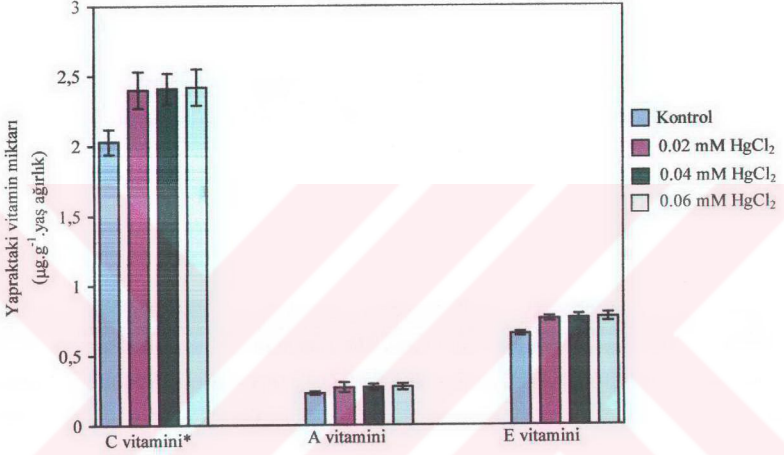


Şekil 3.6.3. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda CdCl₂.H₂O uygulanan fasulye fidelerinin vitamin içerikleri (µg.g⁻¹ yaş ağırlık). *C vitamini değerleri 10⁻¹ ile çarpılmıştır.

Bu histogramda da görüldüğü gibi kadmiyum uygulaması fasulye yapraklarındaki A, E ve C vitaminlerinin miktarları üzerinde önemli etkilerde bulunmuştur. Önceki iki elementte olduğu gibi kadmiyum da bu vitaminlerin miktarını artırmıştır. 0.05 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fidelerin yapraklarındaki A vitamini miktarı kontrol bitkilerine göre %13.59 oranında artmış ($p < 0.05$) ve bu değer 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fideler için %14.47 ve %16.22 olarak belirlenmiştir ($p < 0.05$). 0.05, 0.06 ve 0.08 mM CdCl₂.H₂O uygulanan fidelerin yapraklarındaki E ve C vitamini miktarı kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %14.43 ve %14.72 ($p < 0.05$), %14.74 ve 15.71 ($p < 0.05$), %15.05 ve 17.18 ($p < 0.05$) olarak ölçülmüştür.

Civa

Civa tuzu uygulanan fasulye fidelerinin yapraklarındaki vitamin miktarında meydana gelen değişiklikler Şekil 3.6.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.6.4. 10 gün süreyle farklı konsantrasyonlarda HgCl₂ uygulanan fasulye fidelerinin vitamin içerikleri (µg.g⁻¹ yaş ağırlık). *C vitamini değerleri 10⁻¹ ile çarpılmıştır.

Civa uygulaması önceki üç ağır metalde olduğu gibi fidelerin yapraklarındaki antioksidan vitaminlerin düzeyini artırmıştır. 0.02 mM HgCl₂ uygulanan fidelerin yapraklarındaki A, E ve C vitamini miktarları kontrol bitkilerine göre, sırasıyla %17.54, %16.58 ve %17.54 oranlarında artmıştır ($p < 0.05$). Bu değerler 0.04 ve 0.06 mM HgCl₂ uygulanan fideler için %18.42, %17.20 ve %18.66, %18.85, %19.04 ve %18.90 olarak ölçülmüştür ($p < 0.05$).

4. TARTIŞMA

Elde ettiğimiz bulgulara göre Pb, Cu, Cd ve Hg' nin klor tuzları fasulye fidelerinin kök, gövde ve yaprak büyümesini önemli oranlarda engellemiştir. Her dört ağır metal de fidelerin protein, klorofil ve sitokinin düzeylerinde önemli azalışlara, absisik asit ile A, E ve C vitaminleri gibi antioksidan bileşiklerin düzeyinde artışlara yol açmıştır. İncelenen parametreler açısından, genel olarak en büyük toksik etkiyi civa göstermiş, civayı sırayla kadmiyum, bakır ve kurşun izlemiştir.

Ağır metal katyonunun konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kök, gövde ve yaprak büyümesi azalmıştır. Kök büyümesinin metal toksisitesine çok fazla duyarlı olduğu, bunu gövde ve yaprak büyümesinin takip ettiği anlaşılmıştır. Pb, Cu, Cd ve Hg için tespit ettiğimiz kök, gövde ve yaprak büyümesini inhibe etmeleri daha önce belirlenen çok sayıdaki bulguyla uyum içerisindedir. Mesela kadmiyumun *Pinus pinea* ve *P. pinaster* fidelerinde kök uzunluğunu engellediği (Arduini ve diğ., 1994); bakır konsantrasyonundaki artışın *Oryza sativa* L. cv. Safari bitkisinde gövde uzunluğunu azalttığı (Lidon ve Henriques, 1998) rapor edilmiştir. *Oryza sativa* L. cv. Bahia'da kadmiyum ile nikelin kök ve gövde uzunluğunu (Moya ve diğ., 1993); *Brassica juncea* fidelerinde çinkonun gövde uzunluğunu (Prasad ve diğ., 1999); *Zea mays* L. Dekalp cv. Sponsor bitkisinde kadmiyumun kök ve gövde uzunluğunu (Rascio ve diğ., 1993) azalttıkları bildirilmiştir. Kadmiyumun *Triticum aestivum* L. bitkisinde kök ve gövde uzunluğu ile yaprak alanını azalttığı (Ouzounidou ve diğ., 1997) anlaşılmıştır. Kadmiyum ve civanın *Vigna unguiculata* L. var. *Pusa Falguni* bitkisinde kök ve gövde büyümesine engel olduğu (Nagoor, 1997); kadmiyum, bakır, kurşun ve çinkonun *Sorghum bicolor* L. bitkisinde konsantrasyona bağlı olarak kök ve gövde gelişimini azalttığı (Pandit ve Prasannakumar, 1999); bakırın *Lolium perenne* bitkisinde kök ve gövde uzunluğunu azalttığı (Wong ve Bradshaw, 1982) tespit edilmiştir.

Ağır metal stresinden kök büyümesinin gövde ve yaprak büyümesine göre daha fazla etkilenmesi normal bir durumdur. Çünkü ortamdaki solüsyonla doğrudan temasta olan yapılar köklerdir. Bitkilerin ağır metal stresini hafifletmek için çeşitli tolerans ve direnç mekanizmaları geliştirdiği, bunlardan bir tanesinin metalin köklerde tutulması ve gövdeye dağılımının engellenmesi olduğu rapor edilmiştir (Fernandes ve Henriques, 1991). Metallerin köklerde tutulup biriktirilmesi köklerin morfolojisinin, anatomisinin

ve büyümesinin diğer organlara göre çok daha fazla etkilemesi sonucunu beraberinde getirir.

Metallerin farklı mekanizmalarla kök, gövde ve yaprak büyümesine engel olduğu, bu durumun bitki türüne ve gelişme şartlarına göre değiştiği bilinmektedir. Mesela alüminyum kök hücre bölünmesini (Hanson, 1984); çinko, bakır ve kurşun kök hücre uzamasını (Wainwright ve Woolhouse, 1977; Lane ve diğ., 1978) engellemek suretiyle büyümeye ket vurur. *Allium cepa* köklerinde yapılan çalışmalar (Clarkson, 1965; Morimura ve diğ., 1978) alüminyumun nükleik asitlere bağlanarak sitokinezi engellediğini göstermiştir. *Zea mays* bitkisinde yapılan bir çalışmada alüminyumun kök kaliptrasındaki polisakkarit metabolizması ve golgi aktivitesi üzerine etkisi nedeniyle kök hücre bölünmesini engellediği bildirilmiştir (Bennet ve diğ., 1985). Alüminyumun bir buğday varyetesinin kök hücrelerinde DNA replikasyonu ve hücre bölünmesini azalttığı ve dolayısıyla kök büyümesini engellediği ileri sürülmüştür (Zhengua ve diğ., 1993). Kökte metal birikiminin merkezdeki hücrelere göre korteks hücrelerinde daha fazla olduğu, bu nedenle kök korteks hücrelerinin daha erken hasar gördüğü bilinmektedir (Barcelo ve Poschenrieder, 1990). Krom (Vazquez, 1987) ve alüminyuma (Wagatsuma, 1983) maruz bırakılan bitkilerde kök korteksi ve epidermal hücrelerinde plazmoliz gözlenmiş ve kök uzamasının korteks hücre gelişimi ile sınırlandığı belirtilmiştir. Bununla birlikte merkez hücrelerinin gelişmesinin meristematik doku aktivitesi ve hormonal faktörler tarafından düzenlendiği de rapor edilmiştir (Burström ve Svensson, 1972). Ağır metallerin etkisiyle suberin miktarının artarak kökün kahverengileştiği, bu durumun da su alımını sınırladığı ileri sürülmüştür (Barcelo ve Poschenrieder, 1990).

