

TEMMUZ 2015

Yüksek Lisans – Biyoloji Bölümü

BURAK COŞKUN

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KROM VE NİKEL UYGULAMALARININ SUCUL
MAKROFİTLERDEN *BACOPA MONNIERI* L.'DE
BÜYÜME VE MİNERAL MADDE İÇERİĞİNE
ETKİLERİ

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BURAK COŞKUN

TEMMUZ 2015

**Krom ve Nikel Uygulamalarının Sucul Makrofitlerden
Bacopa monnieri L.'de Büyüme ve Mineral Madde İçeriğine
Etkileri**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Doç. Dr. Muhittin DOĞAN

Burak COŞKUN

Temmuz 2015

© 2015 [BURAK COŞKUN]

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: Krom ve Nikel Uygulamalarının Sucul Makrofitlerden *Bacopa monnieri*
L.'de Büyüme ve Mineral Madde İçeriğine Etkileri

Öğrencinin, Adı Soyadı: Burak COŞKUN

Tez Savunma Tarihi: 10 Temmuz 2015

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı



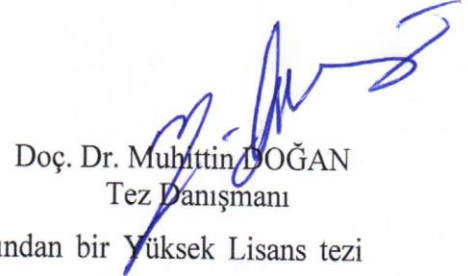
Prof. Dr. Metin BEDİR
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.



Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



Doç. Dr. Muhittin DOĞAN
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

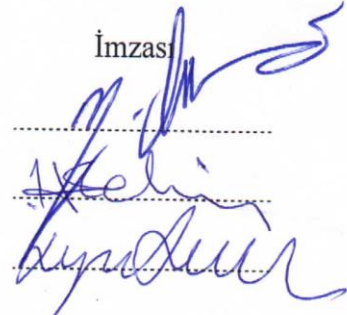
Jüri Üyeleri:

Doç. Dr. Muhittin DOĞAN

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin TEKİN

Yrd. Doç. Dr. Önder YUMRUTAŞ

İmzası



İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Burak COŞKUN

ABSTRACT

EFFECTS OF CHROMIUM AND NICKEL APPLICATIONS ON GROWHT AND MINERAL CONTENTS IN THE AQUATIC MACROPHYTE *BACOPA MONNIERI* L.

COŞKUN, Burak

M.Sc. in Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Muhittin DOĞAN

July, 2015

57 pages

In the present study, some physiological changes were investigated in *B. monnieri* which is treated with different concentrations of Ni (0, 5 and 50 mM), Cr (0, 5 and 50 mM) and their combinations (5 mM Ni + 5 mM Cr and 50 mM Ni + 50 mM Cr). Growth and development of *B. monnieri* were adversely affected by the applications which was determined by decrease in the amount of fresh and dry weight. Nickel and chromium contents of macrophyte tissues were increased with rising metal concentrations. Macro and micro nutrient contents of the macrophyte were affected by applications. Iron and copper contents of the tissues were decreased by applications. Zinc contents were generally rised by treatments, except of 50 mM Cr. Besides these, low Ni and Cr concentrations were increased in Mg, K and Ca contents. Chlorophyll-a, chlorophyll-b and carotenoid contents of macrophytes decreased by applications. Similarly, protein contents were decreased as well. Lipid peroxidation caused by Ni, Cr and Ni+Cr applications was determined from the increase in the amount of MDA. On the other hand, applications increase in proline amounts may show its role in macrophyte to metal toxicities.

Keywords: *Bacopa monnieri*, Physiological effect, Nickel, Chromium

ÖZET

KROM VE NİKEL UYGULAMALARININ SUCUL MAKROFİTLERDEN *BACOPA MONNIERI* L. 'DE BÜYÜME VE MİNERAL MADDE İÇERİĞİNE ETKİLERİ

COŞKUN, Burak
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü
Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Muhittin DOĞAN
Temmuz 2015
57 sayfa

Bu çalışmada, farklı derişimlerdeki Ni (0, 5 mM ve 50 mM), Cr (0, 5 mM ve 50 mM) ve bunların kombinasyonlarının (5 mM Ni + 5 mM Cr ve 50 mM Ni + 50 mM Cr) etkisinde yetiştirilen *B. monnieri*'deki bazı fizyolojik değişiklikler araştırılmıştır. Makrofitin büyüme gelişiminin uygulamalar tarafından olumsuz etkilendiği gözlenmiş olup aynı zamanda taze ve kuru ağırlık miktarındaki azalmalar belirlenmiştir. Makrofit dokularının Ni ve Cr içerikleri uygulanan metal derişimindeki artışla birlikte artmıştır. Makrofitin makro ve mikro besin element içeriği Ni, Cr ve bu metallerin kombine uygulamalarından etkilendiği belirlenmiştir. Dokuların Fe ve Cu içeriği uygulamalar tarafından azaltılmıştır. Çinko içeriği 50 mM Cr hariç, genelde uygulamalar tarafından artırılmıştır. Bunların yanında düşük Ni ve Cr derişimleri Mg, K ve Ca içeriğinde artışa neden olmuştur. Klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid içeriği metallerin uygulamalarıyla birlikte azalmıştır. Benzer olarak, makrofit dokularının protein miktarları da uygulamalar tarafından azaltılmıştır. Ni, Cr ve Ni+Cr uygulamalarının lipid peroksidasyonuna neden olduğu MDA miktarlarındaki artışlardan belirlenmiştir. Diğer yandan, makrofit dokularının prolin miktarlarında artışların bulunması, bunun metallere toleransta rolünün olduğunu gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: *Bacopa monnieri*, Fizyolojik etki, Krom, Nikel

TEŞEKKÜR

Bu alıŐma sűresince bilgilerini ve tecrűbelerini benimle paylaŐmaktan kaçınmayan Sayın Doç. Dr. Muhittin DOĐAN'a,

