

T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**+II ve +III DEĞERLİKLİ METAL İYONLARININ *Vicia faba* L. 'DE İNDÜKLEDİĞİ ANATOMİK DEĞİŞİMLERİN
VE TOLERANS MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Öğrencinin Adı SOYADI : Selin TIĞLI

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 28/09/2021

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Tez Danışmanı : PROF. DR. ZAFER TÜRKMEN

Eylül 2021
GİRESUN

**T.C.
GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**+II ve +III DEĞERLİKLİ METAL İYONLARININ *Vicia faba* L. 'DE İNDÜKLEDİĞİ ANATOMİK DEĞİŞİMLERİN
VE TOLERANS MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selin TIĞLI

Enstitü Anabilim Dalı

:

BİYOLOJİ

Bu tez 20/09/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

**Prof. Dr.
Emine YALÇIN
Jüri Başkanı**

**Dr. Öğretim Üyesi
Dilek ÇAVUŞOĞLU
Üye**

**Prof. Dr.
Zafer TÜRKMEN
Üye**

**Doç. Dr.
Bahadır KOZ
Enstitü Müdürü**

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

SELİN TIĞLI

20/09/2021

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilimsel alandaki kıymetli birikimlerini ve tecrübelerini fedakarlık ile paylaşan Sayın Hocam Prof. Dr. Zafer TÜRKMEN'e, Sayın Prof. Dr. Emine YALÇIN'a ve Sayın Prof. Dr. Kültiğin ÇAVUŞOĞLU'na,

EĞitimim sırasında ellerini her daim omuzumda hissettiğim, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem İlvan TIĞLI, babam Zekai TIĞLI ve abim Sercan TIĞLI' ya teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
BÖLÜM 1. GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Ağır metaller.....	4
2.1.1. Kurşun (Pb).....	4
2.1.2. Çinko (Zn).....	5
2.1.3. Krom (Cr).....	5
2.1.4. Alüminyum (Al).....	6
2.2. <i>Vicia faba</i> L.....	7
2.3. Bitkilerde tolerans mekanizmaları.....	8
BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1. Test materyali ve kimyasalı.....	11
3.2. Deney gruplarının oluşturulması ve uygulama.....	11
BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	12
4.1. Mikronukleus oluşumu.....	13
4.2. Hücre çeperinde kalınlaşma.....	14
4.3. Korteks hücresinde madde birikimi	15
4.4. Belirgin olmayan iletim doku ve yassılaşmış hücre çekirdeği.....	17
4.5. Toksisite sıralaması.....	18
BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER	21
KAYNAKLAR	22
ÖZGEÇMİŞ	28

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Cu	: Bakır
Zn	: Çinko
Co	: Kobalt
Fe	: Demir
Mn	: Manganez
Mo	: Molibden
Ni	: Nikel
V	: Vanadyum
Pb	: Kurşun
Cd	: Kadmiyum
Hg	: Civa
As	: Arsenik
MN	: Mikronukleus
ZnSO ₄	: Çinko sülfat
PbCl ₂	: Kurşun klörür
Cr(NO ₃) ₃	: Krom nitrat
AlCl ₃	: Alüminyum klörür

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	<i>Vicia faba</i> 'da çimlenme süreci.....	7
Şekil 2.2.	Bitkilerde ağır metal toksisitesine karşı geliştirilen tolerans mekanizmaları.....	10
Şekil 4.1.	Kontrol grubu <i>Vicia faba</i> kök uçlarının anatomik görünümü.....	12
Şekil 4.2.	<i>Vicia faba</i> kök uçlarında Zn, Pb, Cr ve Al tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar a. Mikronukleus korteks, b. hücre çeperinde kalınlaşma.....	15
Şekil 4.3.	<i>Vicia faba</i> kök uçlarında Zn, Pb, Cr ve Al tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar: a: epidermis hücre deformasyonu, b: korteks hücrelerinde madde birikimi.....	16
Şekil 4.4.	<i>Vicia faba</i> kök uçlarında Zn, Pb, Cr ve Al tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar a: belirgin olmayan iletim doku, b: yassılaşmış hücre çekirdeği.....	18

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1 Ağır metal uygulamalarının sebep olduğu meristematik hücre hasarları 20



+II ve +III DEĞERLİKLİ METAL İYONLARININ *VICIA FABA* L. 'DE İNDÜKLEDİĞİ ANATOMİK DEĞİŞİMLERİN VE TOLERANS MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada, farklı ağır metal iyonlarının *Vicia faba* L. kök ucu hücrelerinde indüklediği anatomik hasarlar incelenmiştir. 5 ppm $ZnSO_4$, 5 ppm $PbCl_2$, 5 ppm $Cr(NO_3)_3$ ve 5 ppm $AlCl_3$ uygulanan gruplardaki anatomik değişimler kontrol grubuna göre kıyaslanmış ve toksik etkiler belirlenmiştir.

Kontrol grubu kök uçlarının meristematik hücrelerinde mikroskopik seviyede her hangi bir hasar gözlenmezken, Zn, Pb, Cr ve Al metal iyonları ile muamele edilen gruplarda şiddeti değişmekle birlikte epidermis hücre deformasyonu, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, korteks hücrelerinde madde birikimi, mikronukleus, belirgin olmayan iletim doku ve yassılaşmış hücre çekirdeği şeklinde anatomik hasarlar gözlenmiştir. En yüksek düzeyde anatomik hasar oluşturan ağır metalin Pb olduğu belirlenmiştir ve test edilen metallerin toksisite sıralamasının $Pb > Al > Cr > Zn$ şeklinde olduğu tespit edilmiştir.

Çevreye kontamine olan ağır metalin türü, miktarı, toksik etkisinin şiddeti ve toksisite mekanizması bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından oldukça önemlidir ve bu konuda yapılacak pek çok çalışma literatüre önemli katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Ağır metal, $ZnSO_4$, $PbCl_2$, $Cr(NO_3)_3$, $AlCl_3$, *Vicia faba* L.

INVESTIGATION OF ANATOMICAL CHANGES AND TOLERANCE MECHANISMS INDUCED BY +II AND +III VALUE METAL IONS IN *VICIA FABA* L.

SUMMARY

In this study, anatomical damages induced by different heavy metal ions in *Vicia faba* L. root tip cells were investigated. The anatomical changes in the groups treated with 5 ppm ZnSO₄, 5 ppm PbCl₂, 5 ppm Cr (NO₃)₃ and 5 ppm AlCl₃ were compared with the control group and toxic effects were determined.

While no damage was observed at the microscopic level in the meristematic cells of the root tip cells of the control group, in the groups treated with Zn, Pb, Cr and Al metal ions epidermis cell deformation, thickening of the cortex cell wall, substance accumulation in cortex cells, micronucleus, non-obvious conduction tissue and flattened cell nuclei were determined. It was observed that the heavy metal causing the highest level of anatomical damage was Pb and the toxicity order of the tested metals was found to be Pb > Al > Cr > Zn.

The type and amount of heavy metal contaminated to the environment, the severity of its toxic effect and the toxicity mechanism are very important in terms of the development and viability of plants, and many studies on this subject will make a significant contribution to the literature.

Keywords: Heavy metal, ZnSO₄, PbCl₂, Cr(NO₃)₃, AlCl₃, *Vicia faba* L.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Ağır metaller özellikle canlılar üzerindeki potansiyel toksisitesi ile dikkat çekmektedir ve pek çok hücrel faaliyetleri bozmaktadır. Gerekl konsantrasyondan fazla kullanılması, insan kaynaklı faaliyetler sonucunda yoğun bir şekilde ortaya çıkması ciddi kontaminasyonlara neden olmaktadır. Ağır metaller inhalasyon ve beslenme gibi çeşitli yollarla hayvan ve insan dokularına girmekte ve ciddi toksik etkilere neden olmaktadır [1,2]. Bitkilerde de çeşitli toksik etkilere ve strese neden olan ağır metallerin toksisitesi bitki türüne, konsantrasyona, metalin kimyasal formuna ve pH'a göre değişiklik göstermektedir. Pek çok metal bitki büyümesi için zorunlu elementtir. Cu ve Zn gibi ağır metallerin bazıları bitkilerde enzimatik reaksiyonların kofaktörü ve aktivatörleri olarak görev yapmaktadır [3]. Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, V ve Zn gibi ağır metaller organizmaların gelişimi için çok küçük miktarlarda gereklidir, fakat yüksek dozda toksik etki ortaya çıkmaktadır. Pb, Cd, Hg ve As gibi ağır metallerin organizmalar üzerinde herhangi bir yararlı etkiye sahip olmadığı, organizmaların gelişimi için "ana tehdit" olarak kabul edilmektedir [1].

Bitkiler metalleri topraktan kökleri aracılığı ile almaktadırlar. Metaller parçalanmadığı için, bitki içindeki konsantrasyonlar optimal seviyeleri aştığında bitkiyi hem doğrudan hem de dolaylı olarak olumsuz etkilemektedir. Yüksek metal konsantrasyonunun neden olduğu doğrudan toksik etkilerden bazıları, sitoplazmik enzimlerin inhibisyonu ve oksidatif stres oluşumuna bağlı olarak hücre yapılarında ortaya çıkan hasardır [4,5]. Dolaylı toksik etkilerden bazıları ise bitkilerin katyon değişim bölgelerinde temel besin maddelerinin yer değiştirmesidir [6]. Ayrıca ağır metallerin toprak mikroorganizmalarının büyümesi ve faaliyetleri üzerindeki olumsuz etkisi de dolaylı olarak bitkilerin büyümesini etkilemektedir. Yüksek metal konsantrasyonu nedeniyle faydalı toprak mikroorganizmalarının sayısındaki azalma, organik madde ayrışmasının azalmasına ve daha az toprak verimliliğine yol

açabilmektedir. Bu toksik etkilerin kümülatif bir sonucu olarak bitki büyümesinde bir azalma oluşmakta ve bitkinin ölümüne kadar ulaşabilen hasarlar ortaya çıkmaktadır [7].