Kurşun, bakır, kadmiyum ve civa uygulaması fidelerin protein içeriğinde önemli azalışlara sebebiyet vermiştir. Metal konsantrasyonlarındaki artış ile protein içeriğinin azalması arasında pozitif bir korelasyonun olduğu görülmüştür. Ağır metallerin bitkilerdeki protein miktarını azalttığı hususunda çok sayıda rapor mevcuttur. Kurşun, çinko ve kadmiyumun *Hordeum vulgare* bitkisinde (Stiborova ve diğ., 1986c); çinko, bakır ve kadmiyumun *Phaseolus vulgaris* fidelerinde (Weigel, 1985); bakır ve kurşunun *Zea mays* bitkisinde (Stiborova ve diğ., 1986b) ve ayrıca bakır ve çinkonun *Scenedesmus acutus*'da (Abd-El Monem ve diğ., 1998) protein miktarını azalttığı bildirilmiştir. Bakırın *Triticum aestivum* L. cv. *Vergina*'da total, protein ve çözülebilir

azot miktarını azalttığı (Lanaras ve diğ., 1993) görülmüştür. Kurşun ve kadmiyum uygulanan *Lemna minor* bitkisinde proteaz ile katalaz aktivitesinin azaldığı, peroksidaz aktivitesi arttığı ve protein miktarının azaldığı (Mohan ve Hosetti, 1997) rapor edilmiştir. Peroksidaz enzimi aktivitesinin artışının metal etkisiyle fenol, tiol, hidrojen peroksit gibi sekonder metabolitlerin oluşmasıyla (bitki senesensi) ilgili olduğu ileri sürülmüştür. Katalaz ve proteaz gibi enzimlerin aktif bölgelerine metal iyonlarının bağlanarak enzimin aktivitesini engellediği görülmüştür. *Brassica oleraceae* L. var. botrytis cv. Maghi fidelerine 0.5 mM Co, Cr ve Cu uygulandığında protein ve katalaz miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu ağır metaller tarafından azot metabolizmasının engellendiği ve protein miktarının azaldığı ileri sürülmüştür (Chatterjee ve Chatterjee, 2000). Protein miktarındaki azalma toksik seviyede krom uygulanan *Triticum aestivum* L. cv. HD 2204'de (Sharma ve diğ., 1995) ve *Avena sativa*' da (Hunter ve Vergnano, 1953) belirtilmiştir. Bilindiği gibi azot nükleik asitler, proteinler, enzimler ve koenzimler ile diğer azotlu bileşiklerin yapılarına katılan esensiyal bir makro besin elementtir.

Ağır metallerin metabolik prosesleri engellemesinin çok önemli nedenlerinden biri ve belki de en önemlisi enzim inhibisyonudur. Hücre metabolizması üzerine ağır metallerin zararlı etkilerinin çoğu muhtemelen enzimlerin geniş bir serisinin pasif hale getirilmesiyle gerçekleşmektedir. Bu ağır metallerden bir kısmının (Cu^+ gibi) SH gruplarına irreverzible bir şekilde bağlandığı ve enzimlerin görev yapmasını engelleyerek metabolizmayı inhibe ettiği bilinmektedir (Fernandes ve Henriques, 1991). Ağır metal iyonu artışına paralel olarak *Silene cucubalus* bitkisinin yapraklarındaki enzim aktivitesinin azaldığı ve denenen ağır metaller arasındaki inhibitif etkinin çoktan aza doğru bakır, kadmiyum, çinko, nikel, kobalt, ve mangan şeklinde olduğu anlaşılmıştır (Larcher, 1995). Bazı ağır metal iyonlarının solunumundaki elektron taşıma sistemini etkilediği ve enzimleri inaktif hale getirdiği tespit edilmiştir. Mesela *Pinus resinosa* polenlerinin çimlenmesi sırasında kadmiyumun solunumu etkilemediği, fakat yüksek konsantrasyonlarda CO_2 çıkışını ve O_2 girişini azalttığı bildirilmiştir (Strickland ve Chaney, 1979). Bakırın fotosentez üzerindeki direkt veya indirekt etkilerle solunumu engellediği anlaşılmıştır (Fernandes ve Henriques, 1991). Krom çimlenen tohumlardaki solunum aktivitesini bozmuş ve durumun depo protein, nişasta ve şekerlerin mobilizasyonu ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Bishnoi ve diğ., 1993).

Bir aquatik angiosperm olan *Vallisneria spiralis*'de 0,6 ppm gibi çok düşük bakır konsantrasyonları bile solunumu kısmen engellenmiştir (Fernandes ve Henriques, 1991). Kadmiyum *Beta vulgaris* L. cv. Monohill fidelerinde solunumu azaltmıştır (Greger ve diğ., 1991). Ağır metallerin enzimler üzerindeki inhibitif etkileri, solunumu ve protein sentezini engellemeleri, kanımızca bu metallerin kök, gövde ve yaprak üzerinde meydana getirdikleri büyüme inhibisyonunun anlaşılmasında önemli ipuçları verir.

Kurşun (Pb^{++}), bakır (Cu^{++}), kadmiyum (Cd^{++}) ve civa (Hg^{++}) ağır metalleri klorofil a, klorofil b, total pigment I ve total pigment II miktarlarını önemli oranlarda azaltırken, karotenoid miktarını artırmıştır. Klorofil ve karotenoid miktarlarındaki bu azalış ve artışların ağır metalin türü ve konsantrasyonuyla yakın ilişkili olduğu ve ağır metalin yüksek konsantrasyonlarında belirtilen artış ve azalışların daha belirgin bir şekilde ortaya çıktığı görülmüştür. Gerek klorofil miktarındaki azalış ve gerekse karotenoid miktarındaki artışta civanın etkisi en fazla olmuş ve bu metali sırasıyla kadmiyum, bakır ve kurşun izlemiştir.

Çevresel stres faktörlerinin bitkiler üzerindeki etkilerini anlamak maksadıyla sıkça başvurulanan yollardan biri organizmadaki klorofil içeriğini belirlemektir. Çeşitli araştırmacılar tarafından metal kirliliğine bağlı olarak değişik bitki türlerinde klorofil miktarının azaldığı rapor edilmiştir. Mesela metal kirliliği (Ni-Cu) olan topraklarda yetişen *E. nigrum*'un klorofil içeriğinde % 15-30 oranında azalma tespit edilmiştir (Monni ve diğ., 2001). Cu, Zn ve Pb uygulanan *Cladonia rangiformis*'in klorofil düzeyinde azalma görülmüştür (Chettri ve diğ., 1998). Cd ve Pb uygulanan *Triticum aestivum* bitkilerinde total klorofilin, Gerek 79 kültür formunda % 50 , Bolal 2973 kültür formunda ise % 70 oranında azaldığı bildirilmiştir (Öncel ve diğ., 2000). 20 μ M kadmiyum uygulanan *Lycopersicum esculentum* bitkisinde klorofil a+b kontrollere göre %50 oranında azalmış ve klorofil a/b oranı 2.7 den 2.3 'e düşmüştür (Baszynski ve diğ., 1980).

Ağır metal stresine bağlı olarak klorofil içeriğinde görülen azalma, klorofil biyosentez yolunda iş gören enzimlerin ağır metaller tarafından engellenmesinin bir sonucu olabilir. Kadmiyumun klorofil biyosentezi üzerine etki yaptığı ve protoklorofil reduktaz ile aminolevulinik asit (ALA) sentezini engellediği kaydedilmiştir (Stobart ve diğ., 1985). *Pennisetum typhoideum* ve *Phaseolus vulgaris* bitkilerine yüksek

konsantrasyonda kurşun uygulandığında ALA miktarının değişmediği fakat aktivitesinin azaldığı, bunun sebebinin ise enzimin aktif bölgesindeki SH gruplarıyla kurşunun birleştiği ve böylece aktivitesini engellediği rapor edilmiştir (Prasad ve Prasad, 1987b). Kadmiyum uygulanması sonucu ALA sentezinin ve dolayısıyla klorofil biyosentezinin engellendiği bildirilmiştir (Allan ve diğ., 1985). Ağır metallerin serbest radikal oluşumuna neden olduğu ve bu yolla tilakoid membran lipidlerinin oksidatif yıkımına sebep olduğu anlaşılmıştır (Sandmann ve Böger, 1980). Bu ve benzeri durumlarda klorofil yıkımının artması veya sentezinin engellemesi yoluyla klorofil miktarı azalmış olabilir.