Lisans ve yűksek lisans eĐitimim sűresinde bilimsel anlamda geliŐimime katkı saĐlayan Gaziantep Ŭniversitesi Biyoloji Bűlűmű űĐretim űyelerine ve űĐretim elemanlarına,

Laboratuvar çalıŐmalarında desteklerini esirgemeyen Doktorant Serap ŐAHİN YİĐİT ve Biyolog OĐuz GűműŐ İNAN'a,

ÇalıŐma sűresince beni hep destekleyen ve gűvenen aileme sonsuz minnet ve teŐekkűrlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|------|
| ABSTRACT | v |
| ÖZET | vi |
| TEŞEKKÜR | vii |
| İÇİNDEKİLER | viii |
| TABLolar LİSTESİ | x |
| ŞEKİLLER LİSTESİ | xi |
| SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ | xiii |
| BÖLÜM 1 | 1 |
| GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Ağır Metaller | 1 |
| 1.1.1. Bitkiler Tarafından Ağır Metallerin Alınması | 3 |
| 1.2. Krom | 3 |
| 1.2.1. Bitkilerde Krom | 3 |
| 1.2.2. Kromun Alınımı, Taşınımı ve Birikimi | 3 |
| 1.2.3. Bitkilerde Kromun Toksik Etkileri | 4 |
| 1.3. Nikel | 7 |
| 1.3.1. Bitkide Nikel | 8 |
| 1.3.2. Nikelin Alınımı, Taşınımı ve Birikimi | 9 |
| 1.3.3. Bitkilerde Nikelin Toksik Etkileri | 10 |
| 1.4. <i>Bacopa monnieri</i> (L.) Pennell. | 12 |
| 1.5. Çalışmanın Amacı | 12 |
| BÖLÜM 2 | 14 |
| KAYNAK ÖZETLERİ | 14 |
| 2.1. Kromun Bitkilerdeki Etkileriyle İlgili Çalışmalar | 14 |
| 2.2. Nikelin Bitkilerdeki Etkileriyle İlgili Çalışmalar | 15 |
| 2.3. Krom Ve Nikel Uygulamasının Bitkilerdeki Etkileriyle İlgili Çalışmalar | 17 |
| BÖLÜM 3 | 18 |
| MATERYAL VE METOD | 18 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1. Deney Ortamı ve Uygulama..... | 18 |
| 3.2. Tartımlar..... | 18 |
| 3.3. Fotosentetik Pigment Tayini | 20 |
| 3.4. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi..... | 20 |
| 3.5. Protein Analizi..... | 20 |
| 3.6. Prolin Tayini..... | 20 |
| 3.7. Element Derişimleri | 21 |
| 3.8. İstatistiksel Analiz | 21 |
| BÖLÜM 4..... | 22 |
| BULGULAR..... | 22 |
| 4.1. Kuru Ağırlık | 22 |
| 4.2. <i>B. monnieri</i> Dokularının Ni Derişimleri..... | 22 |
| 4.3. <i>B.monnieri</i> Dokularının Cr Derişimleri..... | 24 |
| 4.4. <i>B.monnieri</i> 'nin Klorofil-a Miktarları..... | 25 |
| 4.5. <i>B.monnieri</i> 'nin Klorofil- b Miktarları | 26 |
| 4.6. <i>B. monnieri</i> Dokularının Prolin Miktarı | 27 |
| 4.7. <i>B. monnieri</i> Dokularının Protein Miktarı | 28 |
| 4.8. <i>B. monnieri</i> Dokularının MDA Miktarları | 29 |
| 4.9. <i>B.monnieri</i> Dokularının Element Derişimleri | 30 |
| 4.9.1. Magnezyum Derişimleri | 30 |
| 4.9.2. Demir Derişimleri | 31 |
| 4.9.3. Çinko Derişimleri | 32 |
| 4.9.4. Potasyum Derişimleri | 33 |
| 4.9.5. Bakır Derişimleri | 34 |
| 4.9.6. Kalsiyum Derişimleri..... | 35 |
| BÖLÜM 5..... | 37 |
| TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 37 |
| KAYNAKLAR | 41 |

TABLULAR LİSTESİ

| | Sayfa |
|---|-----------|
| Tablo 3.1. <i>B. monnieri</i> 'ye uygulanan metal derişimleri..... | 19 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 1.1. <i>B. monnieri</i> 'nin doğal ortamındaki genel görünümü..... | 12 |
| Şekil 3.1. <i>B. monnieri</i> 'nin Ni (A), Cr (B) ve Ni+Cr (C) uygulamaları sonrası görünümü..... | 19 |
| Şekil 4.1. Farklı Ni, Cr ve Ni+Cr derişimlerinin etkisinde yetiştirilen <i>B. monnieri</i> 'nin kuru ağırlık değişimleri..... | 22 |
| Şekil 4.2. Farklı Ni uygulamalarının etkisindeki <i>B. monnieri</i> dokularının Ni içeriği..... | 23 |
| Şekil 4.3. Farklı Ni+Cr uygulamalarının etkisindeki <i>B. monnieri</i> dokularının Ni içeriği..... | 23 |
| Şekil 4.4. Farklı Cr uygulamalarının etkisindeki <i>B. monnieri</i> dokularının Cr içeriği..... | 24 |
| Şekil 4.5. Farklı Ni+Cr uygulamalarının etkisindeki <i>B. monnieri</i> dokularının Cr içeriği | 25 |
| Şekil 4.6. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin klorofil-a miktarları | 26 |
| Şekil 4.7. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin klorofil-b miktarları..... | 27 |
| Şekil 4.8. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin prolin miktarları | 28 |
| Şekil 4.9. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin protein miktarları | 29 |
| Şekil 4.10. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin MDA miktarları..... | 30 |
| Şekil 4.11. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin Mg miktarları | 31 |
| Şekil 4.12. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin Fe miktarları | 32 |

| | |
|--|-----------|
| Şekil 4.13. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin Zn miktarları..... | 33 |
| Şekil 4.14. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin K miktarları | 34 |
| Şekil 4.15. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin Cu miktarları..... | 35 |
| Şekil 4.16. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki <i>B. monnieri</i> 'nin Ca miktarları..... | 36 |

SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ

Ag : Gümüş

ALA: Aminolevülinik asit

ALAD: Aminolevülinik asit dehidrataz

BSA: Bovin serum albumin

Ca : Kalsiyum

Cd : Kadmiyum

Co : Kobalt

Cr : Krom

Cu : Bakır

Fe : Demir

Hg : Cıva

K : Potasyum

K.A. : Kuru ağırlık

MDA : Malondialdehit

Mg : Magnezyum

mM : Milimolar

Mn : Mangan

Mo : Molibden

NADPH : Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

Ni : Nikel

nm: Nanometre

P : Fosfor

Pb : Kurşun

PBG : Porfobilinojen

ppm : Milyonda bir kısım

ROT: Reaktif oksijen türleri

S : Kükürt

Se : Selenyum

SOD : Süperoksit dismutaz

T.A. : Taze ağırlık

TCA : Trikloroasetik asit

yy: Yüzyıl

Zn : Çinko

μM : Mikromolar

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Ekosistemlerin toprak, su ve hava gibi cansız öğeleri özellikle insanın etkilerinden dolayı kirlenmektedir. Ayrıca çeşitli doğa olayları bu kirlenmeyi 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 (Kırbağ ve Zengin, 2006). Metaller ve diğer atıklardan oluşan kirleticilerin çok çeşitli kaynaklardan ortaya çıkabilmeleri, yaygın kirlenme nedeni oluşturmaları, çevre koşullarına dayanıklı olmaları, daima biyolojik sistemlere yönelik etki göstermeleri ve kolaylıkla besin zincirine girerek canlılarda artan yoğunluklarda birikebilmeleri nedeniyle diğer kimyasal kirleticiler arasında metaller kirletici özelliklerine göre ilk sırada yer almaktadır (Uzunoglu, 1999).

Ağır metallerin topraklardaki biyokimyasal reaksiyonları etkileyebilmektedirler. Toprak verimliliğindeki önemleri nedeniyle, mikroorganizmaların CO₂ üretimi, topraktaki enzim aktiviteleri ve nitrifikasyon olayı, ağır metallerin etkilerini inceleyebilmek için duyarlı indikatörler olarak tanımlanmaktadır. Ağır metallerin topraktaki biyolojik prosesler üzerine toksik etkisi, onların mobiliteleri, topraktaki konsantrasyonları, ana materyalin kimyasal bileşimi, toprak bileşimi ve bileşimin çözünürlüğüne bağlıdır (Ağca, 1998).

1.1. Ağır Metaller

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, bazı elementlerin üretiminin ve gereksiniminin artış göstermesi sebebiyle bunların çevreye yayılma ve bulaşma olasılığı da artış göstermektedir. Toprakta bulunan ağır metaller, birincil kaynaklar (gübreler, kireç, pestisitler, atık çamur, sulama vb.) gibi toprak işlenmesinin bir sonucu ya da ikincil kaynaklar (maden eritme alanları, otomobil aerosolleri, insineralörler, boya, deniz, çöp döküm alanları, kömürün yanması vb.) gibi faaliyetlerin bir sonucudur. Bir element

gerek maden cevheri halindeyken gerekse işlenirken doğaya karışabilmektedir (Özbek vd., 1995).

Ağır metaller yoğunluğu 5 g/cm³'ten yüksek olan metal ve metaloidler için kullanılan bir terimdir. Bu gruba Cd, Cr, Fe, Co, Cu, Ni, Hg ve Zn olmak üzere 60'ın üzerinde element dahil edilebilir (Kahvecioğlu vd., 2004). Doğal yollarla oluşan kirlenmenin yanında, evsel ve endüstriyel faaliyetler ile zirai aktiviteler çevrede ağır metal kirliliğine neden olabilmektedir (Kırbağ ve Zengin, 2006).

Son yüzyılda antropojenik faaliyetler sonucu ekosferin madde bütçesini önemli ölçüde değiştirmiştir. Ağır metallerin toprakta yüksek derişimlerde bulunması sadece toprak verimliliği ve ekosistem fonksiyonları üzerinde değil aynı zamanda besleme ağı yoluyla hayvan ve insan sağlığı üzerinde de önemli etkileri olabilmektedir (Özay ve Mammadov, 2013).

Doğal ekosistemde sürekli, dengeli bir madde ve enerji döngüsü vardır. Aldıkları besinleri enerjiye dönüştürüp kullanır, bir kısmını da depolayıp besin zincirinin bir üst halkasındaki canlıya aktarırlar. Canlılardan herhangi birinin kirleticiler ile zarar görmesiyle, madde ve enerji döngüsündeki bu zincirler kırılmakta, canlılar arasında var olan karşılıklı etkileşim bozulmaktadır. Ağır metal toksitesine maruz kalmış olana besin zincirindeki bir canlı bu toksiteyi bir üst basamağa iletmektedir (Gagnon, 2002). Normalde kayaların ve cevherlerinin bünyesinde bulunan metallerin sularda, organizmalarda, sedimentlerde ve toprakta da bulunması doğaldır (Alloway vd., 1993). Ağır metallerin kayaların parçalanma, taşınma, tortulanma gibi doğal süreçlerden geçmesi ve insan faaliyetlerine bağlı olarak da deniz ve göl diplerinde birikimi yıllar geçtikçe artmaktadır. Suda çözünür halde bulunan metaller çökerek sedimentte birikir, özellikle de nehirlerin göl ve denizlerle birleştiği geniş kısımlarda ağır metallerin birikimi daha yoğun olmaktadır (Fergusson, 1990). Topraklardaki ağır metallerin birikimi en fazla yüzeyde ya da yüzeye yakın derinliklerde oluşmaktadır. Çünkü ağır metallerin hemen tamamı topraktaki kil mineralleri üzerinde absorbe olmakta ya da toprakta ki organik bileşiklerle organo-mineral bileşikler oluşturarak kararlı forma dönüşmektedir (Tok, 1997; Adiloğlu vd., 2011). Bunun yanında, metal kirliliğinin çoğu yıkanma nedeniyle sularda toplanmaktadır (Tok, 1997; Uzunoğlu, 1999).

