

Çeşitli Ağır Metallerin (Cu^{++} , Pb^{++} , Hg^{++} , Cd^{++}) *Malus sylvestris* Miller (elma) ve *Cerasus vulgaris* Miller (vişne) Bitkisi Polenlerinin Çimlenmesi ve Tüp Büyümesi Üzerine Etkileri

Aykut TOPDEMİR^{1*}, Nazmi GÜR¹, Kübra KOÇAK¹

1. Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü 23279 Elazığ.

*atopdemir@gmail.com

Özet: Genel olarak yoğunluğu 5 g/cm^3 ten fazla olan elementlere “ağır metal” adı verilmektedir. Ağır metal kaynakları arasında motorlu taşıtlar, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik faaliyetler, tarımda kullanılan gübre ve ilaçlar ile kentsel atıklar gelmektedir. Bitkilerin fizyolojik aktivitelerini engellemekte, verimliliklerini azaltmakta ve ölümlerine neden olmakta dolayısıyla ürün kalite ve miktarının azalmasına yol açmaktadırlar. Bitkilerde görülen ağır metal toksisitesi bitkinin türüne, ağır metal türüne, strese maruz kalma süresine ve strese maruz kalan doku veya organın yapısına bağlı olarak değişmektedir. Çalışmamızda Cu^{++} , Pb^{++} , Hg^{++} , Cd^{++} ağır metallerinin *Malus sylvestris* Miller ve *Cerasus vulgaris* Miller bitkisi polenlerinin tüp oluşumu ve performansı üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırma materyali olarak Elazığ ili ve ilçelerinde kirlenici faktörlerden uzak bölgelerde bulunan *Malus sylvestris* Miller ve *Cerasus vulgaris* Miller bitkilerinin polenleri kullanılmıştır. Polenlerin çimlendirilmesi için, besiyeri ortamı olarak Brewbaker Kwack kültür ortamı kullanılmıştır. Araştırmamızda her iki bitki türü için de ağır metallerinin 30, 60, 90, 120 ve $240 \mu\text{M}$ ’lık konsantrasyonları kullanılmıştır. Çimlenme kontrolü ve ölçümler ışık mikroskobu ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre tüm ağır metal konsantrasyonları polen çimlenmesini ve tüp büyümesini farklı oranlarda inhibe etmiştir. *Malus sylvestris* Miller için kullanılan ağır metallerden genel olarak polen çimlenmesini ve tüp uzunluğunu en fazla engelleyen ağır metalin bakır, *Cerasus vulgaris* Miller bitkisi polenlerinin çimlenmesi ve tüp uzunluğu bakımından en fazla etkileyen ağır metalin ise civa olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ağır metal, *Malus sylvestris* Miller ve *Cerasus vulgaris* Miller, Polen çimlenmesi, Polen tüpü gelişimi

Several Heavy Metals (Cu^{++} , Pb^{++} , Hg^{++} , Cd^{++}) *Malus sylvestris* Miller (Apple) and *Cerasus vulgaris* Miller (Cherry) Plant Germination and Pollen Tube Growth Effects

Abstract: Generally all the metals which are density of 5 g/cm^3 or more elements are called heavy metals. Motor vehicles, mineral deposits and businesses, volcanic activity, fertilizers used in agriculture and medicine, and urban waste are among heavy metal resources. (Heavy metals), inhibit the physiological activity of the plants, reduce productivity and lead to death hence they cause to reduce product quality and quantity. Heavy metal toxicity in plants changes according to plant species, heavy metal type, the exposure to stress and the structure of the tissue or organ exposed to stress. In our study, it's investigated that effect of Cu^{++} , Pb^{++} , Hg^{++} , Cd^{++} heavy metals on *Malus sylvestris* Miller and *Cerasus vulgaris* Miller plants pollen tube formation and performance. Pollens of *Malus sylvestris* Miller and *Cerasus vulgaris* Miller plants which located in remote areas from the pollutant factors in Elazığ province and county, are used as research material. For pollen germination, Brewbaker Kwack culture medium is used as growth medium. In our study, the concentrations with 30, 60, 90, 120 ve $240 \mu\text{M}$ of heavy metals are used. Germination control and measurements are made with a light microscope. According to obtained results all heavy metal concentrations inhibits pollen germination and tube growth in different rates. It's investigated that from heavy metals used for *Malus sylvestris* Miller plant in general the most prevent to pollen germination and tube length is copper, the heavy metal which most effects *Cerasus vulgaris* Miller plant's pollen in terms of pollen germination and tube length is mercury.