Ağır metallerin (kadmiyum) etilen üretimini artırdığı ve stomalarda kapanmaya yol açarak erken yaşlanma sinyallerine sebebiyet verdiği ileri sürülmüştür (Barcelo ve diğ., 1986). Bilindiği gibi etilen düzeyindeki artış senesense yol açar. Senesensin önemli dış belirtilerinden biri de klorozisdir. Karotenoidlerin senesens süresince parçalanmayıp klorofillerin maskeleyici etkilerinden kurtularak görülür hale geldikleri (Salisbury ve Ross, 1992) veya karotenoid sentezinin hızlandığı (Vardar, 1977) şeklinde görüşler vardır. Çeşitli stress faktörlerinin (yüksek ışık ve soğuk stresi gibi) karotenoid birikimine neden oldukları rapor edilmiştir (Havaux ve Kloppstech, 2001). Oksijenik fotosentezin kaçınılmaz sonucu olarak reaktif oksijen türevleri meydana gelir. Bu moleküller oksidatif hasarlara yol açarak fotosentetik kapasiteyi azaltırlar. Bu gibi durumlarda kloroplastları koruyucu ve tamir edici mekanizmalar gelişir (Demming-Adams ve Adams, 1992; Niyogi, 1999). Bunlardan biri de karotenoid miktarının artmasıdır. Karotenoidler ışık ve oksijen karşısında klorofillerin parçalanmasını azaltır. Klorofillerin parçalanmasına karotenoidlerin nasıl engel oldukları tam olarak bilinmemektedir. Bu pigmentlerin serbest oksijen radikalleriyle birleşerek klorofil yıkımına engel olduklarına dair görüşler vardır (Hopkins, 1995).

Kurşun, bakır, kadmiyum ve cıvanın klor tuzları fasulye fidelerindeki absisik asit (ABA) miktarını da etkilemiş ve metal konsantrasyonundaki artışla birlikte fidelerin ABA düzeylerinde önemli artışlar kaydedilmiştir. Bilindiği gibi çevresel stres faktörleri ABA sentezini teşvik eder. Bu da bitkinin strese karşı geliştirdiği adaptasyonlarda önemli rol oynar (Addicott ve Van Stveninck, 1983; Chen ve Gusta, 1983; LaRosa ve diğ., 1987). Mesela su stresi altındaki bitkilerde, ABA sentezi artar ve köklerden yapraklara taşınan ABA stomaların kapanmasını teşvik ederek su potansiyelinin

azalmasını engeller. Bu da bitkinin susuzluğa karşı direncini artırır (Davies ve Zhang, 1991). Tuzluluk (Chen ve Gusta, 1983; Walker ve Dumbroff, 1981; Mizrahi ve diğ., 1972), besin eksikliği (Goldbach ve diğ., 1975) ve kuraklık (Zotz ve diğ., 2001) bitkide ABA düzeyinin artmasına yol açan önemli çevresel stres faktörleridir. Metallerin ve özellikle de ağır metallerin bitki hormonlarının düzeyini nasıl etkilediği hususunda yapılan çalışma sayısı hem çok az, hem de yenidir. Talanova ve diğ. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada *Cucumis sativus* fidelerine 1, 4 ve 7 gün süreyle 1-500 μM kurşun ve 5-1000 μM kadmiyum uygulanmış ve ABA miktarının arttığı gözlenmiştir. 144 saat süreyle 3 μM kadmiyuma maruz bırakılan *Phaseolus vulgaris* L.cv. Contender bitkilerinde yaprak su içeriğinin azaldığı, stoma direnci ile kök ve yapraklarda ABA seviyesinin arttığı belirtilmiştir (Poschenrieder ve diğ., 1989). Bakır ve nikel kirliliğinin *Empetrum nigrum* L. Bitkisinde ABA seviyesini artırdığı rapor edilmiştir (Monni ve diğ., 2001). Kobalt, nikel ve çinko stresi altındaki *Phaseolus vulgaris* bitkilerinde ABA birikimi görülmüştür (Rauser ve Dumbroff, 1981).

Çalışmamızda ağır metal stresinin ABA düzeyini artırması, ağır metal uygulaması sonucu yapraklarda su stresinin meydana gelmesi veya ağır metallerin gövdeye taşınımının engellemesi nedenlerine bağlanabilir. Daha önce de belirttiğimiz gibi bitkilerin ağır metal stresine karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlardan biri ağır metalin köklerde tutulup gövdeye taşınımının engellenmesidir. Tuz stresi altındaki bitkilerde, ABA'nın köklerdeki miktarını artırarak tuzun gövdeye taşınımını engellediği hususunda çok sayıda rapor mevcuttur (Wolf ve diğ., 1990; Zhao ve diğ., 1991; Thomas ve diğ., 1992; He ve Cramer, 1996; Gomez-Cadenas ve diğ., 1998).

Kurşun, bakır, kadmiyum ve civa ağır metalleri sitokinin düzeylerini de önemli oranlarda azaltmıştır. Çevresel stres faktörlerinin bitkilerdeki sitokinin düzeyini azalttığı bilinmektedir. Mesela *Lycopersicum esculentum* bitkisine 8 gün süreyle tuz stresi uygulanmış, sonuçta trans ve cis-zeatin miktarının azaldığı tespit edilmiştir (Walker ve Dumbroff, 1981). *Zea mays* fidelerine sıcak stresi uygulandığında ABA miktarının arttığı sitokinin miktarının azaldığı rapor edilmiştir (Cheikh ve Jones, 1994). Soğuk stresine maruz bırakılan *Triticum aestivum* bitkisinde ABA içeriğinin arttığı, sitokinin içeriğinin azaldığı görülmüştür (Taylor ve diğ., 1990). Besin eksikliği durumunda bitkideki sitokinin seviyesinin azaldığı hususunda çeşitli raporlar mevcuttur. N

eksikliğinde *Helianthus annuus* L. bitkisinin kök, yaprak ve tomurcuklarındaki sitokinin içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir (El-D ve diğ., 1979). *Plantago major* ssp. *pleiosperma* ya düşük seviyede N, P ve Ca uygulandığında kök ve gövdede zeatin ile zeatin ribozid seviyesinde azalmalar görülmüştür (Kuiper ve diğ., 1989). Bilindiği gibi sitokininlerin önemli sentez merkezlerinden biri köklerdir. Ağır metallerin köklerle doğrudan temas ederek kök büyümesini büyük oranlarda inhibe etmesi, köklerde birikmesi ve bitkinin besin alımını azaltması gibi nedenlerden dolayı sitokinin düzeyi azalmış olabilir.

Uygulanan her dört ağır metalin de fasulye yapraklarındaki A, E ve C vitaminlerinin düzeyini önemsenecek oranlarda artırdığı görülmektedir. Çeşitli stres faktörlerine bağlı olarak bazı vitaminlerin düzeyinde artışlar kaydedilmiştir. Mesela ışıık ve ışııtme stresi altındaki *Arabidopsis thaliana*'da lipit peroksidasyonunu engellemek veya azaltmak amacıyla α - γ -tokoferol birikimi olduğu bildirilmiştir (Havaux ve Kloppstech, 2001). 14 gün süreyle civanın çeşitli konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Bacopa monnieri* (L.) bitkisinde askorbik asit içeriğinin arttığı tespit edilmiştir (Sarita ve diğ., 1996). 10 μ M PbCl₂ ve HgCl₂' ye maruz bırakılan iki *Oryza sativa* L. Kültür formunda (Ranta ve IR 36) askorbik asit ve α -tokoferol miktarının arttığı görülmüştür (Mishra ve Choudhuri, 1998). Metabolizmalarında oksijen gazını kullanan canlılarda serbest oksijen radikallerinin oluşması kaçınılmazdır. Strese yol açan çok sayıdaki çevresel faktörün serbest radikal oluşumunu artırdığı ve organizmaların bu radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirdiği hususunda raporlar mevcuttur (Demming-Adams ve Adams, 1992; Niyogi, 1999). Serbest radikallerin oluşum hızı ile bunları etkisiz hale getirme hızı dengede olduğu sürece organizma zarar görmez. Buna karşılık savunma azalır veya bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı savunma gücünü aşarsa denge bozulur ve serbest radikallere bağlı çeşitli hasarlar ortaya çıkar (Halliwell, 1996). Gerek reaktif oksijen türevlerinin oluşumunu ve gerekse bunların meydana getirdiği hasarları önlemek için vücudun geliştirdiği savunma mekanizmaları antioksidan savunma sistemleri olarak bilinir. Bu savunma sisteminde α -tokoferol (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), A vitamini ve lipoik asit gibi antioksidan bileşikler çok önemli bir yer tutarlar. C vitamini indirgeyici aktiviteye sahip olduğundan güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onların temizlenmesinde rol oynar (Akkuş, 1995; Granado ve