1.1.1. Bitkiler Tarafından Ağır Metallerin Alınması

Yapılan araştırmalarda bitkilerin, az miktarda da olsa atmosferde bulunan ağır metalleri yaprakları aracılığı ile alabildikleri gösterilmesine rağmen ağır metal alınımı büyük oranda kökler aracılığı ile olmaktadır. Ağır metallerin bitkiler tarafından alınımı pasif alınımlar, aktif alınımlar ve kolaylaştırılmış alınımlar olmak üzere üç şekildedir (Marschner, 2002). Metal alınımı ve taşınımı bitki türü ve metal çeşidine göre farklılıklar göstermektedir. Bitkiler havada gaz halinde bulunan ağır metalleri stomaları aracılığıyla (Lindberg, 1992, Marschner, 2002) ve kolloidlere tutunmuş, organik maddelere bağlı ve toprak çözeltisi içinde iyon halinde bulunan metalleri ise kökleri aracılığıyla almaktadır. Toprak sıcaklığı, organik madde miktarı ve diğer metallerin varlığı gibi toprak çözeltisindeki metal konsantrasyonunu değiştiren çevresel faktörler metal alınımını etkilemektedir (Greger, 1999).

1.2. Krom

Krom, 5B grubu bir geçiş metalidir ve atom numarası ise 24'tür. Bu metal dünyada en fazla bulunan yedinci elementtir (Cervantes, 2001). Kromun üç ve altı değerlikli olmak üzere iki formu vardır (Vajpayee, 2001). Krom paslanmaz çelik üretimi, çeşitli lehim ve pas engelleyicilerin üretimi ile ilgili metalürji endüstrisinde, boya, cila, cam ve seramik malzemelerinde, deri endüstrisinde kullanılmaktadır. Topraklarda 5-100 mg/kg oranlarında bulunur. Bitkide ise kuru madde de 100 mg/kg bulunması birçok yüksek bitki için toksiktir (Özbek vd., 1995). Metal sanayi ve kimya endüstrisi gibi alanlarında yaygın kullanıldığından dolayı Cr'un farklı bileşikleri hızla çevreye yayılmaktadır (Shanker, 2005).

1.2.1. Bitkilerde Krom

Bitki metabolizmasında esansiyel rol oynadığına dair yeterli bir kanıt bulunmamakla birlikte, Cr düşük seviyelerde bitkiye pozitif etkisinin olduğu düşünölmektedir. Cr toksisitesi, bitki kök yaralanmalarına, genç yapraklarda ise klorozise yol açar (Kabata-Pendias ve Pendias, 2001).

1.2.2. Kromun Alınımı, Taşınımı ve Birikimi

Bitkiler için toksik bir element olması nedeniyle Cr alınımı için spesifik bir mekanizma bulunmamaktadır. Cr alınımı, bitki metabolizması için zorunlu diğer metallerin

alınımında kullanılan taşıyıcılar ile gerçekleşmektedir. Cr toksik etkisi, bu metalin alınımı, taşınımı ve birikimini belirleyen farklı iyonik formlarına bağlıdır (Zayed, 1998). Hem Cr³ hem de Cr⁶ simplast yol ile endodermisi geçmek zorunda olduğu için hücrelerdeki Cr, düşük Cr konsantrasyonunda kök korteks hücrelerinde tutulan Cr'ye kolaylıkla indirgenebilmektedir. Vasküler bitkiler Cr-redükleyici enzimleri içermemesine rağmen, bu enzimler bakteri ve funguslarda çok yaygın olarak bulunmuştur (Cervantes, 2001).

Krom taşınımı, sülfat gibi esansiyel anyonların taşınımları ile gerçekleşen aktif bir mekanizmadır. Demir, kükürt, fosforun taşıyıcıya bağlanmada Cr ile rekabet ettiği bilinmektedir (Cervantes vd., 2001), Cr alımının sülfat translokasyon taşınımlarıyla hızlı ve aktif bir taşınım, Cr alınımının ise pasif taşınım olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, arpada metabolik inhibitörlerin Cr alımını azaltırken, Cr alımını etkilemediğini bildirilmiştir. Bu sonuç, Cr alımının metabolik enerjiye bağlı olduğunu göstermekle birlikte, arpada her iki Cr türünün aktif mekanizma ile alındığını bildirilmiştir (Ramachandran,1980).

Farklı bitki dokularında Cr birikiminin farklı olduğunu gösterilmiştir (Golovatyj, 1999). Toprağın özelliğine ve Cr konsantrasyonuna bağlı olmaksızın Cr'un kök dokusunda fazla, toprak üstü organlarda ise düşük seviyede biriktiğini ve bu nedenle de Cr dağılımının kararlı bir yapı gösterdiğini ifade etmiştir. Örneğin, fasulyede Cr birikiminin tohumlarda % 0,1 ve kök dokusunda ise % 98 olduğu bulunmuştur (Huffman ve Allaway, 1973). Cr köklerden ksilem araçları ile yapraklara düşük oranda taşınımı, bu metalin hücre duvarındaki -COOH grupları ile kompleks oluşturması ve kök hücrelerinin vakuollerinde biriktirilmesinden kaynaklanabilmektedir (Shanker, 2004). Cr hücre membranlarında birikirken, Cr membranları geçebilmekte ve sitoplazmadaki hücre içi materyallerle etkileşime girebilmektedir (Gikas ve Romanos, 2006) .

1.2.3. Bitkilerde Kromun Toksik Etkileri

Bitkilerde Cr toksisitesi Fe, Mn, Cu, Zn gibi iyonların değişen translokasyonu veya metal değiş-tokuşunun sonucu olarak iyonik dengesizliğe neden olmaktadır (Panda ve Choudhury, 2005; Shanker vd., 2005). Cr büyüme ve gelişme, enzimler ve diğer bileşikler üzerinde etkili olarak fitotoksik etki göstermektedir (Gupta vd., 2009).