Keywords: Acidity, *Malus sylvestris* Miller and *Cerasus vulgaris* Miller, Polen germination, Polen tube growth

Giriş

Ağır metaller ve pestisitler, çözücüler, patlayıcılar ve poliaromatik hidrokarbonlar gibi organik bileşikler en önemli kirleticilerden olup düşük dozlarda dahi toksik etki gösterebilmektedirler. Biyosferin ağır metallerce kirlenmesi endüstri devrimi ile başlamış olup; insanoğlu, endüstriyel atıklar ve dumanlar, tarımsal uygulamalar, araç egzozları, enerji ve yakıt üretimi, madencilik gibi farklı yollarla çevrenin ağır metal oranını her geçen gün arttırmıştır (Memon ve Schröder 2009). Örneğin, fosil yakıtların yakılması, atık çamurların ve gübrelerin

yayılması kobaltın çevredeki artışına neden olurken, dericilik endüstrisi ise kromunun artışına sebep olmaktadır (Yadav 2010).

En yaygın bulunan ağır metal kirleticileri Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Ni ve Zn' dur (Jadia ve Fulekar 2008). Ağır metaller biyolojik döngü içinde en önemli zararlarını bitkilerde meydana getirmektedir. Tohum çimlenmesi, çıkış, fide büyüme ve gelişimi, bitkilerde büyüme ve gelişmede gerilikler, biyomas üretiminin düşmesi, çiçek ve meyve oluşumunda azalma, verimde düşme ve ürün kalitesinde bozulma bu zararlardan bazılarıdır. Bundan başka ağır metallerin fotosentetik aktiviteyi sekteye uğratması, azot döngüsü ve bağlanmasını bozması, klorofil miktarını azaltması, enzim sistemlerinde bozulmalara yol açması; bitkilere yarayışlı diğer elementlerin alımını engellemesi gibi hücre içi mekanizmalarda da olumsuz etkileri bulunmaktadır (Pandey ve Sharma, 2002; Taboada-Castro ve ark., 2002; Belimov ve ark., 2003; Peralta-Videa ve ark., 2004). Çevre kirlenmesinde ve bitkisel yaşamda önemli sorunlara neden olan ağır metallerle yüksek tarım alanlarında başarılı bir şekilde üretim yapabilmek, verimli ve kaliteli ürün elde edebilmek için ağır metalleri bu ortamlardan giderme şeklinde bazı önlemler alınması olarak dâhilinde olmasına rağmen maliyet açısından oldukça külfetli gözükmemektedir. Bu aşamada ağır metallerle kontamine olmuş alanlarda yapılacak tarımsal faaliyetlerde yetiştirilecek tür ve hatta çeşitlerden toleranslı olanların belirlenmesi pratik anlamda bir çözüm yolu olarak değerlendirilebilir (Zenk, 1996; Nable ve ark., 1997; Belimov ve ark., 2003). Ağır metallerle toleranslı tür ve çeşitleri belirlemede çimlenme ve fide gibi erken dönemlerde yapılacak çalışmalar çok daha yararlı ve ekonomik olabilir. Bu şekilde uzun zaman, emek ve girdi kullanımından tasarruf yapma olasılığı da bulunmaktadır.