diğ., 1998). Bu vitamin ayrıca reaktif oksijen veya peroksit radikalleri ile birleşen vitamin E'nin tekrar aktif hale dönüşümünü sağlar (Lykkesfeldt ve diğ., 1998; Wolf ve diğ., 1998; Nastro, 1997). Vitamin E hücre membranı bütünlüğünün korunmasında önemli rol oynar. Bu vitamin peroksit radikalleri ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonunu önleyen çok güçlü bir antioksidanttır (Nordberg ve Arner, 2001). E vitamini etkinliği olan tokoferoller ve tokotrineoller ile A vitamini etkinliği olan karotenler bitkilerde yaygın olarak bulunmaktadır. Karotenoitler de lipit peroksidasyonu sırasında ortaya çıkan radikalleri önlemede etkili bir antioksidanttır (Nikolai ve diğ., 2001).

Sonuç olarak; kurşun, bakır, kadmiyum ve civa fasulye fidelerinin kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerinde önemli inhibitif etkilerde bulunmuştur. Ağır metal uygulanması klorofil a, klorofil b, total pigment I ve total pigment II, protein ve sitokinin düzeylerinde azalışlara, absisik asit (ABA), karotenoid ve antioksidan vitamin (A, E ve C) düzeylerinde artışlara sebep olmuştur. Bu azalış ve artışlarla ağır metalin konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür. Bu ağır metallerin, çalışılan parametreler açısından toksik etkisinin çoktan aza doğru $Hg > Cd > Cu > Pb$ şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abd-El Monem, H., Corradi, M. and Gorbi, G., 1998, Toxicity of copper and zinc to two strains of *Scenedesmus acutus* having different sensitivity to chromuim, Env. and Exp. Bot., 40, 59-66.
- Addicott, F.T. and Van Stveninck, R.F.M., 1983, Significance of abscisic acid in the life of plants., In F.T. Addicott Absciscic Acid, Praeger New York, 581-586.
- Agarwala, S.C., Bisht, S.S. and Sharma, C.P., 1977, Relative efectivenes of certain heavy metals in producing toxicity and symptoms of iron deficiency in barley, Can. J. Bot., 55, 1299-1307.
- Akkuş, İ., 1995, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Alia, Pardha Saradhi, P. and Mohantry, P., 1997, Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical induced photodamage, J. Photochem., 38, 253-257.
- Alia, Prasad, K.V.S.K., Pardha Saradhi, P., 1995, Effect of zinc on free radical and proline in *Brassica juncea* and *Cajanus cajan*, Phytochem., 39, 45-47.
- Allan, K., Stobart, W., Griffiths, T., Ameen-Bukhori, I. and Sherwood, R.P., 1985, Effect of Cd^{+2} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley, Physiol. Plant, 63, 293-298.
- Andrew, C.S., Pieters, H.J., 1976, Foliar symptoms of mineral disorders in *Glycine wightii*, CSIRO Australian Div. Trop. Agron. Tech., 18, 1-12.

- Arduini, I., Godbold, D.L. and Onnis, A., 1994, Cadmium and copper change root growth and morphology of *Pinus pinea* L. and *P. pinaster* seedlings, *Physiol. Plant*, 92, 675-680.
- Arduini, I., Godbold, D.L. and Onnis, A., 1995, Influence of copper on root growth and morphology of *Pinus pinea* L. and *P. pinaster* seedling, *Tree Physiol*, 15, 411-415.
- Asada, K., 1994, Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues in: Foyer, C.H., Mullineaux, P.M. (ed) *Causes of photooxidative stress and amelioration of defence system in plants*, RC Press. Boca Raton FL, 77-104.
- Ayaz, F.A. and Kadioğlu, A., 1997, Ağır metallerin (Zn, Cd, Cu ve Hg) çimlenen *Lens esculenta* L. tohumlarındaki çözünür protein bantları üzerine etkileri, *Tr J. of Bot.*, 21(2), 85-88.
- Barcelo, J. and Poschenrieder, Ch., 1990, Plant water relations as effected by heavy metal stress, *A Rewiew, J. of Plant Nutrition*, 13 (1), 1-37.
- Barcelo, J., Cabot, C. and Poschenrieder, Ch., 1986, Cadmium induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv Contender), II effects of Cd on endogenous abscisic acid levels, *J. Plant Physiol.*, 125, 27-34.
- Barcelo, J., Vazquez, M.D. and Poschenrieder, Ch., 1988, Cadmium induced structural and ultrastructural changes in the vascular system of bush bean stems, *Botanica Acta.*, 101, 254-261.
- Basak, M., Saharma, M. and Chakraborty, U., 2001, Biochemical responses of *Camellia sinensis* L. O. kuntze to heavy metal stress, *J. of Env. Biol.*, 22, 37-41.

- Baszynski, T., 1986, Interference of Cd^{+2} in functioning of the photosynthetic apparatus of higher plants, *Acta Soc. Bot. Poloniae*, 55, 291-304.
- Baszynski, T., Wajda, L., Wohiska, D., Krupa, S. and Tukendorf, A., 1980, A photosynthetic activities of cadmium treated tomato plants, *Physiol. Plant.*, 48, 365-370.
- Becerril, J.M., Gonzalez-Murua, C., Munoz-Rueda, A. and Felipe, M.R., 1988, The effects of cadmium and lead on photosynthetic electron transport in clover and lucerne, *Plant Physiol. Broc.*, 26, 357-363.
- Bennet, R.J., Breen, C.M. and Bandu, V., 1985, Aluminium toxicity and regene ration of the root Cap: preliminary evidence for a golgi apparatus derived morphogen in the primary root of *Zea mays*, *S. Afr. J. Bot.*, 51, 363-370.
- Bergkvist, B., 1987, Leaching of metals from forest soil as influenced by tree species and management, *Forest Ecology and Management*, 22, (1-2), 29-56.
- Bishnoi, N.R., Dua, A., Gupta, V.K. and Sawhney, S.K., 1993, Effect of chromium on seed germination, seedling growth and yield of peas, *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 47, 47-57.
- Breckle, S.W., 1989, Growth under stress: heavy metals., In: Waisel, Y., Kafkafi, U., Eshel A., (Eds), *the root system: the hidden half.*, Marcel Dekker Inc., New York.
- Brown, M.T. and Wilkins, D.A., 1986, The effects of zinc on germination, survival and growth of *Betula* seed, *Environ. Pollut. Ser. A Ecol. Biol.*, 41, 53.
- Burca, S., Dorina, C., Constantin C. and Mihai, T., 1984, Modifications caused by the trace elements manganase and cobalt in the ultrastructure of the roots of tomato seedlings, *Stud. Univ. Babes-Bolya Biol.*, 29, 27-34.

- Burström, H.G. and Svensson, S.B., 1972, Hormonal regulation of root growth and development, 125-136 in Kaldeway, H. & Vardar, Y. (Eds), hormonal regulation in implant growth and development, Verlag Chemie, Weinheim.
- Cabot, C. Poschenrieder, Ch. and Barcelo, J., 1986, A rapid method for extraction and estimation of abscisic acid from plant tissue using high performance liquid chromatography, J. of Liquid Chrom., 9 (13) 2977-2986.
- Catignani, G.L., 1983, Simultaneous determination of retinol and tocopherol in serum of plasma by liquid chromatography, Clin. Chem., 29, 708-712.
- Cerhata, D., Bauerov, A. and Ginter, E., 1994, Determination of ascorbic acid in blood serum using high-performance liquid chromatography and its correlation with spectrophotometric, Caska-Slov-Farm., Vol. 43 (4), pp. 166-168.
- Chatterjee, J. and Chatterjee, C., 2000, Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower, Environmental Pollution, 109, 69-74.
- Cheesman, K.H., Slater, T.F., 1993, Introduction to free radical biochemistry, Br. Med. Bull., 49 (3), 481-493.
- Cheikh, N. and Jones, R.J., 1994, Disruption of maize kernel growth and development by heat stress, Plant Physiol., 106, 45-51.
- Chen, T.H.H., Gusta, L.V., 1983, Absciscic acid-induced freezing tolerance in cultured plant cells, Plant Physiol., 73, 71-75.
- Chettri, M.K., Cook, C.M., Vardaka, E., Sawidis, T. and Lanaras, T., 1998, The effect of Cu, Zn and Pb on the chlorophyll content of the lichens *Cladonia convoluta* and *Cladonia rangiformis*, Env. And Exp. Bot., 39, 1-10.