Krom toksisitesinin domates, mısır (Toppi vd., 2002), arpa (Ali vd., 2004), çeltik (Panda, 2007), ekmeklik buğday (Sharma vd., 1995; Subrahmanyam, 2008; Dey vd., 2009), bezelye (Pandey vd., 2009) gibi birçok kültür bitkisinde, metabolizmayı etkileyerek büyümede inhibisyona neden olduğu bildirilmiştir. Toksik seviyelerde Cr'na maruz kalan bitkilerde, fotosentez ve solunum gibi önemli metabolik olayların etkilenmesinden dolayı bitki büyümesinde azalma görülmektedir (Shanker vd., 2005). Bitki büyümesindeki inhibisyon, hücre bölünmesi sırasında kromozom aberasyonlarına bağlı olarak meydana gelen inhibisyondan kaynaklanabilmektedir (Liu vd., 1993). Bununla birlikte, Cr stresine maruz kalan birçok bitkide DNA içeriğinin arttığı ve DNA içeriğinin Cr konsantrasyonundaki artış ile paralellik gösterdiği belirtilmiştir (Zeid, 2001).

Krom toksisitesi bitkilerde tohum çimlenmesi ve radikula büyümesini olumsuz etkilemektedir (Panda vd., 2002). Krom stresi α - ve β -amilaz aktivitesini azaltarak embriyo ekseninin gelişimi için gerekli şekerlerin taşınımını engellemekte ve tohum çimlenmesini inhibe etmektedir. Tohum çimlenmesinin ilk fizyolojik basamak olması nedeniyle Cr içeren bir ortamda tohum çimlenme yeteneğinin Cr toleransının belirlenmesinde indikatör olabileceğini bildirmiştir (Peralta vd., 2004).

Yapılan bir çalışmada toprakta 500 ppm Cr bulunmasının, fasulye tohumlarının çimlenmesini % 48, 20 ve 80 ppm Cr bulunması ise şeker kamışı bitkisinde tomurcuk çimlenmesini % 32-57 oranında azalttığı belirlenmiştir (Jain vd., 2000).

Krom stresi, kök hücrelerinde plazmolize ve solmaya neden olarak bitki köklerini etkileyebilmektedir. Yüksek Cr konsantrasyonlarında kök büyümesindeki inhibisyon, besin ortamında Cr'un varlığında kökler tarafından suyun yeteri kadar alınamamasından kaynaklanmaktadır (Barcelo vd., 1986).

Krom stresinin neden olduğu kök büyümesindeki inhibisyon kök hücrelerinin bölünmesi ve uzamasındaki inhibisyondan veya hücre döngüsünün uzamasından kaynaklanabilmektedir (Shanker, 2005). Bununla birlikte, kök hücrelerinin büyümesindeki inhibisyonun fotosentetik oran üzerine Cr'un primer etkisi olarak düşünülmektedir (Choudhury ve Panda, 2005).

Kök büyümesindeki azalmanın kök yüzeyinin zarar görmesinden dolayı hücre içerisinin dışarı sızmasından ve kök tüylerinin ve epidermal hücrelerin zarar

görmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Scoccianti, 2006). Cr'un hücre çeperi ve plazma membranındaki bağlanma bölgelerinden Ca gibi katyonların yer değiştirmesine neden olarak hücre fonksiyonlarında bozulmalara yol açabileceğini belirtmiştir (Dixit, 2002). Yaprak büyümesi (yaprak yüzey alanı gelişimi ve toplam yaprak sayısı) bitki verimini belirlemektedir. Cr uygulaması yaprak yüzey alanı genişlemesini negatif olarak etkilemekte ve daha küçük yaprak oluşumuna neden olmaktadır. Yaprak büyüme özelliklerinin ağır metal kirliliğinin uygun bir biyoindekatörü olduğunu ve toleranslı türlerin seleksiyonunda kullanılabileceğini ifade etmişlerdir (Tripathi vd., 1999).

Bitkilerde yüksek verim kuru ağırlık bakımından biyokütle üretiminde bir artıştır. Bitkiler tarafından üretilen toplam kuru ağırlığın yaklaşık % 80-90'ını karbon bileşikleri oluşturur (Bishnoi, 1993). Cr, kloroplast ve mitokondrinin yapı ve işlevlerinde oksidatif zarara yol açarak kuru ağırlık üretimi üzerinde dolaylı bir etkiye sahiptir (Dixit vd., 2002). Krom toksisitesi elektron taşınımı, fotofosforilasyon, CO₂ fiksasyonu ve karbon indirgenme döngüsündeki enzimlerin aktivitesindeki değişikliklere neden olarak fotosentezi olumsuz etkilemektedir (Panda, 2005). Cr Hill reaksiyonlarını inhibe ederek fotosentezin hem ışık hem de karbon indirgeme reaksiyonlarını etkilemektedir (Zeid, 2001). Yüksek Cr konsantrasyonlarında (1 mM) kloroplast membranındaki tam bir bozunma ile tilakoid düzenlenimindeki bozunmanın birlikte gözlenmesi, hegzavalent Cr'un şiddetli fitotoksik etkisini göstermektedir (Choudhury ve Panda, 2004). Hem Cr hem de Cr klorofil içeriğini azaltmakta ve böylece büyümeyi inhibe etmektedir (Panda vd., 2003). Krom stresinin klorofil a ve b'de önemli azalmalara neden olduğu ve klorofil a'ya göre klorofil b'deki azalmanın daha fazla olduğu saptanmıştır (Pandey vd., 2009). Krom stresinde klorofil a/b oranındaki azalma, fotosentetik anten kompleksinin periferal kısmının boyutundaki azalmadan kaynaklanmaktadır (Shanker vd., 2003). Klorofil b içerisindeki azalmanın periferal kısımdaki proteinlerin degradasyonundan kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Klorofil a/b oranındaki azalma, klorofil b'ye göre klorofil a'nın daha hızlı bozulması ve klorofil a'nın sentezinin azalmasının bir sonucu olabileceği vurgulanmıştır (Vajpayee, 2000). Krom, klorofil biyosentezinde görev alan önemli bir enzim olan δ -aminolevülinik asit dehidratazı (ALAD) degrade edebilmekte ve böylelikle δ -aminolevülinik asit (ALA) kullanımını etkileyerek bitki dokularında ALA birikimine ve klorofil içerisinde azalmaya neden olmaktadır. Bu sonuçlar, ALA sentezinin Cr

stresine hassas olmadığını, buna karşın porfobilinojen (PBG) oluşumunun Cr stresine oldukça hassas olduğunu göstermektedir (Vajpayee vd., 2000).