Ağır metalin bitkiler üzerindeki toksisite mekanizması farklı parametrelerden etkilenmektedir ve çeşitli toksik etkiler ortaya çıkmaktadır. Tamás ve arkadaşları [8] Cd ve Hg maruziyetinin susuzluk stresine benzer etkiler oluşturduğunu ve dehidrasyon stresi ile ilgili genlerin ekspresyonunun arttığını rapor etmişlerdir. Zhang ve arkadaşları [9] As ağır metali maruziyetinde çimlenme ve köklenme gibi fizyolojik basamaklarda aksama olduğunu belirtmişlerdir. Imran ve arkadaşları [10] benzer şekilde *Helianthus annuus*'da As stresi sonrasında plumula ve radikula uzunluğunda azalma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Sabit organizmalar olan bitkiler, çevrede meydana gelen istenmeyen değişikliklerden kaçamadıkları için ağır metallere maruz kalma çok çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri tetiklemektedir. Bu maruziyetten kaçamayan bitkiler, ağır metal toksisitesinin olumsuz sonuçlarıyla başa çıkmak için çeşitli tolerans mekanizmaları geliştirmek durumundadır. Bunlardan bazıları hücre membranlarına doğru taşınımın azalması, vakuollerde depolama, şelatlama, organik asitlerle fitoşelatları oluşturmak, proteinlere -SH gruplarına metallerin bağlanması bu tolerans mekanizmalarından bazılarıdır [11,12].

Bu çalışmada, çinko (Zn), kurşun (Pb), krom (Cr) ve alüminyum (Al) metallerinin *Vicia faba*'da anatomik etkileri incelenmiştir. Her bir metalin etkisini belirlemek için *Vicia faba* tohumları çinko sülfat ($ZnSO_4$), kurşun klorür ($PbCl_2$), krom nitrat [$Cr(NO_3)_3$] ve alüminyum klorid ($AlCl_3$) içeren ortamlarda 72 saat süresince çimlendirilmiştir. Çimlenme süresinin sonunda kök uçları Metilen mavisi ile boyanarak anatomik değişimler araştırılmıştır.

BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Teknolojinin gelişmesi ve nüfusun dünyada hızla artmasıyla oluşan endüstrileşmenin yol açtığı sorunlardan en başlıcası çevresel kirliliktir. Çevre kirliliğine maruz kalan canlıların her bakımdan olumsuz etkilenmesi biyolojik çeşitliliğe de zarar vermiştir. Artık hemen hemen her alanda kullanılan kimyasal maddeler hem çevrenin hem de çevrede bulunan organizmalarda çeşitli anormalliklere yol açmaktadır. Endüstride en çok kullanılan kimyasal maddelerin başında ise ağır metaller gelir. Ağır metaller genel olarak, egzoz salınımı, fabrika bacalarından çıkan küller, böcek öldürücü spreylere, yapay gübre kullanımı, tarım ilaçları, pil, maden işletme tesisinde katı atıklar vb. gibi endüstri ürünlerinin dikkatsiz ve bilinçsiz kullanımı sonucu çevreye yayılmaktadır [1,2]. En sık kullanılan ağır metallerin başında kurşun, çinko, krom, civa, kadmiyum, arsenik, nikel ve alüminyum gelmektedir.

Pek çok ağır metal eser miktarda bitki gelişimi için zorunlu olsa bile, ağır metallerin doku ve organlarda aşırı birikimi bitkinin gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir [3]. Ağır metaller, bitkilerde fizyolojik dengeleri önemli derecede bozmaktadır. Stoma hareketi, fotosentez, protein sentezi vs. başlıca etkilenen metabolik yollardır [4]. Ağır metallerin toksisitesi metallerin çeşidine göre değişebileceği gibi organizmanın savunma mekanizmalarına göre de değişebilmektedir. Bu mekanizmalar türlerin genetik esaslı fizyolojik davranışlarına bağlıdır. Bitkilerin ağır metallerin toksisitesine karşı geliştirdikleri çeşitli tolerans mekanizmaları mevcuttur. Bu mekanizmalar bitki türüne, maruziyet süresine, ağır metal türüne, ağır metale maruz kalan doku veya organların yapısına göre değişiklik göstermektedir [5]. Bitkilerin geliştirdikleri uyum mekanizmalarının ve geliştirdikleri toleransların bilinebilmesi için metalin miktarı ve türü, bitkiye faydası, zarar oluşum süresi, zararın derecesi ve türü değerlendirilmelidir. Bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından bu özelliklerin bilinmesi önemlidir [6].

Bitkilerin metallere karşı geliştirmiş oldukları tolerans mekanizmaları ve o ortamda yaşayabilmek için geliştirdiği çeşitli anatomik varyasyonlar metale, metalin yapısına

ve değerliğine göre değişim göstermektedir. Bu noktadan hareketle bu tez çalışmasında *Vicia faba* L. bitkisinin farklı değerlikli metal iyonlarının varlığında geliştirdiği anatomik değişimler araştırılmıştır.

2.1. Ağır metaller

Ağır metallerin özgül ağırlıkları $5\text{gr}/\text{cm}^3$ 'den büyük olup atom numaraları 20'den büyüktür. Doğada ağır metal grubunda birçok element vardır. Ekolojik açıdan önemli olanlar Mangan, Demir, inko, Bakır, Vanadyum, Molibden, Kobalt, Nikel, Krom, Kurşun, Berilyum, Kadmiyum, Talyum, Antimon, Selenyum, Kalay, Gümüş, Arsenik, Civa ve Aliminyum olarak sıralanabilir. Bazı canlılar da bu elementler eser miktar olarak rol oynarken belirli miktarları toksik etki göstermez. Bitki gelişimi için ağır metaller; eser metaller, gelişimi teşvik edenler ve toksik olanlar şeklinde sınıflandırılabilir. Eser metaller: Fe, Cu, Zn, Mn, ve Mo; gelişimi teşvik edenler: V, Co, Ni; toksik olanlar: As, Pb, Cd, Cr ve Hg şeklinde sınıflandırılmaktadır. İnsan vücudunda bazı metabolik faaliyetler için ağır metallere ihtiyaç vardır. İndirgenme – yükseltgenme tepkimelerinde, enzimlerin yapısında ve osmotik basıncın düzenlenmesi gibi olaylar da kullanılır. Ağır metaller yüksek miktarda kullanıldığında toksik etki göstererek ağır metal zehirlenmesine yol açabilir[13,14].

2.1.1. Kurşun (Pb)

Yeryüzünde çıkarılması ve işlenmesi oldukça kolay bir elementtir. Kurşun kolay şekil alabildiği için endüstride pek çok alanda kullanılmaktadır. Rengi mavi-gri arasında bir renk olup hava ile etkileşime girdiğinde mat bir görüntü oluşturur. Kurşun yüksek toksisite sergileyen bir elementtir. Bunun nedeni çevreye ve atmosfere metal veya bileşik olarak kontamine olması ve birikme özelliğidir [15]. Kurşunun endüstride sıkça kullanılması ciddi olumsuz etkiler doğurmaktadır. Ak sanayisi, benzin katkı maddeleri, kablo kaplamaları ve pillerin üretiminde kurşun kullanılmaktadır. Kurşun kontaminasyonuna kentsel atıklar, ilaçlar, boya yapımı, gübre gibi başlıca maddeler neden olmaktadır [16]. Toprak konsantrasyonunun 150 ppm düzeyinde kalması insan ve bitki sağlığı açısından risk oluşturmazken 300 ppm düzeyini aşması ciddi risk oluşturmaktadır [17]. Kurşun elementi diğer elementlerle

bileşik oluşturarak besin zincirine girmektedir. Bu bileşiklerden bazıları $Pb_3(PO_4)_2$, $Pb_4O(PO_4)_2$, $Pb_5(PO_4)_3OH$ ve $PbCO_3$ 'dır [18].