- Chugh, L.K. and Sawhney, S.K., 1999, Effect of cadmium on activities of some enzymes of glycolysis and pentose phosphate pathway in pea, *Biologia Plantarum*, 42 (3), 401-407.
- Clarkson, D.T., 1965, The effect of aluminium and some other trivalent metal cations on cell division in the root apices of *Allium cepa*, *Ann. Bot.*, 29, 309-315.
- Clijters, H. and Van Assche, F., 1985, Inhibition of photosynthesis by heavy metals, *Photosynth. Res.*, 7, 31-40.
- Cocucci, S.M. and Morgutti, S., 1986, Stimulation of proton extrusion by K and Divalent cations (Ni^{+2} , Co^{+2} , Zn^{+2}) in maize root segments, *Physiol. Plant.*, 68, 497-501.
- Costa, G., Michaut, J.C. and Morel, J.L., 1994, Influence of cadmium on water relations and gas exchanges in phosphorus deficient *Lupinus alba*, *Plant Physiol. and Biochem.*, 32, 105.
- Çetinkaya, N. and Özcan, H., 1991, Investigation of seasonal variations in cow serum retinol and β -carotene by high-performance liquid chromatographic method comp., *Biochem. Physiol.*, Vol.100A, No: 1003-1008.
- Davies, W.J. and Zhang, J., 1991, Root signals and the regulation of growth and development of plant, plants in drying soil, *Annu. Review of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.*, 42, 55-76.
- Delgado, M., Biegerigo, M. and Guardiola, E., 1993, Uptake of Zn, Cr and Cd by water hyacinths, *Wat. Res.* 27 (2), 269-272.
- Demming-Adams, B., Adams III W.W., 1992, Photoprotection and other responses of plants to high light stress, *Annu. Rev. Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43, 599-626.

- Devos, C.H.R. and Schat, H., 1991, In ecological responses to environmental stresses, Ed. J. Rozema and J.A.C. Verkleij Kluwer, The Netherlands, 22.
- Doncheva, S., Nicolov, B. and Ogneva, V, 1996, Effect of copper excess on the morphology of the nucleus in maize root meristem cells, *Physiologia Plantarum*, 96, 118-122.
- Dueck, Th.A., 1986, The combined influence of sulphur dioxide and copper on two populations of *trifolium repens* and *lolium perenne* impact of heavy metals and air pollutants on plants, *Acedemic. Proef.*, 102-114.
- El-D, A.M., Salama, A. and Wareing, P.F., 1979, Effects of mineral nutrition on endogenous cytokinins in plants of sunflower (*Helianthus annus* L.), *J. of Experimental Botany*, 30, 971-981.
- Fernandes, J.C. and Henriques, F.S., 1991, Biochemical, physiological and structural effect of excess copper in plants, *The Bot. Revi.*, 57, 246-273.
- Foy, C.D., 1984, Physiologycall effect of hydrogen, aluminum and manganese toxicity in acid soil., madison, wisconsin, ed: F. Adams, soil acidity and liming-agronomy monograph No 12, 2nd., Amer. Soc. Agron., 57-97.
- Foy, C.D., Chane, P.L. and White, M.C., 1978, The physiology of metal toxicity in plants, *Ann. Rew. Plant Physiol.*, 29, 511-566.
- Fuhrer, J., 1982, Ethylene biosynthesis and cadmium toxicity in leaf tissue of beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *Plant Physiol.*, 70, 162-167.
- Gille, G. and Singler, K., 1995, Oxidative stress in living cells, *folia Microbiol.*, 40, 2, 131-152.

- Godbold, D.L., Schlegel, H. and Hüttermann, A., 1985, Waldschäden - Einflussfaktoren und ihre Bewertung, Düsseldorf:VDI Berichte, 560, 703-716.
- Golbeck, J.H., Lein, S. and San Pietro, A., 1977, Isolation and characterization of a sub-chloroplast particle enriched in iron sulfur protein and P₇₀₀, Arch. Biochem. Biophys., 178, 140-150.
- Goldbach, E., Goldbach, H., Wagner, H. and Michael, G., 1975, Influence of N-deficiency on the abscisic acid content of sunflower plants, Physiol. Plant., 34, 138.
- Gomez-Cadenas A., Tadeo F.R., Primo-Millo E. and Talon M., 1998, Involvement of abscisic acid and ethylene in the responses of citrus seedlings to salt shock, Plant Physiol., 103, 475-484.
- Granado, F., Olmedilla, B., Gil-Martinez, E. Blanco, I.; Millan, I., Rojas-Hidalgo, E., 1998, Carotenoids, retinol and tocopherols in patients with insulin- dependent diabetes mellitus and their immediate relatives, Clin. Sci.(Colch)., 94 (2), 189-195.
- Greger, M. and Linberg, S., Effects of Cd⁺² and EDTA on young sugar beets (*Beta vulgaris*) II. Net uptake and distribution of Mg⁺², Co⁺² and Fe⁺²/Fe⁺³, 1987, Physiologia Plantarum, 69, 81-86.
- Greger, M. and Ögren, E., 1991, Direct and indirect effect of Cd on photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*), Physiol. Plant, 83, 129-135.
- Greger, M., Brömmer, E., Linberg, S., Larsson, G. and Hestam-Almqvist, J., 1991, Uptake and physiol. effects of cadmium in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) related to mineral provision, J. Exp. Bot., 42, 729-737.

- Gupta, S.L., 1986, Copper uptake and inhibition of growth, photosynthetic pigments and macromolecules in the cyanobacterium *Anacystis nidulans*, *Photosynth.*, 20(4): 447-453.
- Hagemeyer, J., Kahle, M. and Breckle, S.W., 1986, Cadmium in *Fagus sylvatica* L. trees and seedlings: leaching, uptake and interconnection with transpiration, *Water, Air and Soil Pollut.*, 29, 347-359.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M., 1984, Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and diseases, *Biochem. J.*, 219 (1), 1-14.
- Halliwell, B., 1996, Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo, *Free Radical Research*, 25, 439-454.
- Hanson, J.B., 1984, The function of calcium in plant nutrition, Praeger Pub., *Advances in Plant Nut.*, New York, 1, 149-248.
- Harmens, H., Gusmao, N.G.C.P.B., den Hartog, P.R., Verkleij, J.A.C., Ernst, W.H.O., 1993, Uptake and transport zinc in zinc-sensitive and zinc-tolerant *Silene vulgaris*, *J. Plant Physiol.*, 141, 309-315.
- Hasenstein, K.H., Evans, M.L., Stinemetz, C.L., Moore, R., Fondren, W.M., Koon, E.C., Higby, M.A. and Smucker, A.J.M., 1988, Comparative effectiveness of metal ions in inducing curvature of primary roots of *Zea mays*, *Plant Physiol.*, 86, 885-889.
- Haug, A. and Caldwell, C.R., 1985, Aluminium toxicity in plants: role of the root plasma membrane and calmoduline, *Beltsville Symposium 9*. Rowman & Allanheld, Totwa., 359, 381.
- Havaux, M. and Kloppstech, K., 2001, The protective functions of carotenoid and flavanoid pigments against excess visible radiation at chilling temperature investigated in *Arabidopsis npq* and *tt* mutants, *Planta*, 213, 953-966.