Bir metalloenzim olan ALAD'ın aktivitesi, Mg iyonlarının kullanılabilirliğine bağlıdır (Ilag vd., 1994). Ayrıca, Cr stresi bitkilerde demir eksikliğine neden olarak klorofil biyosentezinde bozulmalara neden olmaktadır (Barcelo vd., 1986). Demir eksikliği olan bitkilerde düşük Cr konsantrasyonları klorozun azalmasına (Zayed vd., 1998) ve yüksek Cr konsantrasyonları demir klorozuna neden olmaktadır (Schmidt vd., 1996). Bununla birlikte, Fe eksikliği hem grubu enzimlerin aktivitesini azaltmaktadır (Chatterjee vd., 2000). Hekzavalent Cr'a maruz kalan bitkilerde demir kullanımının kısıtlanmasından dolayı klorofil içerisindeki azalma, porfirinlerin öncüsü olan glisin ve süksinil Co-A'dan ALA'nın sentezi, koproporfirinojenin protoporfirin dokuza oksidasyonu veya Mg protoporfirinin protoklorofillite dönüştürülmemesinden kaynaklanmaktadır (Marschner, 2002).

1.3. Nikel

1751'de İsveç'te Axel F. Cronstedt tarafından keşfedilen ve adlandırılan nikel (Ni), yer kabuğunda doğal olarak bulunan 24. elementtir ve periyodik cetvelde 28. sırada yer almaktadır. Ni, sert, gümüşümsü ve ağır bir metaldir (The Merck Index, 1983; Sunderman ve Oskarsson, 1991; Chen vd., 2009).

Nikelin klor, kükürt ve oksijenle yapmış olduğu bileşiklerin çoğu, suda kolaylıkla çözünür ve karakteristik olarak yeşil renktedir. Ni ve oluşturduğu bileşikler, karakteristik koku ve tada sahip değildir (Anonim, 1990; Tera, 1999). Ni, 19. yy'den itibaren birçok ülkede, bakır ve nikel alaşımından para yapımında kullanılmaya başlamıştır. İlk metalürjik tesis, 1824 yılında Avusturya'da Gersdorff tarafından kurulmuştur. Endüstrinin gelişmesi ile Ni diğer metaller arasında yer alması, 1865 yılında Yeni Kaledonya'daki Ni yataklarının işletilmesiyle başlamış ve demirden sonra en fazla kullanılan metal haline gelmiştir (Caneb, 1970).

Günümüzde mutlak gerekli elementlerden biri olarak kabul edilen Ni tarım topraklarındaki konsantrasyonu genelde çok azdır. Ancak, serpantin gibi ultra bazik püskürük kayalardan oluşan toprakların Ni içeriği 100-5000 mg Ni/kg arasında değişmektedir (Kaçar ve Katkat, 2006). Ni kömür (10-50 mg Ni/kg), petrol (49-345 mg Ni/kg), çelik, alaşım üretimi, galvaniz ve elektronik endüstrisinde

kullanılmaktadır. Kritik toksik düzey toprakta 100 mg/kg, duyarlı bitkilerde > 10 µg/g kuru madde ve orta düzeyde duyarlı bitkilerde ise > 50 µg/g kuru maddedir (Özbek vd., 1995).

Nikel, kilyet bileşiklerini kolaylıkla oluşturması nedeniyle, bitkilerdeki enzimlerde ve fizyolojik aktif merkezlerde bulunan ağır metallerle yer değiştirir. Ni üreaz ve birçok hidrogenaz enzimlerinin metal yapı maddesidir. Bu nedenle Ni içerikleri az olan bitkiler üre şeklinde uygulanan azotlu gübreden yararlanamadıkları gibi üre bu bitkilere toksik etki de yapmaktadır (Kaçar ve Katkat, 2006).

1.3.1. Bitkide Nikel

Bitkilerdeki ağır metal çalışmaları, metallerin bitkiler için yararlılığı, mekanizması ve özellikle toleransı üzerine yoğunlaşmıştır. Bu metallerden birisi de Ni'dir. Ni, bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi için önemli olan mikro elementlerden bir tanesidir ve birçok metabolik süreçte gereklidir (Eskew vd., 1983; Brown vd., 1987). Ni bitkiler için üreaz ve hidrogenaz enzimlerinin yapısında ve aktivitesinde yer alan ve azot metabolizması için gereksinim duyulan temel bir elementtir. Bitkilerde çok düşük miktarlarda yararlı olduğu halde bitki üzerinde pek çok fizyolojik olaylarda olumsuz etkiler yapmaktadır (Dixon vd., 1975; Brown vd., 1987; Molas, 1997, Zornoza vd., 1999).

Nikelin bitkilerdeki olumsuz etkileri, fotosentez ve solunumu engellemesi; hücre zarı geçirgenliğini azaltması; fotosentetik elektron taşınımını engellemesi; hücre de peroksidaz ve üreaz aktivitesini düşürmesi; protein sentezini, klorofil ve azot düzeyini azaltması; hücre su dengesini değiştirmesi gibi fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin aksamasından kaynaklanmaktadır (Brown vd., 1990; Pandolfini vd., 1992, Gajewska ve Sklodowska, 2005).