Bu çalışma ile Cu^{++} , Pb^{++} , Hg^{++} , Cd^{++} ağır metallerinin *M. sylvestris* Miller ve *C. vulgaris* Miller bitkisi polenlerinin tüp oluşumu ve performansı üzerine etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada, Elazığ iline bağlı Yedigöze Köyü'nde yetişen *M. sylvestris* Miller ve *C. vulgaris* Miller bitkilerinin polenleri materyal olarak kullanıldı. Bitkilerin olgunlaşmış anterlerinden alınan polenler bekletilmeden çimlenmeye bırakılarak, her deney serisinde aynı çiçeğe ait polenler kullanıldı. Polenler % 10 sukroz, 100 mg/lit borik asit, 300 mg/lit kalsiyum nitrat, 200 mg/lit magnezyum sülfat, 100 mg/lit potasyum nitrattan oluşan Brewbaker ve Kwack kültür ortamında çimlendirildi (Shivanna, K.R., Rangaswamy, N.S., 1992). Hazırlanan besiyeri çözeltisi içerisindeki sukrozdan dolayı mikroorganizma üremesine elverişli olduğundan daha uzun süre bozulmadan dayanabilmesi için ağız bir pamukla kapatılarak otoklavda (Eryigit, ERS2000D model) 121°C de 1 atmosfer basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edildi. Araziden toplanan ve polietilen poşetler içinde etiketlenerek laboratuvara getirilen çiçekler stereo mikroskop altında inceledi. Çiçeklerin olgunlaşmış anterlerinden iğne yardımıyla bir lam üzerine alınan polenlerin üzerlerine 50µl besiyeri 10-100µl'lik mikropipet (Eppendorf, Research model) ile damlatıldı. Çalışılan her bir bitki için, alınan polenlerden üç ayrı lama ekim yapıldı. Bu şekilde hazırlanan lamlar, ıslak bir filtre kağıdı ile döşenerek nemi sağlanmış petri kapları içerisindeki cam çubuklar üzerine yerleştirildi. Petri kutularının kapağı kapatıldıktan sonra inkübatöre (Heraeus, B12 model) konarak çimlenmeleri sağlandı. Çimlenme konsantrasyonu olarak her iki bitkide de polenlerin çimlendirme ortamlarına bakır, kurşun, civa ve kadmiyum ağır metallerinin klor tuzları ($CuCl_2$, $PbCl_2$, $HgCl_2$, $CdCl_2$, H_2O)'ndan (Merck) saf su ile hazırlanmış çözeltileri eklendi (kontrol için saf su). Yapılan ön denemelerden elde edilen veriler doğrultusunda her bir ağır metal tuzunun 30, 60, 90, 120 ve 240 µM'lık çözeltileri hazırlandı. Kontrol grubu için 22±1°C'lik sıcaklık kullanıldı. 3 saat çimlenme süresi sonunda inkübatörden çıkarılan lamlar üzerindeki her bir kültür ortamına %10'luk etanol damlatılarak fikse edildi (Shivanna, K.R., Rangaswamy, N.S., 1992). Fiksasyon işleminin ardından, lamel kapatılarak preparatlar ışık mikroskobu (Olympus, BX51 TF model) altında incelendi. 10x büyütmeli bir okülere takılı olan oküler mikrometre ile yapılan ölçümlerde, çimlenme durumunun tespiti için 10 büyütmeli objektif, tüp uzunluğunun ölçümü için ise 10, 20 ve 40 büyütmeli objektif kullanıldı. Shivanna ve Rangaswamy' da anlatılan metoda göre çimlenme yüzdeleri belirlenip ve tüp uzunlukları ölçülerek kaydedildi (Shivanna, K.R., Rangaswamy, N.S., 1992).

Bulgular

Yaptığımız çalışmalar sonucunda her iki bitki için bulunan polen çimlenme yüzdesi ve tüp uzunluğu aşağıda tablolarla gösterilmiştir (Tablo 1, Tablo 2, Tablo 3, Tablo 4).

Tablo 1: *M. sylvestris* Miller bitkisinin, farklı konsantrasyonlardaki ağır metallerde tüp uzunluğu.

Ağır Metal/Konsantrasyon	Kontrol	30 µM	60 µM	90 µM	120 µM	240 µM
Cu ⁺⁺	705.4 µm±89.26	514.8 µm±72.50	321.8 µm±46.63	121.1 µm±15.93	73.2 µm±11.09	36.1 µm±5.30
Pb ⁺⁺	705.4 µm±89.26	573.5 µm±84.33	435.8 µm±61.38	253.6 µm±39.62	128.9 µm±20.46	62.3 µm±9.16
Hg ⁺⁺	705.4 µm±89.26	364.5 µm±54.40	281.4 µm±43.29	226.4 µm±35.37	172.6 µm±26.96	48.5 µm±7.23
Cd ⁺⁺	705.4 µm±89.26	432.5 µm±60.06	351.4 µm±52.44	151.3 µm±24.40	83.6 µm±13.70	28.2 µm±4.14

Tablo 2: *M. sylvestris* Miller bitkisinin, farklı konsantrasyonlardaki ağır metallerde çimlenme yüzdesi.