2.1.2. Çinko (Zn)

Çinko bitkiler tarafından en fazla ihtiyaç duyulan elementlerden biri olup insan ve hayvanlarda da oldukça önemlidir. Bitkilerde ürün miktarını direk ya da dolaylı olarak etkilemektedir. Protein sentezi, enzim aktivasyonu, fotosentez, solunum gibi olaylara katılımıyla beraber kalite ve miktar da direk olarak artmaktadır [19]. Çinko üzerinde hidrokarbonat tabakası bulunduğu için, havadan etkilenmez bu yüzden endüstride metal kaplama ve alaşımlar da kullanılmaktadır. Ayrıca, demir çelik ürünlerinde, sarj edilebilir pillerde, mürekkep, kopya kağıtları, kozmetik, maden sanayi gibi pek çok yerde kullanılmaktadır. Diğer ağır metaller gibi çinko da toprağa ve atmosfere farklı yollardan yayılmaktadır. Kuru ve yaş birikim olarak toprağa; endüstri alanlarından atık sularla, asit yağmurlarıyla, kanalizasyon yoluyla ulaşmaktadır. Bu yolla ekolojik dengede bozulma meydana gelebilir [20]. Topraktaki çinko konsantrasyonu 10-300 ppm arası değişirken, bitkiler tarafından emilen kısmı yaklaşık 3.6-5.5 ppm arasında bir değerdir. Bitkilerde bulunma oranı 5-100 ppm arasında olduğundan genelde 400 ppm' i aştığında bitkilerde toksisite göstermektedir [21]. Çinko toksisitesinde bitkilerin kök ve sürgün büyümesi azalır, kökler inceler, genç yapraklar kıvrılır hücre büyümesi ve uzaması engellenir, hücre organelleri parçalanır ve klorofil sentezi azalır [19]. Yüksek miktarda çinkonun klorofil sentezini azaltmasının nedeni bitkide yeterli miktarda demir olsa bile bitkinin demirden yararlanmasını engellemesi ve klorofilin merkezinde bulunan magnezyumun yerine çinkonun geçmesidir [22].

2.1.3. Krom (Cr)

Krom metalik bir element olup periyodik cetvelin VIB grubunda yer almaktadır. Dünyada krom üretimi yılda yaklaşık 107 ton dolaylarındadır [23]. Cr bileşikleri endüstri alanında paslanmaz çelik üretimi, deri işleme, boya pigmenti üretimi, zırhlı araç yapımı, uçak yapımı gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Kullanım

alanlarının yaygınlığından dolayı Cr bileşikleri çevreye çok çabuk yayılır. Özellikle toprağın Cr tutabilme özelliği çok yüksektir bu yüzden hızlı kirlenir. Krom içeren minerallerin endüstriyel oksidasyonu aynı zamanda fosil yakıtların, ağaç ve kağıt ürünlerinin yanması sonucunda Cr bileşikleri farklı yapılara dönüşüp çeşitli yollarla canlılara kontaminasyon gerçekleşmektedir [24]. Cr canlı organizmalara kontamine olduğunda yüksek toksik etkisinden dolayı mutasyona sebep olabilir. Hücre zarından geçip, hücre içinde indirgenme reaksiyonlarına katılarak bazı mekanizmalarla reaktif ürünler oluşturur [25]. Bu ürünler hücresel anormalliklere sebebiyet vererek, fotosentez, solunum gibi fizyolojik işlevleri, aynı zamanda tohum çimlenmesi, besin ve su dengesini bozma, enzim aktivitesini azalma gibi metabolik işlevlerde de olumsuz etkiye neden olur [26]. Krom doğada farklı formlarda bulunmakta olup altı değerlikli Cr^{+6} ve Cr^{+3} türleri diğer formlarına göre daha yaygındır. Fitotoksik formları hem trivalent hem de heksavalenttir [27]. Cr^{+3} çözünürlüğü oldukça düşüktür bu yüzden çevrede oluşan toksik etkisi de az olur. Fakat yer altı sularında çözünüp, toprak tarafından kuvvetli bir şekilde tutulmasıyla toksik etkiye neden olur. Cr^{+6} ise güçlü bir oksitleyici ajandır. Yüksek çözünürlükteki bu madde organik madde içeren ortamlarda Cr^{+3} e indirgenmektedir. Asitli ortamlarda çok hızlı indirgenen Cr^{+6} canlı hücrelerde hücre zarından kolaylıkla geçebilmektedir [28].

2.1.4. Alüminyum (Al)

Son derece önemli bir element olup yeryüzünde bulunma oranı ile üçüncü sıradadır. Periyodik tablonun 3A grubunda yer alır ve atom numarası 13' tür. Reaktivitesinin yüksekliğinden dolayı doğada serbest halde bulunamazlar. Sitrat, fosfat gibi oksijen veren ligandlara kuvvetli bağlanırlar çünkü Al içeren bileşikler üç değerlikli (Al^{+3}) formdadır. Alüminyumun metali çeşitli alanlarda kullanılır. En çok kullanılan formu alaşımdır ve paketlenme, inşaat, taşımacılık, tabakçılık, kumaş boyamacılığı ve içecek kutuları yapımında kullanılır. Aynı zamanda gıdalarda katkı maddesi olarak da kullanılmaktadır [29]. Hafif ve elastik yapıda olması, yansıtma kabiliyetinin yüksekliği, ömrünün uzunluğu, işlenmesinin kolay olması, ısı ve elektriği kolay iletmesi gibi teknolojik açıdan ürün çeşitliliği ve kullanım alanı fazlalığıyla alüminyum 21. yüzyılın metali olarak kabul edilmektedir [30].

2.2. *Vicia faba* L.

Alem	: Plantae (Bitkiler)
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Takım	: Fabales
Familya	: Fabaceae
Cins	: <i>Vicia</i>
Tür	: <i>Vicia faba</i>

Vicia faba'da kök sistemi kazık kök şeklindedir ve kazık kök derinlere indiğinde yan kökler çıkmaya başlar. Yan kökler üzerinde saçak kökler oluşur. Kazık kök 100-150 cm derinliğe inmekle beraber yan kökler de toprak verimliliğe bağlı olarak kazık kök kadar uzayabilir. Yan köklerin çevreye dağılması 40–50 cm lik bir yarıçap içinde olur (Şekil 2.1). Kökler belirli olgunluğa ulaştığı zaman kök üzerinde nodozite bakterilerinin sebep olduğu nodüller meydana gelir. Baklanın gövdesi otsudur. Gövde 1-2 cm kalınlığında dört köşeli yapıda olup içi boştur. Bakla çeşidine göre gövde boyu 60- 80 cm' den başlayıp 1-2 metreye kadar ulaşabilir. İri tohumlu olanlar genelde daha fazla boylanırlar. Bazı çeşitleri hafif tüylü olmasına rağmen genelde gövde düz ve çıplaktır. Gövde 28 cm'lik boğum aralarından meydana gelir ve boğumlardan yapraklar filizlenir. Sıcaklığın düşük olduğu koşullarda gövdenin alt yapraklarının koltuklarından yan dallar oluşur. Bu yan dallar 2-12 hatta daha fazla meydana gelebilir. Bu olaya kardeşlenme denir [31-33].



Şekil 2.1. *Vicia faba*'da çimlenme süreci [34]

2.3. Bitkilerde tolerans mekanizmaları

Adaptasyon, canlıların çevre koşullarına bağlı olarak o çevrede yaşayabilmesi ve üreyebilmesi için geliştirdikleri uyum mekanizmalarının tümüdür [35]. Bitkilerde adaptasyon diğer canlılardan farklı olarak üretimi en yüksek seviyeye çekmek için düzenlenir. Bitki türlerinin hepsinde geliştirilen adaptasyonun amacı herhangi bir olumsuz durumun bitkiye etkisini en aza indirgeyip yaşamsal olayları, iklim ve toprak şartlarına uygun hale getirmektir [36]. Genetik adaptasyon da, çevre şartlarında ki değişikliğe bağlı olarak, bitki popülasyonunun genlerinde meydana gelen farklılaşmayı ifade eder [37,38]. Bitkiler çevre şartlarında meydana gelen değişikliklere fenotipik ya da genotipik değişimler olarak tepki verirler.

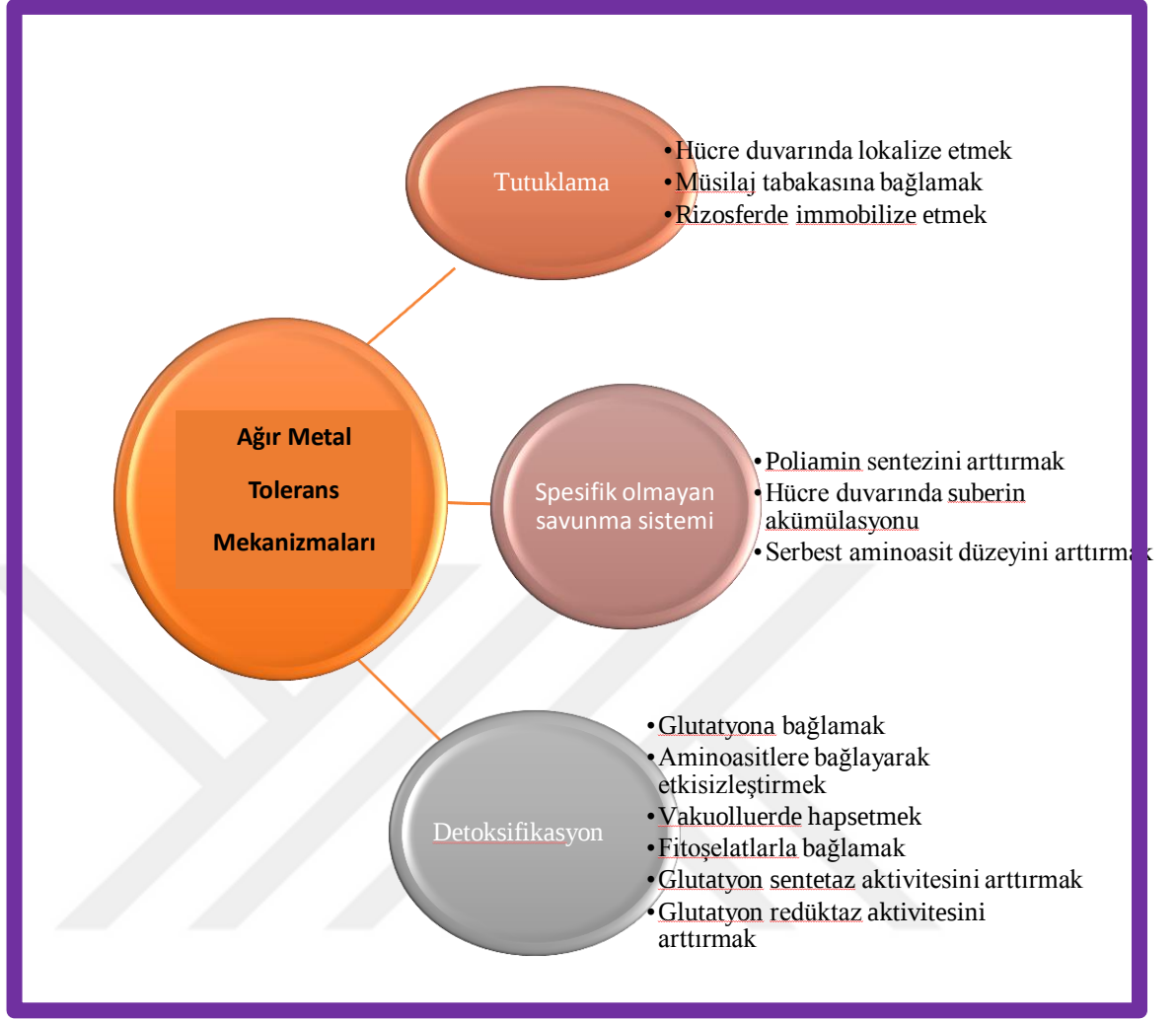
Ağır metallerin bitkiler üzerinde ki etkilerine karşın, bitkilerin geliştirmiş olduğu tolerans mekanizmaları vardır. Bunlar:

- a. Hücre duvarlarına metal bağlanması: Pb- karbonat olarak tutulur.
- b. Hücre membranlarına doğru taşınımın azalması: Bitki köklerine tutunan ağır metaller gövde ve sürgünlere taşınımı engeller böylece taşınma azalır.
- c. Vakuollerde depolama: Düşük molekül ağırlıklı organik bileşiklerin (Zn elementi Zn fitat, malat ve oksalat gibi) tiol gruplarına ve histidin ile bağlanmasıyla vakuollerde depolanır.
- d. Şelatlama: Ağır metaller tiol gruplarına, glutatyona ve aminoasitlere bağlanarak fitoşelatlar oluşturur. Organik asitler ise sitrat, malat ve malonat ile birleşerek fitoşelatlar oluşturulur [39].

Buna ek olarak bitkileri ağır metallere olan tepkilerine göre, üç gruba ayırabiliriz [40]. Metal dışlayıcılar: Yüksek miktarlarda metali köklerinde biriktirirken, toprak üstü kısımlarına metal almayan bitkilerdir.

- a. Metal indikatörleri: Topraktaki ağır metal seviyesi ne kadarsa o kadarını toprak üstü kısımlarının bünyesine alan indikatör bitkilerdir.
- b. Akümülatörler: Topraktaki metal seviyesinden daha fazlasını toprak üstü kısımlarında biriktirerek, ağır metal kirliliğinin büyük oranda temizleyen hiperakümülatör bitkilerdir.

Hiperakümülatör bitkiler, toprak üstü organlarında topraktaki metal konsantrasyonundan 50-500 kat fazla metal biriktirebilen bitkilerdir [41]. Bu bitkiler, toprak üstü kısımlarında diğer bitkilere nazaran 100 ila 1000 kat daha fazla ağır metal biriktirebilirken herhangi bir toksisite semptomu da göstermezler [42,43]. 450 ye yakın bitki türü (angiospermilerin sadece %0.2'si) hiperakümülatör olarak adlandırılır. Lamiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, bu özelliğe sahip familyalardan sadece birkaçıdır. Hiperakümülatör bitkiler iki ana gruba ayrılmıştır. Birinci grupta ki bitkiler birden fazla ağır metali, yüksek oranda bünyesinde biriktirebilen ama az miktarda biyokütle oluşturan hiperakümülatör bitkilerdir. İkinci gruptakiler orta seviyede ağır metal biriktirip aynı zamanda yüksek miktarda biyokütle oluşturan bitkilerdir. Bazı bitkiler ağır metallere dirençlidir. Ağır metallerin bitki içindeki küçük peptidlere bağlanıp kofullarda depo edilmesiyle dirençli bitkiler oluşur. Bu şekilde bitkiye zarar vermezler. Ağır metallerin bitkilerde birikimi ve organlarda dağılımı birçok değişkene bağlıdır. Bunlar; bitkinin ve elementin türü, kimyasal ve biyolojik aktivite, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli, pH değeri, katyon değişim kapasitesi, oksijenin çözülmesi, ısı ve köklerin salgı yeteneğidir. Hiperakümülatör bitkiler, hücre zarlarındaki taşıyıcı proteinler sayesinde ağır metalleri bünyesine alırlar. Bitkiler kofullarda bulunan metal taşıyıcı proteinler sayesinde de ağır metallere karşı tolerans sağlar. Bu proteinler diğer bitkilerdeki taşıyıcı proteinlerden farklı olarak ağır metalleri taşıyabilmeleri için değişikliğe uğramışlardır. Değişikliğe uğramış taşıyıcı proteinlerin sayesinde *Thlaspi caerulea* hiçbir toksik etki göstermeden kuru ağırlığının %3'ü oranında çinkoyu depolayabilmektedir. Toprakta bulunan arseniğin 100 katı kadar arseniği kendi dokuları içinde biriktiren bir eğrelti türü olan *Pteris vittata*'da da taşıyıcı proteinler bulunmaktadır [44,45]. Bitkilerde ağır metallere karşı geliştirilen tolerans mekanizmaları Şekil 2.2.'de özetlenmiştir.



Şekil 2.2. Bitkilerde ağır metal toksisitesine karşı geliştirilen tolerans mekanizmaları [45]

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Test materyali ve kimyasalı

Bu çalışmada, test materyali olarak *Vicia faba* (n=12) tohumları ve test kimyasalı olarak ise Sigma Aldrich'den temin edilen çinko sülfat (ZnSO_4) (CAS Number: 7446-20-0), kurşun klorür (PbCl_2) (CAS number 7758-95-4), krom nitrat [$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$] (CAS 7789-02-8) ve alüminyum klorid (AlCl_3) (CAS number 7446-70-0] kullanılmıştır.

3.2. Deney gruplarının oluşturulması ve uygulama

Vicia faba tohumları her grupta 20 tohum olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır.

Grup 1: Kontrol

Grup 2: 5 ppm ZnSO_4

Grup 3: 5 ppm PbCl_2

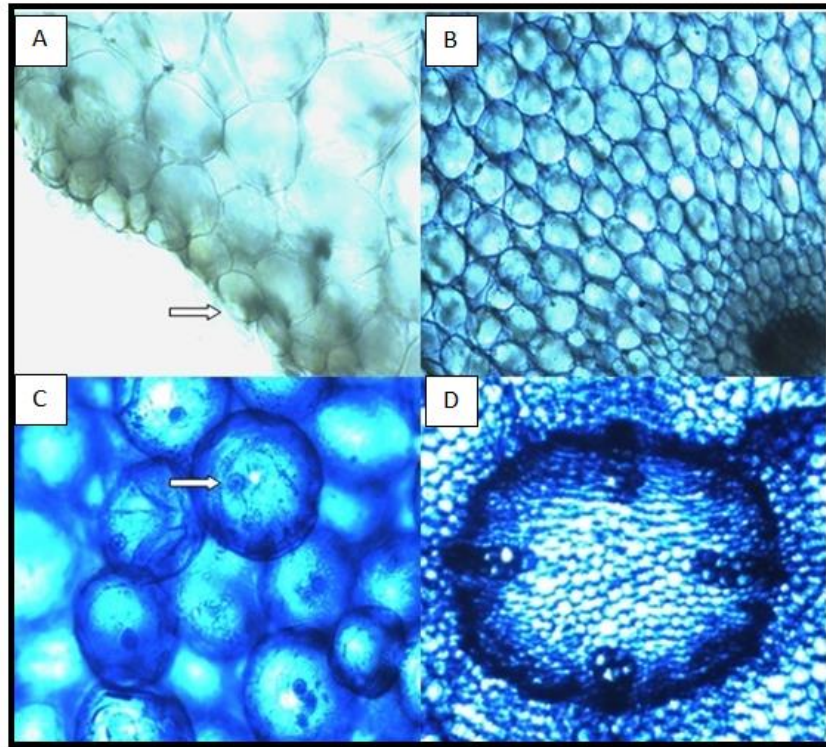
Grup 4: 5 ppm $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$

Grup 5: 5 ppm AlCl_3

Kontrol grubu çeşme suyu ile uygulama grupları ise ZnSO_4 , PbCl_2 , $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ ve AlCl_3 'nin 5 ppm'lik dozları ile 72 saat süresince çimlendirilmiştir. Çimlenme süresinin sonunda kök uçları distile su ile yıkanmış, enine kesitleri alınmış, %5'lik Metilen mavisi ile 5 dakika boyanmış ve IRMECO model IM-450 TImarka araştırma mikroskopunda incelenerek, anatomik hasarlar tespit edilmiştir [46].