- He, T. and Cramer G.R., 1996, Absciscic acid concentrations are correlated with leaf area reductions in two salt-stressed rapid-cycling Brassica species, *Plant Soil*, 179, 25-33.
- Heale, E.L. and Ormrod, D.P., 1982, Effects of nickel and copper on *Acer rubrum*, *Cornus stolonifera*, *Lonicera tatarica* and *Pinus resinosa*, *Can. J.Bot.*, 60, 2674.
- Holloway, P.J., 1982, Structure and histochemistry of plant cuticular membranes on overview in the plant cuticle, *Aced. Pres.*, 1-32.
- Holmes, R.I. and Coorts, G.D., 1980, Effects of excess manganese nutrition on the growth of easter lily, *Hort Sci.*, 15, 497-498.
- Honeycutt, R.C. and Krogmann, D.W., 1972, Inhibition of chloroplast reactions with phenylmercuric acetate, *Plant Physiol.*, 49, 376-380.
- Hopkins, G.W., 1995, Introduction to plant physiology, John Wiley & Sons, Inc., 140p.
- Huang, C.Y., Bazzaz, F.A. and Vanderhoef, L.N., 1974, The inhibition of soybean metabolism by cadmium and lead, *Plant Physiol.*, 54, 122-124.
- Hunt, G.M. and Baker, E.A., 1982, Developmental and environmental varitions in plant epicuticular waxes: some effects on penetration of naphthylacetic acid, *Aced. Press.*, 279-292.
- Hunter, J.G. and Vergnano, O., 1953, Trace element toxicities in oat plants, *Annals of Applied Biology*, 40, 761-777.
- Joardar, M., 1988, Cytotoxicity of certain environmental agents on plant systems, *J. Indian Bot. Soc.*, 67, 183-185.

- Johansson, L.A., 1985, Chromatographic analysis of epicuticular plant waxes, Sv. Utsades. Tid., 95, 129-136.
- Kabata- Pendias, A. and Pendias, H., 1991, Trace elements in soils and plants, Boca Raton, FL., 276-285.
- Kennedy, C.D. and Gonsalves, F.A.N., 1987, The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and efflux of excised roots, J. Exp. Bot., 38, 800-817.
- Khan, D.H., Duckett, J.G., Frankland, B. and Kirkham, J.B., 1984, An x-ray microanalytical study of the distribution of cadmium in roots of *Zea mays* L., J. Plant Physiol., 115, 19-28.
- Kirkham, M.B., 1978, Water relations of cadmium treated plants, J. Environ. Qual., 7, 334-336.
- Klimashevski, E.L. and Dedov, V.M., 1975, Localization of the mechanism of growth inhibiting action of Al^{+3} in elongating Cell Walls, Fiziol. Rast., 22, 1040-1046.
- Kojima, Y., Hiyama, T. and Sakurai, H., 1987, Effect of mercurials on iron sulfür centers of PsI of *Anacystis nidulans* in biggins J. (ed.), Progress in Photosynthesis Research., 57-60.
- Kuiper, D., Schuit, J. and Kuiper, P.J.C., 1989, Effects of internal and external cytokinin concentrations on root growth and shoot to root ratio of *Plantago major* ssp. *Pleiosperma* at different nutrient conditions. 183-188 in: B.C. Loughman, O. Gasparikova, and J. Kolek (eds.), structural and functional aspects of transport in roots. Kluwer Academic Publishers, London.
- Kukkola, E., Rautio, P., Huttunen, S., 2000, Stress indications in copper and nickel exposed scots pine seedlings, Environ. and Exp. Bot., 43, 197-210.

- Lamoreaux, R.J. and Chaney, W.R., 1977, Growth and water movement in silver maple seedlings affected by cadmium, *J. Environ. Qual.*, 6, 201-205.
- Lamoreaux, R.J. and Chaney, W.R., 1978, The effect of cadmium on net photosynthesis, transpiration and dark respiration of excised silver maple leaves, *Physiol. Plant.*, 43, 231-236.
- Lanaras, T., Moustakas, M., Symeonidis, L., Diomantoglov, S. and Karataglis, S., 1993, Plant metal content growth responses and some photosynthetic measurements of field-cultivated wheat growing on one bodies enriched in Cu, *Physiol. Plant.*, 88, 307-314.
- Lane, S.D., Martin, E.S. and Garrod, J.P., 1978, Lead toxicity effect on indole-3-acetic-induced cell elongation, *Planta*, 144, 79-84.
- Larcher, W., 1995, *Physiological Plant Ecology*, Third. Eds. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 424-426.
- LaRosa, P.C., Hasegawa, P.M., Rhodes, D., Clithero, J.M., Watad A. and Bresson R.A., 1987, Absciscic acid stimulated osmotic adjustment and its involvement in adaptation of tobacco cells to NaCl, *Plant Physiol.*, 85, 29-39.
- Larson, L.A. and Beevers, H., 1965, Amino acid metabolism in young pea seedlings, *Plant Physiol.*, 40, 424-432.
- Lee, K.C., Cunningham, B.A., Paulsen, G.M., Liang, G.H. and Moore, R.B., 1976, Effects of cadmium on respiration rate and activities of several enzymes in soybean seedlings, *Physiol. Plant.*, 36, 4.
- Letham, D.S., 1971, Regulation of cell division in plant tissues XII a cytokinin bioassay using excised radish cotyledons, *Phy. Plant.*, 25, 391-396.

- Lidon, F.C. and Henriques, F.S., 1991, Limiting step on photosynthesis of rice plants treated with varying copper levels, *Journal of Plant Physiology*, 138, 115-118.
- Lidon, F.C. and Henriques, F.S., 1998, Role of rice shoots vacuoles in copper toxicity regulation, *Environ Exp Bot.*, 39, 197-202.
- Lidon, F.C., Ramalho, J. and Henriques, F.S., 1993, Copper inhibition of rice photosynthesis, *J. Plant Physiol.*, 142, 12-17.
- Lindberg, S. and Winstrand, G., 1985, Mechanism of Cd^{+2} inhibition of $(\text{K}^+ + \text{Mg}^{+2})$ ATPase activity and K^+ (Rb^+) uptake in roots of sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *Physiol. Plant.*, 63, 181-186.
- Liu, C.M., Chau, C.W., Zhang, J.H., 2000, Acute toxicity of excess mercury on the photosynthetic performance of cyanobacterium, *S. Platensis* - assessment by chlorophyll fluorescence analysis, *Chemosphere*, 41, 191-196.
- Longenstroer, P., Pieper, G.M., 1992, Regulation of spontaneous EDRF release in diabetic rat aorta by oxygen free radical, *Am. J. Physiol.*, 263, 257-265.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.S. and Randall, R.J., 1951, Protein measurement with folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193-265.
- Lucero, H.A., Andreu, C.S. and Valejos, R.H., 1976, Sulphydryl groups in photosynthetic energy conservation III. inhibition of photophosphorylation in spinach chloroplasts by CdCl_2 , *Plant Sci. Lett.*, 6, 309-313.
- Lykkesfeldt, J., Haegen, T.M., Vinarsky, V. and Ames, B.N., 1998, Age-associated decline in ascorbic acid concentration, recycling, and biosynthesis in rat hepatocytes- reversal with R-alpha-lipoic acid supplementation, *The FASEB J.*, 12, 1183-1189.

- Malhotra, S.S. and Khan, A.A., 1980, Physiology and mechanisms of airborne pollutant injury to vegetation, *Biochem. Physiol. Pflanz*, 175, 228.
- Marcenko, E., 1986, Cadmium cytotoxicity and resistance in *Euglena gracilis*, *Acta Bot. Croat.*, 45, 33-42.
- Matilde, B.A., Arellano, J.B. and Gorge, J.L., 1995, Copper and photosystem II: a controversial relationship, *Physiolgia Plant.*, 94, 174, 180.
- Matilde, B.A. and Sandman, G., 1988, The role of Cu in respiration of pea plants and heterotrophically growing *Scenedesmus* cells, *Z. Naturforsch*, 43, 438-442.
- Matsumoto, H., Hirasawa, E., Torika, H. and Takahashi, E., 1976, Localization of absorbed aluminium in pea root and its binding to nucleic acids, *Plant Cell Physiol*, 17, 127-137.
- Miller, K.W., Lorr, N.A. and Yang, C.S., 1984, Simultaneous of plasma retinol α tocoferol, lycopere, α -carotene, and β -carotene by hing performance liquid chromatography, *Analytical Biochem.*, 138, 340-345.
- Mishra, A. and Choudhuri, M.A., 1998, Amelioration of lead and mercury effects on germination and rice seedling growth by antioxidants, *Biol. Plant.*, 41, 3, 469-473.
- Mishra, A. and Choudhuri, M.A., 1999, Monitoring or phytotoxicity of lead and mercury from germination and early seedling growth induces two rice cultivars, *Water Air and Soil Polution*, 114 (3/4), 339-346.
- Mizrahi, Y., Blumenfeld, A. and Richmond, A.E., 1972, The role of abscisic acid and salination in the adaptive response of plants to reduced root aeration, *Plant Cell Physiol.*, 13, 15.