Ağır Metal/Konsantrasyon	Kontrol	30 µM	60 µM	90 µM	120 µM	240 µM
Cu ⁺⁺	%89.45±13.15	%53.49±7.86	%46.64±7.52	%27.36±4.41	%15.29±2.32	%7.06±1.03
Pb ⁺⁺	%89.45±13.15	%65.54±9.93	%47.58±6.99	%34.69±5.37	%16.14±2.34	%10.25±1.65
Hg ⁺⁺	%89.45±13.15	%70.12±10.95	%43.15±6.34	%23.53±3.47	%12.75±1.87	%12.15±1.78
Cd ⁺⁺	%89.45±13.15	%72.21±11.64	%51.28±7.54	%21.28±3.08	%14.51±2.13	%11.17±1.69

Tablo 3: *C. vulgaris* Miller bitkisinin, farklı konsantrasyonlardaki ağır metallerde tüp uzunluğu.

Ağır Metal/Konsantrasyon	Kontrol	30 µM	60 µM	90 µM	120 µM	240 µM
Cu ⁺⁺	687.4 µm±99.62	294 µm±46.66	208 µm±32.00	116.2 µm±19.04	66.4 µm±10.88	42.1 µm±6.68
Pb ⁺⁺	687.4 µm±99.62	295 µm±43.38	267.2 µm±37.11	110.2 µm±15.30	79.8 µm±11.91	34.1 µm±4.80
Hg ⁺⁺	687.4 µm±99.62	230 µm±37.09	147.2 µm±21.64	88.2 µm±12.97	38.2 µm±5.96	10.6 µm±1.58
Cd ⁺⁺	687.4 µm±99.62	272.2 µm±37.80	108.8 µm±17.26	51.2 µm±8.30	34.8 µm±4.90	11.6 µm±1.87

Tablo 4: *C. vulgaris* Miller bitkisinin, farklı konsantrasyonlardaki ağır metallerde çimlenme yüzdesi.

Ağır Metal/Konsantrasyon	Kontrol	30 µM	60 µM	90 µM	120 µM	240 µM
Cu ⁺⁺	%94.91±12.16	%76.58±11.26	%47.56±6.99	%17.13±2.80	%12.18±1.71	%6.04±0.97
Pb ⁺⁺	%94.91±12.16	%78.01±11.81	%62.86±8.85	%30.95±4.61	%25.73±3.57	%12.17±1.96
Hg ⁺⁺	%94.91±12.16	%55.55±9.10	%54.47±8.01	%41.57±6.02	%23.23±3.05	%12.14±1.81
Cd ⁺⁺	%94.91±12.16	%51.14±7.52	%21.89±3.36	%23.19±3.56	%13.15±1.85	%14.28±2.08

Tartışma

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz verileri karşılaştırdığımızda *M. sylvestris* Miller ve *C. vulgaris* Miller bitkilerinin her ikisinin de kontrol grubundan uzaklaştıkça ağır metal tuzlarından olumsuz bir şekilde etkilendiği belirlenmiştir.

M. sylvestris Miller bitkisini polen tüp uzunluğu açısından incelediğimizde kontrol grubunda 705.4 µm polen tüpü oluşturduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubuna en yakın konsantrasyon değeri olan 30 µM'da, Cu⁺⁺'da 514.8 µm, Pb⁺⁺'da 573.5 µm, Hg⁺⁺'da 364.5 µm ve Cd⁺⁺'da 432.5 µm 'ye düşmüştür. Kontrol grubuna en uzak ve en yoğun konsantrasyon derecesi olan 240 µM'da ise bu değerler; Cu⁺⁺'da 36.1 µm'ye, Pb⁺⁺'da 62.3 µm'ye, Hg⁺⁺'da 48.5 µm'ye ve son olarak Cd⁺⁺'da 28.2 µm'ye düşmüştür. Elde edilen bulgular dahilinde *M. sylvestris* Miller bitkisinin polen tüp uzunluğu bakımından kontrol grubuna oranla %94.92 düşerek en fazla Cu⁺⁺'dan etkilendiği belirlenmiştir.