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Zn, Pb, Cr ve Al metal iyonlarının *V. faba* kök ucu meristematik hücrelerinde sebep olduğu anatomik değişimler araştırılmıştır. Kontrol grubu kök uçlarının meristematik hücrelerinde mikroskopik seviyede her hangi bir hasar gözlenmezken (Şekil 4.1), Zn, Pb, Cr ve Al metal iyonları ile muamele edilen gruplarda şiddeti değişmekle birlikte epidermis hücre deformasyonu, korteks hücre çeperinde kalınlaşma, korteks hücrelerinde madde birikimi, mikronukleus, belirgin olmayan iletim doku ve yassılaştırmış hücre çekirdeği şeklinde anatomik hasarlar gözlenmiştir.



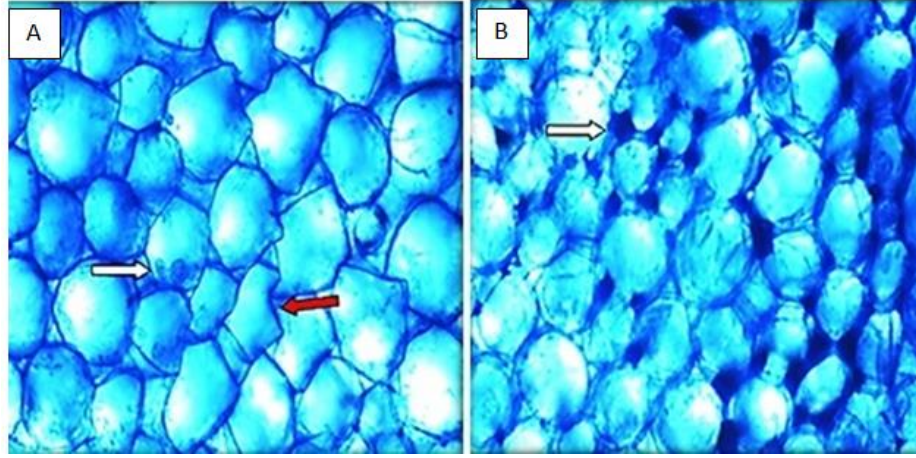
Şekil 4.1 Kontrol grubu *Vicia faba* kök uçlarının anatomik görünümü [a: epidermis hücrelerinin normal görünümü, b: korteks hücrelerinin normal görünümü, c: hücre çekirdeğinin normal görünümü (oval), d: iletim dokunun normal görünümü]

4.1. Mikronukleus oluşumu

5 ppm dozlarında Zn, Pb, Cr ve Al uygulanan gruplarda ki kök ucu hücrelerinde gözlenen anatomik hasarlardan bir tanesi mikronukleus oluşumudur (Şekil 4.2a). Howell ve Jolly tarafından ilk kez 19. yüzyılın sonunda varlığı rapor edilen ve Howell-Jolly cismi adı verilen bu küçük inklüzyonlar mikronukleus olarak tanımlanmıştır [47]. Evans ve arkadaşları [48] gama ışınlarının barbunya fasulyesinin kök uçlarında mikronükleus oluşturduğunu bildirmişler ve kromozomal aberasyonunun değerlendirilmesinde mikronukleus sıklığını kullanmışlardır. Boller ve Schmid [49] ise güçlü bir alkilleyici ajan olan trenimonun periferik kan hücrelerinde normal eritrositler arasında mikronukleuslu eritrositlerin sıklığını değerlendirmek için bir test yöntemi geliştirmiş ve bu test mikronükleus testi olarak literatürde yerini almıştır. Fenech ve Moley [50] ise sitokalsin kullanarak MN testini modifiye etmişler ve sitotoksisite/genotoksisite testlerinde MN testi yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. MN'ler nükleus bölünmesi sırasında geride kalan ve ana nükleusta yer almayan kromozom fragmanlarından veya tam kromozomlardan kaynaklanmaktadır. Hücrede oluşan genotoksik etki sonucunda kromozomlarda gecikme ve kromozom kırıkları oluşmakta, geciken ya da kırılan kromozom etrafında bir nükleer zarf oluşmakta, ana çekirdeğe benzer fakat daha küçük boyutlarda MN yapıları ortaya çıkmaktadır. Bir hücrede oluşan MN, kromozomal çift sarmallı DNA kırılmasından, fragmanlar, tek sarmallı kırılmalardan ya da DNA sentezindeki inhibisyonundan kaynaklanabilir. Bir kimyasal, hücrede kromozomlara, iğ ipliklerine, sentromer ya da kinetokor bölgelerine hasar verdiği zaman mitotik döngüde bozulmalar oluşmakta ve kromozom kırıkları ya da kutuplara çekilmelerde anormallikler yaşanmakta ve MN'ler ortaya çıkmaktadır. MN sıklığının artması toksisitenin artması ile ilişkilendirilebilmektedir [51]. Literatürde de bitkilerde ağır metallerin neden olduğu toksisite üzerine benzer çalışmalar mevcuttur. Steinkellner ve arkadaşları [52] ağır metallerin farklı bitkilerde neden olduğu genotoksisiteyi MN testi ile değerlendirmiş ve *V. faba*'da en toksik etkinin Pb ağır metalinden kaynaklandığını ve Pb'ye maruz kalan bitkide yoğun MN oluşumunu rapor etmişlerdir.

4.2. Hücre çeperinde kalınlaşma

5 ppm dozlarında Zn, Pb, Cr ve Al uygulanan gruplarda kök ucu hücrelerinde gözlenen anatomik hasarlardan bir diğeri de hücre çeperinde kalınlaşmadır (Şekil 4.2b). Genel olarak bu anatomik hasar sıklığında $Pb > Cr = Al > Zn$ şeklinde bir sıralama gözlenmiştir. Yani hücre çeperinde kalınlaşma yoğun olarak Pb uygulanan grupta, en az ise Zn uygulanan grupta tespit edilmiştir. Bu kalınlaşma ağır metale maruz kalan bitkilerde metallerin hücre duvarına bağlanması ve bağlanmanın gerçekleştirdiği bölgelerin kalınlaşması ile açıklanabilir. Bitkilerde hücre çeperi, iki değerlikli ve üç değerlikli metal katyonları bağlayabilen bileşikler bakımından zengin bir içeriğe sahiptir. Metallerin bağlanmasında ve hücre duvarında birikiminde polisakkaritler çok önemli bir rol oynamaktadır. Hücre duvarında bulunan proteinler, amino asitler ve fenolikler gibi diğeri bileşikler de bu süreçte yer alabilmektedir. İki değerlikli metal katyonların bağlama yeteneği, hücre duvarında bulunan $-COOH$, $-OH$ ve $-SH$ gibi fonksiyonel grupların sayısına bağlı olarak değişmektedir [53,54]. Bununla birlikte, hücre duvarının iki değerlikli ve üç değerlikli metal katyonlarını bağlayabilmesi genel olarak polisakkaritlerde bol miktarda bulunan karboksil gruplarına bağlıdır. Ana polisakkaritten biri olan pektinler hücre duvarının yaklaşık %30'unun oluşturmaktadır. Pektinler homogalakturnan, ramnogalakturnan I, ramnogalakturnan II (RGII) ve ksilogalakturnan olmak üzere farklı yapılardan oluşmaktadır. Bu yapılardaki çeşitlilik pektinin ve hücre duvarının yapısında çeşitliliğe de neden olmaktadır. Hücre duvarına iki değerlikli ve üç değerlikli metal katyonlarının bağlanmasından sorumlu ana pektin homogalakturnandır. İki değerlikli veya üç değerlikli metal katyonlar ile pektin arasındaki etkileşim pek çok parametreden etkilenmektedir. Pektinin yük yoğunluğu, çözeltinin iyonik gücü ve katyon ile pektin arasındaki etkileşimin gücü bu parametrelerden bazılarıdır. Ağır metallerin pektine ve hücre duvarına bağlanması o bölgenin kalınlaşmasına ve metalin hücre içine girişinin sınırlandırılmasına neden olmaktadır. Bu sayede bu kalınlaşma hücre içini koruyan bir bariyer gibi davranmaktadır. Literatürde de çeşitli ağır metallere maruz kalan bitkilerde hücre çeperinde kalınlaşma olduğu rapor edilmektedir. Krzeslowska ve arkadaşları [55] Pb'ye maruz kalan bitkilerde kontrol grubuna kıyasla pektin dokusunda artış olduğunu ve hücre duvarında kalınlaşma olduğunu rapor etmişlerdir.