- Mohan, B.S. and Hosetti, B.B., 1997, Potential phytotoxicity of lead and cadmium to *Lemna minor* grown in sewage stabilization ponds, *Environ. Pollut.*, 98, 233-238.
- Monni, S., Uhling, C., Hansen, E. and Magel, E., 2001, Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metall pollution, *Environ. Pollut.*, 112, 121-129.
- Morimura, S., Takahashi, E. and Matsumoto, H., 1978, Association of aluminium with nuclei and inhibition of cell division in onion (*Allium cepa*) roots, *Z. Pflanzenphysiol.*, 88, 395-401.
- Moustakas, M., Lanaras T., Symeonidis, L. and Karataglis, S., 1994, Growth and some photosynthetic charecteristics of field grown *Avena sativa* under copper and lead stress, *Photosynthetica*, 30, 389-396.
- Moya, J.L., Ros, R. and Picazo, I., 1993, Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants, *Photosynthesis Research*, 36, 75-80.
- Mukhopadhyay, M.J. and Sharma, A., 1990, Comparison of different plants in screening for Mn clastogenicity, *Mutation Ress.*, 242, 157-161.
- Mukhopadhyay, M.J. and Sharma, A., 1991, Manganese in cell metabolism of higher plants, *The Botanical Review*, 57 (2), 118-147.
- Munzuroğlu, Ö. and Geçkil, H., 2002, Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*, *Environ. Cont. And Toxi.*, 43, 203-213.

- Munzuroğlu, Ö. ve Baltepe, Ş., 1993, Sigara dumanının monokotil ve dikotil bitkilerde büyüme etkisinin hormonal ilişkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 65.
- Munzuroğlu, Ö., 1999, Sigara dumanının fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) fide gelişimi üzerinde bazı biyokimyasal ve morfolojik etkilerinin araştırılması, F.Ü. Fen ve Müh. Bilimleri Dergisi 11 (1), 67-75.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W., 1993, Harper'in Biyokimyası, İstanbul, Barış Kitapevi, 703-713.
- Nagoor, S., 1997, A study of influence of cadmium and mercury on growth and protein metabolism in cowpea seedlings, J. of Phy. Research., 10, 31-34.
- Nastro, L.P., 1997, Supramolecular aggregates from vitamin C derivatives: structure and properties, Internet J. Sci. Biol. Chem.
- Nedelkoska, T.V. and Doran, P.M., 2000, characteristics of heavy metal uptake by plants species with potential for phytoremediation and phytomining, Minerals Eng., 13, 549-561.
- Nieminen, T., Helmisaari, H.S., Kukkola, M., Saarsalmi, A., 1998, Wood biomass and nutrient concentration. In: Malkönen, E. (Ed.), environmental change and forest health (in finnish) the finnish forest research institute, Research Papers, 691, 202-205.
- Nikolai, E.P., Tatyana, A.K. and Lowell, P.K., 2001, Carotenoids as scavengers of free radicals in a fenton reaction: Antioxidants or prooxidants, Free Rad. Bio. And Med., 31(3), 398-404.
- Niyogi K.K., 1999, Photoprotection revisited: genetic and molecular approach, Annu Rev Plant Physiol. Plant Mol Biol., 50, 333-359.

- Nordberg, J. and Arner E.S.J., 2001, Reactive oxygen species. Antioxidants and the mammalian thioredoxin system, *Free Rad. Biol. and Med.*, 31 (11), 1287-1317.
- Nussbaum, S., Shemutz, D. and Brunold, C., 1988, Regulation of asimilatory sulfate reduction by cadmium *Zea mays* L., *Plant Physiology*, 88, 1407.
- Ouariti, O., Boussama, N., Zarrouk, M.A., Cherif, A. and Ghorbal, M.H., 1997, Cadmium and copper-induced changes in tomato membrane lipids, *Phytochem.*, 47 (7), 1343-1350.
- Ouzounidou, G., 1994, Copper induced changes on growth metal content and photosynthetic functions of *Alyssum montanum* L. plant, *Env. Exp. Bot.*, 34, 165-172.
- Ouzounidou, G., Eleftheriou, E.P. and Karataglis, S., 1992, Ecophysical and ultrastructural effects of copper in *Thlaspi ochroleucum*, *Canadian Journal of Botany*, 70, 947-957.
- Ouzounidou, G., Moustakas, M. and Eleftheriou, E.P., 1997, Physiological and ultrstructural effects of cadmium on wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 32, 154-160.
- Öncel, I, Keleş, Y. and Üstün A.S., 2000, Interactive effects of temperature and heavy metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings, *Environ. Pollut.* 107, 315-320.
- Padmaja, K., Prasad, D.D.K. and Prasad, A.R.K., 1990, Inhibitin of chlorophyll synthesis in *Phasolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate, *Photosynthetica*, 24, 239-405.

- Paivöke, A., 1983, Anatomical response of the roots of pea seedlings to lead and arsenate ions, *Ann. Bot. Fenn.*, 20, 307-315.
- Pandit, B.R. and Prasannakumar, P.G., 1999, Effect of metals on jowar (*Sorghum bicolor* L.) seedling growth-I germination, seedling growth and absorption of elements, *Pollut. Researc.*, 18, 459-466.
- Paul, R. and Foresta, E., 1981, Effets du cadmium sur la transpiration des plantes, *Bull. Rech. Agrom. Gembloux*, 16, 371-378.
- Pennazio, S. and Roggero, R., 1992, Effect of cadmium and nickel on ethylene biosynthesis, *Biol. Plant.*, 34, 345-349.
- Peterson, P.J., 1969, The distribution of zinc-65 in *Agrostis tenuis* sibth. and *A. stolonifera* L. tissues, *J. Exp. Bot.*, 20, 863-875.
- Phalsson, A.M.B., 1989, Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants, *Water, Air, Soil Pollut.*, 47, 287-319.
- Polar, E., Küçükcezzar, R., 1986, Influence of some metal chelators and light regimes on bioaccumulation and toxicity of Cd^{+2} in duckweed (*Lemna gibba*), *Physiol. Plant.*, 66, 87-93.
- Poschenrieder, Ch., Gunse, B. and Barcelo, J., 1989, Influence of cadmium on water relations, stomatal resistance and abscisic acid content in expanding bean leaves, *Plant Physiol.*
- Prasad, D.D.K. and Prasad, A.R.K., 1987b, Effect of lead and mercury on chlorophyll synthesis in mung bean seedlings, *Phytochemistry (Oxf)*, 26, 881-884.

- Prasad, K.V.S.K., Paradha, S.P. and Sharmila, P., 1999, Concerned action of antioxidant enzymes and curtailed growth under zinc toxicity in *Bressica juncea*, *Environ. and Exp. Bot.*, 42, 1-10.
- Rascio, N., Vecchia, F.D., Ferretti, M., Merlo, L. and Ghisi, R., 1993, Some effects of cadmium in maize plants, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 25, 244-249.
- Rauser, W.E. and Dumbroff, E.R., 1981, Effects of excess cobalt nickel and zinc on the water relations of *Phaseolus vulgaris*, *Env. and Exp. Bot.*, 21, 249-255.
- Robb, J., Busch, L. and Rauser, W.E., 1980, Zinc toxicity and xylem vessel alterations in white beans, *Ann. Bot.*, 46, 43-50.
- Ross, W.C., 1974, Plant physiology laboratory manual, Wadsworth Publishing Company Inc. Belmont, California, U.S.A., 73-77.
- Rovira, A.D., 1956; Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect, *Plant and Soil* VII, 2, 178-193.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W., 1992, Plant Physiology, 4th Edn. Wadsworth, Belmont, Ca.
- Sandmann, G. and Böger, O., 1980, Copper-mediated lipid peroxidation processes in photosynthetic membranes, *Plant Physiol.*, 66, 797-800.
- Sarita, S. Manisha, G. and Prakash, C., 1996, Bioaccumulation and biochemical effects of mercury in the plant *Bacopa monnieri* L., *Environ. Toxi. and Water Quality*, 11(2), 105-112.
- Schat, H. and Vooijs, R., 1997, Multiple tolerance and co-tolerance to heavy metals in *Silene vulgaris*: a co-segregation analysis, *New Phytol.*, 136, 489-496.