Nikel bitkiler için gerekli (Eskew vd., 1983; Brown vd., 1987; Ragsdale, 1998) bir element olup bitki türlerinin çoğunda konsantrasyonu oldukça düşüktür (0,05-10 mg/kg kuru ağırlık) (Nieminen vd., 2007). Ayrıca artan Ni kirliliği ile birlikte bitkilerde eksikliği yerine, daha fazla Ni bulunması sıklıkla görülmektedir (Alloway, 1995). Bitkilerde Ni'in yüksek konsantrasyonlarının mitotik aktivitenin inhibisyonu (Madhava Rao ve Sresty, 2000), bitki büyümesindeki azalmalar (Molas, 2002), meyve verimi ve kalitesi üzerine olumsuz etkileri (Gajewska vd., 2006) gibi toksik etkileri

sıklıkla bildirilmektedir. Topraktaki oldukça yüksek Ni konsantrasyonları, bitkiler, meyveler ve sebzeler için elverişli olmayan tarım alanları oluşturmaktadır (Duarte vd., 2007)

1.3.2. Nikelin Alınımı, Taşınımı ve Birikimi

Nikel; gliksilazlar, peptid deformilazlar, üreazlar, birkaç superoksit dismutaz ve hidrogenazları içine alan çok sayıda enzimin bir bileşeni olarak tanımlanmıştır (Ermler vd., 1998; Kupper ve Kroneck, 2007). Bu nedenle Ni üreolizis, hidrojen metabolizması, metan biyogenezi ve asitogenez gibi pek çok metabolik olayda önemli bir rol oynamaktadır (Maier vd., 1993; Collard vd., 1994; Ragsdale, 1998; Mulrooney ve Hausinger, 2003).

Bitkilerde Ni alınması ağırlıklı olarak pasif difüzyon ve aktif taşıma aracılığı ile kok sistemleri tarafından gerçekleştirilmektedir (Seregin ve Kozhevnikova, 2006). Aktif ve pasif taşınma arasındaki alım oranı türlere, toprak ya da besin çözeltisindeki Ni'in şekline ve konsantrasyonuna göre değişiklik göstermektedir (Vogel-Mikus vd., 2005). Bitkiler tarafından Ni'in alınması Ni konsantrasyonuna (Cataldo vd., 1978), bitki metabolizmasına (Aschmann ve Zasoski, 1987), toprak ya da solüsyonun asiditesine (Kukier vd., 2004; Antoniadis vd., 2008), diğer metallerin varlığına (McKenna vd., 1993; Luo ve Rimmer, 1995) ve organik madde bileşimine (Burke vd., 2000; Jean vd., 2008) bağlıdır. Buna ek olarak, mevsim uzunluğu, tohum ekim yöntemi ve toprak jeokimyasal özellikleri gibi diğer faktörler Ni alınımını etkilemektedir (McGrath vd., 2006; Yanai vd., 2006; Antoniadis vd., 2008). Ni iyonik şekli verildiği zaman bitkiler tarafından kolaylıkla absorbe edildiği ancak şelat şeklinde uygulandığında ise absorpsiyonun güç olduğunu gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır (Crooke vd., 1954; Dekock, 1956; Dekock ve Mutehell, 1957; Aschmann ve Zasoski, 1987). Nikel alınımının; sıcaklık, anaerobik koşullar ve dinitrofenol gibi solunum inhibitörleri tarafından etkilenmesine rağmen aktif bir süreç olduğu görülmüştür (Aschmann ve Zasoski, 1987).

Toprak pH değerinin 5,6'nın altında olması Ni absorpsiyonu için tercih edilen bir durumdur. Bu durum büyük ölçüde artan toprak asitliği ile birlikte topraktaki değiştirilebilen Ni içeriğinin artması nedeniyledir (Mizuno, 1968). Toprağın fosfat içeriğinin artması ile Ni absorpsiyonu artış gösterir (Halstead vd., 1969, Polacco,

1977). Torf yüksek Ni içeriğine rağmen, Ni alımını inhibe etmektedir. Gübreler, Ni ve Cu, Zn, Co gibi diğer elementlerin toplam absorpsiyonunu azaltmaktadır. Ni ile karşılaştırıldığında diğer elementlerin absorpsiyon oranları, topraktaki değiştirilebilir element içeriğinde elementlerin absorbe edilme reaksiyonlarına bakıldığında azalma göstererek Cu>Zn>Co>Ni şeklindedir (Miller, 1961).

Nikel ksilem yoluyla transpirasyon akımı sayesinde köklerden gövdeye ve yapraklara taşınır (Neumann ve Chamel, 1986; Krupa vd., 1993). Bu temel element, floem aracılığı ile de yaşlı yapraklardan genç yapraklara, tomurcuklara, meyvelere ve tohumlara taşınmasıyla bitkilerin meristematik kısımlarına gönderilir (Welch, 1995; Fismes vd., 2005; Page vd., 2006). Bu taşınma özellikle Ni bağlayan metalligand kompleksleri (Vacchina vd., 2003; Kim vd., 2005; Ma vd., 2005; Pianelli vd., 2005; Haydon ve Cobbett, 2007) ve proteinleri ile düzenlenir (Hausinger, 1997; Colpas ve Hausinger, 2000) Hücre içi şelatları gibi davranan nikotinamin (NA), histidin (His) ve organik asitler (sitrik asit ve malat iyonları) gibi metal ligandlar, bitkilerde taşınma ve birikim için sitosolde ya da hücre içi kısımlarda Ni'i bağlarlar (Kramer vd., 1996; Kerkeb ve Kramer, 2003; Douchkov vd., 2005). Bitkiler tarafından absorbe edilen Ni'in % 50'den fazlası köklerde muhafaza edilmektedir (Cataldo vd., 1978). Bunun nedeni, ksilem parankima hücrelerinin duvarındaki katyon değişim bölgelerindeki tutulma ve kök vakuollerindeki immobilizasyondur (Seregin ve Kozhevnikova, 2006). Ayrıca köklerdeki yüksek oranda Ni (% 80'in üzeri) vaskular silindirde bulunurken, % 20'den daha azı kortekste bulunmaktadır. Bu dağılım ksilem ve floem arasındaki Ni'in yüksek hareketliliğini düşündürmektedir (Marschner, 2002; Page ve Feller, 2005; Riesen ve Feller, 2005).