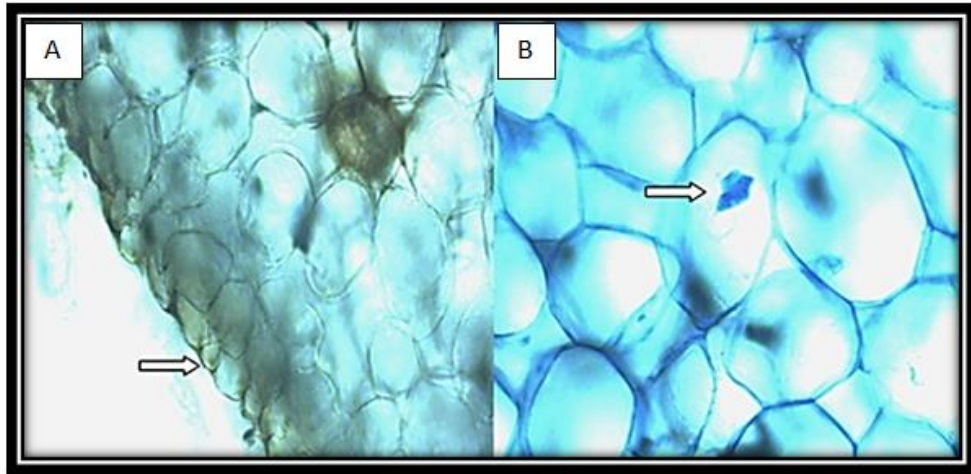
Şekil 4.2. *Vicia faba* kök uçlarında Zn, Pb, Cr ve Al tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar a. Mikronukleus oluşumu, b. hücre çeperinde kalınlaşma

4.3. Korteks hücresinde madde birikimi

Korteks, kök epidermisinin altından başlayıp merkezi silindire kadar uzanan parankima hücrelerinden oluşan geniş bir tabakadır. Kök korteksi gövdeye göre daha çok depo görevini üstlendiği için daha fazla yer kaplamaktadır. Kök çevresinde bulunan ve suda erimiş maddeler korteks hücreleri arasındaki boşluklardan kök içine girer [56]. Ağır metale maruz kalan *V. faba*'nın kök uçlarında, Zn, Pb, Cr ve Al tarafından verilen hasarın kortekste madde birikimine ve hücre deformasyonuna yol açtığı görülmüştür (Şekil 4.3). Korteksteki ağır metal birikimi sonucunda korteks hücre çeperinde kalınlaşma meydana gelmiştir. Bunun nedeni ağır metallerin korteks hücresine girişini ve bitkinin diğer kısımlarına taşınmasını engellemektir [57]. Bu çalışmada kortekste madde birikimi $Pb > Cr > Zn = Cr$ şeklinde olmuştur. En büyük hasarı $PbCl_2$ oluşturmuştur. Bitkilerde ağır metaller çeşitli şelatlayıcı moleküllere bağlanarak toksisitesi azaltılabilmektedir. Bu tür kompleksler ise kortekste birikime neden olmaktadır. Anatomik hasarlardan olan hücre deformasyonu durumunda ise tolerans oluşmadığı durumlarda, ağır hasar sonucunda hücrede aşırı deformasyon meydana gelmektedir. Ağır metal maruziyeti sonucunda gözlenen bu deformasyon hücre zarı ve organellerde aşırı hasar sonucu bozulmalar, hücre hacminde ani artış,

enerji kaynaklarının azalması ile ilişkilendirilebilir. Literatürde de farklı bitki türlerine ağır metal uygulanması sonucu kortekste madde birikimi ve deformasyon oluşumu rapor edilmektedir.

Örneğin; Çavuşoğlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Civil dere suyunda bulunan ağır metal iyonlarının *Allium cepa* bitkisinde meydana getirdiği anatomik hasarlar incelenmiştir. Araştırmada kontrol grubuna çeşme suyu, deney grubuna ise dere suyu verilmiştir. Çeşme suyu verilen kontrol grubunda anatomik olarak gözlenen herhangi bir hasar yokken dere suyu kullanılan grupta kromozomal anormalliklerin olduğu, hücre çeperinin kalınlaştığı, mikronukleus sıklığında önemli değişimler olduğu rapor edilmiştir [58]. Bir başka çalışmayı örnek verecek olursak, *Brachiaria decumbens* Stapf. bitkisi üzerinde yapılan çalışmada Zn, Cd, Cu, Pb gibi ağır metallerin neden olduğu anatomik değişiklikler incelenmiş olup yüksek konsantrasyondaki metallere maruz bırakılan grupta korteks hücre duvarında kalınlaşma ve çeşitli anatomik hasarlar gözlemlenmiştir [59].



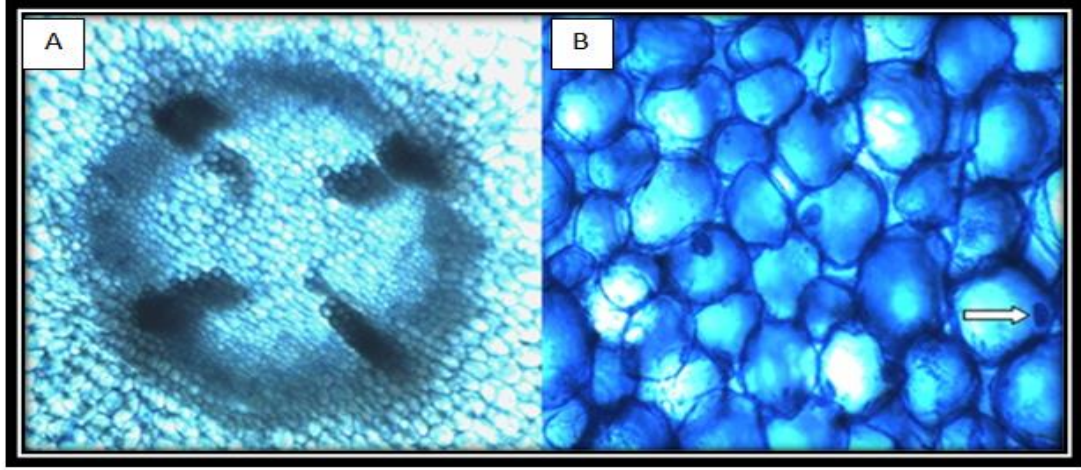
Şekil 4.3. *Vicia faba* kök uçlarında Zn, Pb, Cr ve Al tarafından teşvik edilen anatomik hasarlara: epidermis hücre deformasyonu, b: korteks hücrelerinde madde birikimi

4.4. Belirgin olmayan iletim doku ve yassılaşmış hücre çekirdeği

Yassılaşmış hücre çekirdeği Zn, Pb, Cr ve Al uygulanmış *V. faba* kök ucu hücrelerinde görölen anatomik anormalliklerden biridir. Nedeni ise toksik etkilerin kümülatif bir sonucudur. şekil 4.4'te *Vicia faba* kök ucu hücrelerinde, uygulanan ağır metallerin neden olduğu yassılaşmış hücre çekirdeği rahatlıkla görölebilmektedir. Ortam koşulları normal olduğuunda, hücre çekirdekleri küresel ya da elips şeklinde olup, stres koşullarında, fiziksel ve kimyasal etkiler sonucunda veya hücre içi basınç değişimlerinde morfolojik olarak anormallikler ve farklılıklar gösterebilirler. Yassılaşmış hücre çekirdeğine, nükleer protein konsantrasyonu ve DNA heliks hacmindeki değişimler, nükleus şeklinde hacimsel ya da morfolojik değişimler neden olabilmektedir [60]. Literatürde de çeşitli kimyasal maruziyeti ya da stres koşulları altında bitki kök ucu hücrelerinde yassılaşmış hücre çekirdeği varlığı rapor edilmektedir. Literatürdeki benzer çalışmalara örnek verecek olursak; *Allium cepa* bitkisinin Vanadyum (V) elementine maruz kalması sonucunda bitkilerin kök ucu hücrelerinin çekirdeklerinde yassılaşma, nükleus hacminde artış ve çeşitli hasarlar gözlemlenmiştir [60].

Bitkilerde iletim demetleri hücrelerin, yaşamlarını devam ettirebilmesi için gerekli besin ve oksijeni hücre içine almak, atıkları ve karbondioksiti hücreden uzaklaştırmak için görev yapar. Bazı karasal bitkilerde osmotik ve turgor basıncı gibi kuvvetlerle su, hücre içine alınsa da bu kısa boylu ve daha az gelişmiş bitkilere özgüdür. Gelişmiş ve büyük bitkilerde iletim demetleri olmak zorundadır. Dolayısıyla bir bitkinin sağlıklı bir şekilde hayatta kalabilmesi için iletim demetlerinin de sağlıklı olması gerekir. Su ve mineralleri taşıyan iletim demetleri bitkilerin maruz kaldığı ağır metalleri de bitkinin diğer kısımlarına taşıyabilmektedir. Bu sebepten ağır metallerin bu hücrelere ulaşmaması için bitki çeşitli önlemler almaktadır. Ağır metalleri vakuollerde hapsedme, hücre çeperini kalınlaştırma, madde atılımını artırma, alımını azaltma gibi pek çok önlemler ağır metalin iletim demetine ulaşmasını engellemek için geliştirilmiştir. Bu önlemlere rağmen özellikle yüksek ağır metale maruz kalan bitkilerde iletim dokusu zarar görmektedir. İletim dokusunun belirgin ve düzenli yapısını bozan ağır metaller, iletim demeti hücrelerinde nekroz, çeperlerde ve stoplazmada madde birikimi, çeperlerde hasar ve

parçalanma gibi anormalliklere yol açar [40]. Yüksek dozda verilen çoğu kimyasal maddenin iletim demetine ulaşp burada hasara yol açtığını gösteren bir çok çalışma mevcuttur. Örneğin bir çalışmada ise kurşunun *Allium cepa* bitkisinde sebep olduğu fizyolojik, sitogenetik ve anatomik hasarlar araştırılmış ve bitki kök ucu hücrelerinde belirgin olmayan iletim doku gibi anatomik hasarlar ve kromozomal hasarlar gözlemlenmiştir [45].