- Scherbatskoy, T., Klein, R.M. and Badger, G.J., 1987, Germination response of forest tree seed to acidity and metal ions, *Environ. Exp. Bot.*, 27, 157.
- Schlegel, H., Goldbold, D.L. and Hüttermann, A., 1987, Whole plant aspects of heavy metal induced changes in CO₂ uptake and water relations of spruce (*Picea abies*) seedlings, *Physiol. Plant.*, 69, 265.
- Schnabl, H. and Ziegler, H., 1974, Der einflub des aluminiums auf den gasaustausch und das welken von schnittpflanzen, *Ber. Dtsch. Bot. Ges.*, 87, 13-20.
- Shah, K. and Dubey, R.S., 1995, Effect of cadmium on RNA level as well as activity and molecular forms of ribonuclease in growing rice seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 33, 577.
- Sharma, D.C., Chatterjee, C. and Sharma, C.P., 1995, Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. HD 2204) metabolism, *Plant Science* 111, 145-151.
- Sheoran, I.S., Singal, H.R. and Singh, R., 1990, Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and the enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.), *Photosynth. Res.*, 23, 345-351.
- Singh, D.P., Khare, P. and Bisen, P.S., 1989, Effect of Ni⁺², Hg⁺, Cu⁺² on growth, oxygen evolution and photosynthetic electron transport in cylindrospermum, *J. Plant Physiol.*, 134, 406-412.
- Sinha, S., Gupta, M. and Chandra, P., 1996, Bioaccumulation and biochemical effects of mercury in the plant *Bacopa monnieri* L., *Env. Tox. and Water Qual.*, 11, 2, 105-116.

- Skorzynska, E., Bednara, J. and Baszynski, T., 1995, Some aspects of runner bean plant response to cadmium at different stages of the primary leaf growth, *Act. Soc. Bot. Pol.*, 64, 165-170.
- Somashekaraiah, B.V., Padmaja, K. and Prasad, A.R.K., 1992, Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*) involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation, *Physiologia Plantarum*, 85, 85-89.
- Stefanov, K., Seizova, K., Yonishlieva, N., Marinova, E. and Popov, S., 1999, Accumulation of lead zinc and cadmium in plant seed growing in metalliferous habitats in Bulgaria, *Food Chem.*, 54, 311-313.
- Steffens, J.D., 1990, The heavy metal-binding peptides of plants, *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.*, 41, 533-575.
- Stiborova, M., Doubravova, M. and Leblova, S., 1986a, A comparative study of the effect of heavy metal ions on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxylase, *Biochem. Physiol. Pflanz.*, 181-373-379.
- Stiborova, M., Doubravova, M., Brezinova, A. and Friedrich, A., 1986b, Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare* L.), *Photosynthetica*, 20, 418-425.
- Stiborova, M., Hromadkova, R and Leblova, S, 1986c, Effect of ions of heavy metals on the photosynthetic characteristics of maize (*Zea mays* L.), *Biologica Plantarum*, 4(12), 1221-1228.
- Stobart, A.K., Griffiths, W.T., Amcen-Bukhari, I. and Sherwood, R.P., 1985, The effect of Cd^{+2} on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley, *Physiol. Plant*, 63, 293-298.

- Sresty, T.V.S., Madhova, K.V., 1999, Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cell of pigeonpea, *Env. and Exp. Bot.*, 41, 3-13.
- Strickland, R.C. and Chaney, W.R., 1979, Cadmium influence on respiration gas exchange of *Pinus resinosa* pollen, *Physiol Plant*, 47, 129-133.
- Talanova, V.V., Titov, A.F. and Boeva, N.P., 2000, Effect of increasing concentrations of lead and cadmium on cucumber seedlings, *Biol. Plantarum*, 43 (3), 441-444.
- Tavazzi, B., Lazzarino, G., Di-Pierro, D. and Giardina, B., 1992, Malondialdehyde production and ascorbate decrease are associated to the reperfusion of the isolated postischemic rat heart free- radical, *Biol. Med.*, Vol. 13 (1), 75-78.
- Taylor, J.S., Bhalla, M.K., Robertson, J.M. and Piening, L.J., 1990, Cytokinins and abscisic acid in hardening winter wheat, *Canadian J. of Botany*, 68, 1597-1601.
- Thomas J.C., McElwain E.F. and Bohnert H.J., 1992, Convergent induction of osmotic stress-responses, *Plant Physiol.*, 100, 416-423.
- Tiller, K.G., 1989, Heavy metals in soils and their environmental significance, advances in soil science, Springer Verlag, 9, 113-142, New York.
- Uribe, E.G. and Stark, B., 1982, Inhibition of photosynthetic energy conversion by cupric ion. evidence for Cu^{+2} -coupling factor I interaction, *Plant. Physiol.*, 69, 1040-1045.
- Van Assche, F. and Clijters, H., 1990, Effect of metals on enzyme activity in plants, *Plant Cell Environ.*, 13, 195-206.
- Van Assche, F., Ceulemans, R. and Clijters, H., 1980, Zinc mediated effects on leaf CO_2 diffusion conductance and net photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* L., *Photosynth. Res.*, 1, 171-180.

- Vardar, Y., 1977, Bitki Fizyolojisi Dersleri, Ege Üniv. Matbaası, Bornova-İzmir.
- Vazquez, M.D., Poschenrieder, Ch. and Barcelo, J., 1987, Chromium VI induced structural and ultrastructural changes in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.), Ann. Bot., 59, 427-438.
- Wagatsuma, T., 1983, Effect of nonmetabolic conditions on the uptake of aluminium by plant roots, Soil Sci. Plant Nut., 29, 323-333.
- Wainwright, S.J. and Woolhouse, H.W., 1977, Some physiological aspects of copper and zinc tolerance in *Agrostis tenuis* Sibth: Cell elongation and membrane damage, J. Exp. Bot., 28, 1029-1036.
- Walker, M.A. and Dumbroff, E.B., 1981, Effects of salt stress on abscisic acid and cytokinin levels in tomato. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, 101, 461-470.
- Weigel, H.J., 1985, Inhibition of photosynthetic reactions of isolated intact chloroplasts by cadmium, J. Plant Physiol., 119, 179-189.
- Welch, R.M., 1995, Micronutrient nutrition of plants, Critical Reviews in Plant Sciences, 14(1), 49-82.
- Wierzbicka, M. and Obidzinska, J., 1998, The effect of lead on seed inhibitions and germination in different plant species, Plant Science, 137, 155-171.
- Wierzbicka, M., 1987, Lead accumulation and its translocation barriers in roots of *Allium cepa* L. autoradiographic and ultrastructural studies, Plant Cell Environ, 10, 17-26.
- Witham, F.H., Blaydes, D.F. and Dewlin, R.M., 1971, Experiments in Plant Physiol, Von Nostrand Reinhold Company, New York, 55-56.

- Wolf, O., Jeschke, W.D. and Hartung, W., 1990, Long distance transport of abscisic acid in NaCl-treated plants of *Lupinus albus*, J. Exp. Bot., 41, 593-600.
- Wolf, R., Wolf, D. and Ruocco, V., 1998, Vitamin E: the radical protector, J. of Eur. Acad. of Derm. and Ver., 10, 103-117.
- Wong, M.H. and Bradshaw, A.D., 1982, A comparison of the toxicity of heavy metals, using root elongation of ryegrass, *Lolium perenne*, New Phytol., 91, 255-261.
- Woolhouse, H.W., 1983, Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals, Physiological Plant Ecology III Responses to the Chemical and Biological Environment, 245-300.
- Zeid, I.M., 2001, Response of *Phaseolus vulgaris* to chromium and cobalt treatments, Biologia Plantarum, 44 (1), 111-115.
- Zhao, K., Munns, R. and King, RW, 1991, Absciscic acid synthesis in NaCl- treated barley, cotton and saltbush, Aust. J. Plant Pysiol., 18, 17-24.
- Zhengua, S., Wang, J. and Guan, H.,1993, Effect of aluminum and calcium on growth of wheat seedlings and germination of seeds, J. of Plant Nut., 16, 2135-2148.
- Zotz, G., Thomas, V. and Hartung, W., 2001, Ecophysiological consequences of differences in plant size: abscisic acid relationships inthe epiphytic orchid *Dimerandra emarginata*, Oecologia, 129 (2), 179-185.

ÖZGEÇMİŞ

01.06.1970 yılında Elazığ da doğdum. İlk, orta ve lise tahsilimi Elazığ da tamamladım. 1987-1988 öğretim yılında Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne giriş yaparak 1992-1993 öğretim yılında Üniversite birincisi olarak mezun oldum. 1993 yılında yüksek lisansa başladım. 1995 yılında Biyoloji Bölümüne Araştırma Görevlisi olarak girdim ve aynı yıl yüksek lisans derecesini “Nohut (*Cicer arietinum* L.) Fidelerinde Düşük Sıcaklık Uygulamasının Yol Açtığı Büyüme İnhibisyonunun Biyokimyasal İlişkilerinin Araştırılması” konulu çalışma üzerine tamamladım. Halen Biyoloji Bölümünde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

Fikriye KIRBAĞ ZENGİN