Polen çimlenmesi bakımından incelediğimizde ise *M. sylvestris* Miller bitkisinin kontrol grubundaki çimlenme değerinin %89.45 olduğu belirlenmiştir. Bu değer yine kontrol grubuna en yakın konsantrasyon değeri olan 30 µM'da, Cu⁺⁺'da %53.49'a, Pb⁺⁺'da %65.54'e, Hg⁺⁺'da %70.12 ve Cd⁺⁺'da %72.21'e düşmüştür. Kontrol grubuna en uzak ve en yoğun konsantrasyon derecesi olan 240 µM'da ise bu değerler; Cu⁺⁺'da

%7.06'ya, Pb⁺⁺'da %10.25'e, Hg⁺⁺'da %12.15'e ve Cd⁺⁺'da %11.17'ye düşmüştür. Elde edilen bulgular dahilinde *M. sylvestris* Miller bitkisinin polen çimlenmesi bakımından kontrol grubuna oranla %92.10'a düşerek en fazla Cu⁺⁺'dan etkilendiği belirlenmiştir.

Polen tüp uzunluğu bakımından *C. vulgaris* Miller bitkisi ise kontrol grubunda 687.4 µm polen tüpü oluştururken bu değer kontrol grubuna en yakın konsantrasyon değeri olan 30 µM'da, Cu⁺⁺'da 294 µm'ye, Pb⁺⁺'da 295 µm'ye, Hg⁺⁺'da 230 µm'ye ve Cd⁺⁺'da 272.2 µm'ye düşerek önemli bir azalış göstermiştir. Kontrol grubuna en uzak ve en yoğun konsantrasyon derecesi olan 240 µM'da ise Cu⁺⁺'da 42.1 µm'ye, Pb⁺⁺'da 34.1 µm'ye, Hg⁺⁺'da 10.6 µm'ye ve son olarak Cd⁺⁺'da 11.6 µm'ye düşmüştür. Elde edilen bulgular dahilinde *C. vulgaris* Miller bitkisinin polen tüp uzunluğu bakımından kontrol grubuna oranla %98.46'lık bir düşüşle en fazla Hg⁺⁺'den etkilendiği belirlenmiştir.

C. vulgaris Miller bitkisi polen çimlenmesi bakımından incelendiğinde kontrol grubunda %94.91'lik bir çimlenme performansı göstermiştir. Bu değer kontrol grubuna en yakın konsantrasyon değeri olan 30 µM'da, Cu⁺⁺'da %76.58'e, Pb⁺⁺'da %78.01'e, Hg⁺⁺'da %55.55'e ve Cd⁺⁺'da %51.14'e düşmüştür. Kontrol grubuna en uzak ve en yoğun konsantrasyon derecesi olan 240 µM'da ise bu değerler; Cu⁺⁺'da %12.14'e, Pb⁺⁺'da %12.17'ye, Hg⁺⁺'da %6.04'e ve Cd⁺⁺'da %14.28'e düşmüştür. Elde edilen bulgular dahilinde *C. vulgaris* Miller bitkisinin polen çimlenmesi bakımından kontrol grubuna oranla %93.63 düşerek en fazla Hg⁺⁺'dan etkilendiği belirlenmiştir.