Şekil 4.4. *Vicia faba* kök uçlarında Zn, Pb, Cr ve Al tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar a: belirgin olmayan iletim doku, b: yassılaştırmış hücre çekirdeği)

4.5. Toksisite sıralaması

Vicia faba kök uçlarına uygulanan ağır metaller, toksisite şiddeti açısından $Pb > Al > Cr > Zn$ şeklinde bir sıralama sergilemiştir. Kurşun metali normalden fazla oranda bitkiye verildiğinde, bitki gelişimini ve büyümesini olumsuz yönde etkileyen ağır metallerin başında gelmektedir. Kurşun birikimi bitkisel dokularda stresle beraber, kök gelişiminden, hücre duvarının stabilitesini bozmaya kadar bitkiye çok çeşitli hasarlar vermektedir. Örneğin stoma hareketlerini yavaşlatması yaprak alanını azaltarak bitkide su alımı ve transportunu da etkilemektedir. Köklerin kurşun metalini tutmasıyla beraber, kök gelişimini azaltıp bitkilerin katyon ve anyon alımını azalır ve böylece besin alımını da etkilenmektedir [61,62].

Metaller doğada doğal olarak bulunmakla beraber bakır (Cu) ve çinko(Zn) gibi metaller yaşam için gereklidir. Kurşun (Pb) ve civa (Hg) gibi diğer metallerin ise bitkiler de faydalı herhangi bir biyokimyasal fonksiyon yerine getirdiği bilinmemektedir. (Allan, 1997). Dolayısıyla kurşun (Pb) bitkide birçok anabolik ve katabolik olayı etkilediği için şiddeti en yüksek hasarı kurşun vermiştir. İkinci sırada olan Al ise bitkilerdeki başlıca zararı kök sistemini geriletip, besin alımını ve taşımını önlemektir. Aynı zamanda katyon alımını da azaltarak bitkiye zarar verir. Alüminyumun bitkiye verdiği ilk zarar yan köklere olup, yan köklerin gelişimi azalır, aynı zamanda kök ucuna hasar verdiğinden kök uzamasını da engeller. Bitkiye bu şekilde zarar verdiğinden yetersiz besin alımından kaynaklı beslenme eksiklikleri görülür. Tüm bu sebeplerden alüminyumunu normalden fazla bitkiye verilmesi veya ortamda bulunması bitkiye oldukça büyük zararlar verir [63]. Bizim çalışmamızda da alüminyumun hasarının ikinci sırada olmasının nedeni budur.

Bir bitkide her metal farklı toksik etki yapar aynı zamanda metalin bitki tarafından alınması ve taşınması da birbirinde farklıdır. Bitkide birikerek toksik seviyeye ulaşan krom ilk olarak tohum çimlenmesini etkiler. Krom bitkinin kök hücrelerinde bölünmeyi ve uzamayı engelleyerek kökün gelişmesini kısıtlar. Kök gelişimi az olan bitki topraktan yeterince besin ve su alamayacağı için bitkinin büyümesi ve gelişmesi azalır. Sonuç olarak bitkinin verimi ve kalitesi azalır [64].

Kök meristem hücrelerinde çinkonun toksik etkisi mitoz bölünmeyi engellemesi ile oluşur ve hem kök hem gövde gelişimine etki ettiği görülmüştür. Bitkilerin maruz kaldıkları elementin fazlalığına gösterdiği toleranslar, çinko fazlalığında oldukça yüksektir. Çinko toksisitesi karşısında bitkilerin gösterdiği tepki diğer ağır metallere gösterdiği tepkiye yakın olur ancak, çinko diğer metaller kadar zehirli ve zararlı değildir [65]. Bu sebepten deney grubumuzda ki diğer elementlere göre Zn uygulanan bitkide hücre deformasyonu, hücrede madde birikimi ya da hücre çekirdeğindeki değişimlerle diğer ağır metallere göre bitkiye daha az zarar vericidir.

Tablo 4.1. Ağır metal uygulamalarının sebep olduğu meristematik hücre hasarları

Hasarlar	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Epidermis hücre deformasyonu	-	+	+++	++	++
Korteks hücre çeperinde kalınlaşma	-	+	+++	++	++
Korteks hücrelerinde madde birikimi	-	+	+++	+	++
Mikronukleus	-	-	+++	+	++
Belirgin olmayan iletim doku	-	+	+++	+	++
Yassılaşmış hücre çekirdeği	-	+	+++	++	+++

*Grup 1: kontrol, Grup 2: 5 ppm ZnSO₄, Grup 3: 5 ppm PbCl₂, Grup 4: 5 ppm Cr(NO₃)₃, Grup 5: 5 ppm AlCl₃. (-): hasar yok, (+): az hasar, (++) : orta hasar, (+++) : şiddetli hasar

BÖLÜM 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitkiler, çevresel kirliliğinin ve endüstrileşmenin artışına bağlı olarak pek çok ağır metale maruz kalmakta ve bunun sonucunda anatomik yapılarında ve biyokimyasal aktivitelerinde önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişiklikler bitkinin fizyolojik gelişimini de etkilemekte ve anatomik yapılarında önemli değişimlere sebep olmaktadır. Bu değişimlerden bazıları ağır metale karşı tolerans geliştirmek için oluşurken bazı değişiklikler ağır metal hasarı sonucunda oluşmaktadır. Bitkiler tolerans mekanizmaları sayesinde ağır metal stresine rağmen yaşamına devam edebilmektedir. Yüksek dozlarda ise hasar oluşumu sonucunda bitki yaşamı tehlikeye girmektedir. Toksik etki ve tolerans mekanizmasında ağır metalin konsantrasyonu oldukça önemlidir. Bu çalışmada, Zn, Pb, Cr ve Al metallerinin *Vicia faba*'da anatomik etkileri incelenmiştir. Her bir metalin farklı derecelerde anatomik değişimlere neden olduğu saptanmış ve toksisite bakımından $Pb > Al > Cr > Zn$ şeklinde bir sıralama elde edilmiştir. Bitkilerde biriken ağır metaller besin zinciri yoluyla insanlara ve hayvanlara da ulaşabilmektedir. Bu nedenle ağır metallerin sınırlı ve belirli doz aralığında kullanımı ve bitkiler, hayvanlar gibi birçok canlı organizma üzerindeki etkilerinin araştırılması oldukça önemlidir.

KAYNAKLAR

- [1]. Asati A., Pichhode M., & Nikhil K., Effect of heavy metals on plants: an overview. *Int. J. Appl. Innov. Eng. Manage.*, 5, 2319-4847, 2016.
- [2]. Duruibe J.O., Ogwuegbu M.O.C., & Egwurugwu J.N., Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *Int. J. Phys. Sci.*, 2(5), 112-118, 2007.
- [3]. Mildvan A.S., Metal in enzymes catalysis. In: Boyer DD (ed) *The enzymes*, vol 11. Academic Press, London, 445–536, 1970.
- [4]. Asscheand F., & Clijsters H., Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.*, 24, 1–15, 1990.
- [5]. Jadiaand C.D., & Fulekar M.H., Phytoremediation of heavy metals: recent techniques. *Afr. J. Biotechnol.*, 8 (6), 921–928, 1999.
- [6]. Taizand L., & Zeiger E., *Plant Physiology*, Sinauer Associates, Sunderland, Mass, USA, 2002.
- [7]. Schaller A., & Diez T., Plant specific aspects of heavy metal uptake and comparison with quality standards for food and forage crops. *Der Einfluß von festen Abfällen auf Böden, Pflanzen: Sauerbeck D., Lübben S., Eds., KFA, Jülich, Germany, 92-125, 1991.*
- [8]. Tamás L., Mistrík I., Huttová J., Halušková L.U., Valentovičová K., & Zelinová V., Role of reactive oxygen species-generating enzymes and hydrogen peroxide during cadmium, mercury and osmotic stresses in barley root tip. *Planta*, 231(2), 221-231, 2010.
- [9]. Zhang Y., Li J., Yu F., Cong L., Wang L., Burkard G., & Chai T., Cloning and expression analysis of SK n-type dehydrin gene from bean in response to heavy metals. *Mol. Biotechnol.*, 32(3), 205-217, 2006.
- [10]. Imran M.A., Ch M.N., Khan R.M., Ali Z., & Mahmood T., Toxicity of arsenic (As) on seed germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Int. J. Phys. Sci.*, 8, 840–847, 2013.

- [11]. Sharma S.S., & Dietz K.J., The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. *J. Exp. Bot.*, 57(4), 711-726, 2006.
- [12]. DalCorso G., Manara A., & Furini A., An overview of heavy metal challenge in plants: from roots to shoots. *Metallomics.*, 5, 1117–1132, 2013.
- [13]. Aslam B., Javed I., Khan H.F., & Rahman Z., Uptake of heavy metal residues from sewage sludge in the goat and cattle during summer season. *Pak. Vet. J.*, 31, 75-77, 2011.
- [14]. Duffus JH., Heavy metals: a meaningless term (IUPAC Technical report). *Pure Appl. Chem.*, 74, 793-807, 2002.
- [15]. Kahvecioğlu Ö., Kartal G., Güven A., & Timur S., Metallerin çevresel etkileri-I. *Metalurji Derg.*, 136, 47-53, 2003.
- [16]. Kennedy C.D., & Gonsalves F.A.N., The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and H⁺, efflux of excised roots. *Journal of Exp. Bot.*, 38(5), 800-817, 1987.
- [17]. Dürüst N., Dürüst Y., Tuğrul D., & Zengin M., Heavy metal contents of *Pinus radiata* trees of İzmit (Turkey). *Asian J. Chem.*, 16 (2), 1129-1134, 2004.
- [18]. European Commission DG ENV. E3 Project ENV.E.3/ETU/2000/0058, Heavy Metals in Waste. February 2002, Danimarka.
- [19]. Rout G.R., & Das P., Effect of metal toxicity on plant growth and metabolism: *Agronomie*, 23, 3-11, 2003.
- [20]. Vaillant N., Monnet F., Hitmi A., Sallanon H., & Coudret A., Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress. *Chemosphere*, 59:,1005-1013, 2005.
- [21]. Özbek H., Kaya Z., Gök M., & Kaptan H., Toprak bilimi. Çukurova Ün. Ziraat Fak. Yayın., 73, 16-21, 1995.
- [22]. Van Assche F.V., & Clijsters H., Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.*, 13, 95-206, 1990.
- [23]. Han F.X., Sridhar B.M., Monts D.L., & Su Y., Phytoavailability and toxicity of trivalent and hexavalent chromium to *Brassica juncea*. *New Phytol.*, 162(2), 489-499, 2004.

- [24]. Strlic M., Kolar J., Selih V. S., Kocar D., & Pihlar B., A comparative study of several transition metals in Fenton-like reaction systems at circum-neutral pH. *Acta Chim. Slov.*, 50(4), 619-632, 2003.
- [25]. Ting Y.P., Lawson F., & Prince I.G., The influence of cadmium and zinc on the cell size distribution of the alga *Chlorella vulgaris*. *Chem. Eng. J.*, 47(3), 23-34, 1991.
- [26]. Yıldız M., Hakan T., & Urşak B., Bitkilerde krom toksisitesi ve hücre sel cevaplar. *Erciyes Ün. Fen Bil. Enst. Derg.*, 27, 163-176, 2011.
- [27]. Dixit V., Pandey V., & Shyam R., Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad) root mitochondria. *Plant Cell Environ.*, 25, 687-690, 2002.
- [28]. Ramachandran V., D'souza T.J., & Mistry K.B., Uptake and transport of chromium in plants. *J. Nucl. Agric. Biol.*, 9, 126-128, 1980.
- [29]. Liu J., Goyer R.A., & Waalkes M.P., Toxic effects of metals. In: Klaassen CD, ed. *Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons*. 6th ed. New York, McGraw-Hill, 931-979, 2008.
- [30]. Exley C., Human exposure to aluminium. *Environ. Sci. Proc. Imp.*, 15(10), 1807-1816, 2013.
- [31]. Zohary D., Hopf M., & Weiss E., *Domestication of Plants in the Old World*, Oxford University Press, 89-92, 2013.
- [32]. Zhukovski P.M., Türkiye'nin zirai bünyesi. Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Neşr., 20, 417-422, 1951.
- [33]. Baytop T., Türkiye' de bitkiler ile tedavi: Geçmişte ve bugün. s. 160, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul. (2. Baskı) (1999).
- [34]. <https://www.warrenphotographic.co.uk/14971-broad-bean-growing-series>. Erişim Tarihi: 05.05.2021.
- [35]. Allard R.W., Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their progenies. *J. Hered.*, 79, 225-238, 1988.
- [36]. Roberts E., Summerfield R., Ellis R., & Qi A., Adaptation of flowering in crops to climate. *Outlook Agric.*, 22, 105-110, 1993.

- [37]. Hällgren J.E., & Oquist G., Adaptations to low temperatures. In: R. G. Alscher and J. R. Cumming (Eds.) Stress Response in Plants: Adaptation and acclimation mechanisms, Wiley-Liss, New York, 265-293, 1990.
- [38]. Hoffman A.A., & Parsons P.A., Evaluationary genetics and environmental stress. Oxford Sci. Publ, Oxford, 1991.
- [39]. Asri F.Ö., & Sönmez S., Ağır metal toksisitesinin bitki metabolizması üzerine etkileri. Derim, 23(2), 36-45, 2006.
- [40]. Baker A.J.M., & Walker P.L., Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. Heavy metal tolerance in plants. Ev. Asp., 155-177, 1990.
- [41]. Clemens S., Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. Biochimie, 88, 1707-1719, 2006.
- [42]. Brooks R.R., General Introduction. In: Brooks, R.R. (ed.). Plants that hyperaccumulate heavy metals: their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining. CAB International, New York, 1-14, 1998..
- [43]. Reeves R.D., Hyperaccumulation of trace elements by plants. In Phytoremediation of metal-contaminated soils, Springer, 25-52, 2006.
- [44]. Assuncao A.G.L., Schat H., & Aarts M.G.M., *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation plants. New Phytol., 159(2), 351-360, 2003.
- [45]. Girasun N., *Allium cepa*'da $Pb(NO_3)_2$ 'nin sebep olduğu fizyolojik, anatomik ve sitogenetik değişimlerin araştırılması, Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2017.
- [46]. Akgündüz M.Ç., Çavuşoğlu K., & Yalçın E., The potential risk assessment of phenoxyethanol with a versatile model system. Sci. Rep., 10(1), 1-10, 2020.
- [47]. Hayashi M., The micronucleus test—most widely used in vivo genotoxicity test. Genes and Environ., 38(1), 18, 2016.
- [48]. Evans H.J., Neary G.J., & Williamson F.S., The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gamma-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen. Int. J. Rad. Biol., 3, 216–29, 1959.

- [49]. Boller K., & Schmid W., Chemical mutagenesis in mammals. The Chinese hamster bone marrow as an in vivo test system. Hematological findings after treatment with trenimon. Hum. Genet., 11(1), 35-54, 1970.
- [50]. Fenech M., & Morley A.A., Measurement of micronuclei in lymphocytes. Mutat. Res., 147, 29–36, 1985.
- [51]. Ladeira C., Mycotoxins: genotoxicity studies and methodologies. In Environmental Mycology in Public Health, Academic Press, 343-361, 2016.
- [52]. Steinkellner H., Mun-Sik K., Helma C., Ecker S., Ma T.H., Horak O., & Knasmüller S., Genotoxic effects of heavy metals: comparative investigation with plant bioassays. Environ. Mol. Mut., 31(2), 183-191, 1998.
- [53]. Kartel M.T., Kupchik L.A., & Veisov B.K., Evaluation of peçtin binding of heavy metal ions in aqueous solutions. Chemosphere, 38, 2591–2596, 1999.
- [54]. Davis T.A., Volesky B., & Mucci A., A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brownalgae. Water Res., 37, 4311–4330, 2003.
- [55]. Krzesłowska M., Lenartowska M., Mellerowicz E. J., Samardakiewicz S., & Woźny A., Pectinous cell wall thickenings formation—a response of moss protonemata cells to lead. Environ. Exp. Bot., 65(1), 119-131, 2009.
- [56]. Verklaij J.A.C., & Schat H., In: Heavy Metal tolerance in plants: evolutuonary aspects, Ed: A.J. Shaw, Press, Boca Raton, 179-193, 1990.
- [57]. Macar O., Kalefetoğlu T., Çavuşoğlu K., & Yalçın E., Protective effects of anthocyanin-rich bilberry (*Vaccinium myrtillus*) extracta against copper (II)chloride toxicity. ESPR, 27 (2), 1428- 1435, 2020.
- [58]. Doğan M., Yalçın E., Çavuşoğlu K., Acar A., Çavuşoğlu K., & Yapar K., Civil dere suyunda bulunan ağır metal iyonlarının *Allium cepa* L. (Amaryllidaceae)’da teşvik ettiği fizyolojik, sitogenetik ve anatomik değişimlerin araştırılması. GOP Bil. Araş. Derg., 1-13, 2018.
- [59]. Gomes M.P., de Sáo Melo Marques T.C.L.L., Nogueira M.O.G., Castro E.M., & Soares A.M., Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. Sci. Agric., 68(5), 566-573, 2011.

- [60]. Kalefetoğlu M.T., Macar O., Yalçın E., & Çavuşoğlu K., *Allium cepa* L.'da vanadyum (v) toksisitesinin fizyolojik ve anatomik etkilerinin araştırılması, UBAK Uluslararası Bil. Akad., 158-162, 2019.
- [61]. Verma S., & Dubey R.S., Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.*, 164, 645-655, 2003.
- [62]. Miranda M.G., & Ilangovan K., Uptake of lead by *Lemna gibba* L. influence on specific growth rate and basic biochemical changes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56, 1000-1007, 1996.
- [63]. Mossor-Pietraszewska, T., Effect of aluminium on plant growth and metabolism. *Acta Biochim. Pol.*, 48(3), 673-686, 2001.
- [64]. Sharma A., Kapoor D., Wang J., Shahzad B., Kumar V., Bali A.S., & Yan D., Chromium bioaccumulation and its impacts on plants: an overview. *Plants*, 9(1), 100, 2020.
- [65]. Kaur H., & Garg N., Zinc toxicity in plants: a review. *Planta*, 253(6), 1-28, 2021.

ÖZGEÇMİŞ

Selin TİĞLİ İlk, orta ve lise eğitimini Giresun'da tamamladı. 2004 yılında Giresun Lisesi'nden mezun oldu. 2008 yılında başladığı Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nü 2012 yılında bitirdi. 2019 yılında başladığı Giresun Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimini 2021 yılında tamamladı.