Polenler hava kirleticilerinden en çok etkilenen yapıların başında gelir. Toksik seviyedeki kirleticilerin polen çimlenmesi ve tüp gelişimi üzerinde önemli etkileri vardır. Kadmium (Cd), kobalt (Co), bakır (Cu), çinko (Zn), kurşun (Pb), demir (Fe) ve civa (Hg) gibi ağır metal iyonlarının polen çimlenmesi ve tüp büyümesini engellediği, polen tüpünün ultrastrüktürünü bozduğu çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Sowidis, T., Reiss, H.D., 1995; Chaney, W.R., Strickland, R.C., 1984). Elde ettiğiniz sonuçlar doğrultusunda ağır metallerin, elma ve vişne bitkilerinin polen çimlenmesi ve tüp büyümesini olumsuz etkileyerek mevcut araştırmaların sonuçları ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda polen çimlenmesi ve polen tüpü uzunluğundaki azalma ile kültür ortamındaki ağır metal konsantrasyonunun artışı arasında paralellik olduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca her ağır metalin polen çimlenmesi ve polen tüpü uzunluğuna olan etkisi farklı oranlardadır. Munzuroğlu ve Gür (2000)'ün ağır metallerin elma (*M. sylvestris* Miller cv. Golden)'da polen çimlenmesi ve polen tüpü gelişimine etkileri üzerine yaptıkları bir çalışmada, 1000 µM kobalt (kontrol grubu % 96.5 ± 2.8) uygulanmasına rağmen çimlenme % 28.6 ± 3.2 oranında gerçekleşmiştir. Ancak klorür tuzu şeklinde uygulana bu ağır metalleden nikel 800 µM, civa 150 µM, çinko 450 µM konsantrasyonlarında uygulandığında bile çimlenme gerçekleşmemiştir. Bu 4 ağır metalden en fazla toksik etkiyi civa göstermiş, bunu çinko ve nikel izlemiştir. Kobaltın toksik etkisi ise çok daha az olmuştur. Nitrat tuzu halinde uygulanan ağır metallerde ise kurşunun 350, kadmiumun ise 700 µM konsantrasyonlarında çimlenmeyi tamamen engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca kurşun (kontrol grubu % 92.3 ± 4.7) 200 µM konsantrasyonunda uygulandığında çimlenme % 9.0 ± 1.6; kadmium (kontrol grubu % 93.3 ± 2.7) 200 µM konsantrasyonunda uygulandığında ise çimlenme % 30.0 ± 1.9 olarak ölçülmüş ve kurşunun kadmiuma göre daha toksik olduğu anlaşılmıştır (Munzuroğlu, Ö., Gür, N. 2000).

Tütün (Tuna, A.L., Bürün, B., Yokas, D., Çoban, E. 2002), çam (Chaney, W.R., Strickland, R.C., 1984), meşe ve ladin (Holub, Z., Ostrolucka, G., 1984) ile kayısı ve kiraz (Gür, N., Topdemir, A. 2008) polenlerinde çimlenme ve tüp büyümesini engellediği daha önceki çalışmalarda tespit edilmiştir.

Sonuç

Araştırmamızın sonucunda, çeşitli araştırmacıların farklı bitkilerde, farklı ağır metaller kullanarak elde ettikleri sonuçlara paralel olarak, çalışmamızda kullanılan her iki bitki poleninde artan ağır metal konsantrasyonuna bağlı olarak inhibisyon oranlarının arttığı gözlenmiştir. Artan nüfus ve gelişen teknolojinin bir sonucu olarak

atmosferdeki ağır metal konsantrasyonlarının canlılığı ciddi bir şekilde tehdit ettiğini gösteren çalışmaları destekleyen bulgularımız aynı zamanda gerekli önlemlerin alınması konusunda da dolaylı bir uyarı niteliğindedir.

Kaynaklar

- Chaney, W.R., Strickland, R.C. 1984. Relative Toxicity of Heavy Metals to Red Pine Pollon Germination and Germ Tube Elongation. *Journal of Environmental Quality*. 13: 391-394.
- Gür, N., Topdemir, A. 2008. Effects of some heavy metals on in vitro pollen germination and tube growth of apricot (*Armenica vulgaris* Lam.) and cherry (*Cerasus avium* L.). *World Applied Sciences Journal*. 4(2): 195-198.
- Holub, Z., Ostrolucka, G. 1984. The Effect of Cadmium (II) and Lead (II) on pollen Germination and Pollen Tube Growth in *Quercus cerris*, *Pinus nigra* and *Picea abies*. *Biologia*. 38: 393-400.
- Munzuroğlu, Ö., Gür, N. 2000. Ağır metallerin elma (*Malus sylvestris* Miller cv. Golden)'da polen çimlenmesi ve polen tüpü gelişimi üzerine etkileri. *Turkish Journal of Biology*. 24(3): 677-684.
- Shivanna, K.R., Rangaswamy, N.S. 1992. Polen biology laboratory manual, Springer Verlag, Berlin.
- Sowidis, T., Reiss, H.D. 1995. Effects of Heavy-Metals on Pollen-Tube Growth and Ultrastructure. *Protoplasma*. 185: 113-122.
- Tuna, A.L., Bürün, B., Yokas, D., Çoban, E. 2002. The effects of heavy metals on pollen germination and pollen tube length in the tobacco plant. *Turkish Journal of Biology*. 26(2): 109-113.