1.3.3. Bitkilerde Nikelin Toksik Etkileri

Nikel stres koşulları altında, bitkilerde pek çok Ni-detoksifikasyon cevapları görülmektedir. Bu cevaplar Ni-organik asit ve Ni-NA komplekslerinin şekillenmesini (Kupper vd., 2001; Persans vd., 2001), NA ve sentazının aşırı üretimi (Vacchina vd., 2003; Weber vd., 2004) ile serbest histidinin yüksek seviyelerini (Wycisk vd., 2004) kapsamaktadır. Diğer cevaplar, metallothioneinler (MTler) ile tiyol glutatyon teşviki (Courbot vd., 2004), glutatyon, sistein ve O-asetil-L-serin'in yüksek konsantrasyonlarını (Freeman vd., 2004) içermektedir. Toksikiteye karşı bitkinin cevabı, bitkinin türüne, büyüme aşamasına, yetiştirme koşullarına, Ni konsantrasyonu

ve metale maruz kalma süresine göre önemli ölçüde farklılık göstermektedir (Sheoran vd., 1990; Krupa vd., 1993; Xylander ve Braune, 1994; Marschner, 2002; Kabata-Pendias ve Pendias, 2001; Assuncao vd., 2003). Genel olarak kritik toksisite seviyeleri, hassas türlerde >10 mg/kg kuru ağırlık (Kozlow, 2005), orta derecede toleranslı türlerde >50 mg/kg kuru ağırlık (Bollard, 1983), hassas türlerde (arpa, ıspanak ve buğday gibi) bir haftadan daha kısa süre ile düşük konsantrasyonlarda Ni ($\geq 0,2$ mM ya da 11,74 ppm) uygulanmasından sonra, yapraklarda klorozis ve nekrozis ortaya çıkabilmektedir (Sun ve Wu, 1998; Rahman vd., 2005; Gajewska vd., 2006).

Tohum çimlenmesi ve erken fide büyümesi, gelecekteki fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri geniş ölçüde yansıtan bir bitkinin hayatındaki ilk olaylardır. Tohum çimlenmesi üzerine Ni'in etkisinin, bitkiye ve ortamdaki Ni konsantrasyonuna bağlı olarak değişebildiği yapılan bazı çalışmalarla gösterilmiştir. Bitkide gereğinden fazla bulunan Ni, klorofil sentezi ve yağ metabolizması üzerine olumsuz etki yapar, bitki köklerinin diğer besin elementlerini almasını engelleyerek besin elementleri noksanlıklarının ortaya çıkmasına neden olur. (Zengin ve Munzuroğlu, 2005).

Yapılan pek çok çalışma, Ni uygulamasının tarım bitkilerinin verimini artırdığını göstermektedir. Mahsul veriminin artışında Ni'nin önemi, ilk kez Roach ve Barclay (1946) tarafından gösterilmiştir. *Pinus* fideleri ile yapılan kültür deneylerinde, Ni nin büyüme için gerekli bir element olduğu kanıtlanmıştır (Polacco, 1977). Ni uygulaması, pamuk bitkisinin toprak üstü kısımlarının yanı sıra kök kitlesini de artırmaktadır. Ekim öncesinde 100 ppm konsantrasyonda Ni uygulanmış *Triticum* tohumlarında kök ve gövdenin maksimum büyüme gösterdiği ancak konsantrasyonun 250 ppm den yüksek olduğu durumda büyümenin genellikle inhibe edildiği bulunmuştur (Tsui, 1955). Paprika (*Capsicum frutescens* L.) ve domates (*Lycopersicon esculentum* L.) bitkilerinin büyüme ve gelişmesinin, 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ den daha az konsantrasyonda Ni uygulaması ile teşvik edildiği, 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ den daha yüksek konsantrasyonların ise bu bitkiler için toksik olduğu rapor edilmiştir (Pais vd., 1970). Ni in aynı zamanda dane olgunlaşması ve bitki senesensinde de temel fonksiyonlara sahip olabildiği rapor edilmiştir (Brown vd., 1987). Bu çalışma sonuçlarına bakılarak, Ni nin yüksek bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi üzerinde önemli etkilerinin olduğunu göstermektedir.

1.4. *Bacopa monnieri* (L.) Pennell.

Bacopa monnieri (L.) Pennell. Plantaginaceae familyasına ait sucül bir bitkidir. Doğal yaşam alanı ıslak kumda, çamurlu alanlarda, su birikintisi veya su akış kenar boşluklarında yetişmektedir. Tüysüz ve etli bir bitkidir. Çan şeklinde çiçekleri bulunan bu sürgün bitkisi su veya yarı sucül olan uzun ömürlü bir bitkidir. Çiçekleri küçük olan bu bitkinin beyaz renkte bazen de mavi veya pembe renkte olan çiçekleri olabilir. Yaprakları kalın, yumuşak, sapsız,-obovat dikdörtgen ya da spatula yapraklar şeklindedir. Genellikle Hindistan da bulunan bu bitki 'brahmi' ya da 'nirbrahmi' olarak da bilinir. Tıbbi bir bitki olarak kullanılmaktadır. Astım, zihinsel bozukluk, epilepsi, ses kısıklığı, dalak, yılan ısırması, romatizma, cüzzam, egzama ve halka solucan, aynı zamanda bir diüretik, ve kardiyotonik başlıca kullanılan hastalıklardır. *B. monnieri* alkaloidler, saponinler ve steroidler içerir (Basu ve Walia, 1994, web 2015).



Şekil 1.1. *B. monnieri* 'nin doğal ortamındaki genel görünümü (ayurvedasutra.com)

1.5. Çalışmanın Amacı

Hızlı endüstriyel gelişme, araç sayısındaki artış, tarımsal amaçlı pestisit ve gübre kullanımı ve evsel atıklardan kaynaklı birçok antropojenik aktivite hava, su ve toprağın hem organik hem de inorganik olarak kirlenmesine sebep olmaktadır. İnorganik kirleticiler arasında en önemli yeri Cr ve Ni almaktadır. Dünyada hızla artan

sanayileşmeden dolayı bu aktiviteler sonucunda atmosfere, sulara ve topraklara çeşitli tipte kirleticiler salınmaktadır. Bunlar da gerek sucul gerekse karasal ortamlarda yaşayan canlılara büyük zararlar verebilmektedirler. Bu çalışma, Cr ve Ni'nin sucul bir bitki olan *B.monniari* üzerindeki bazı fizyolojik etkilerini belirleme amacıyla yapılmıştır.

BÖLÜM 2

KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Kromun Bitkilerdeki Etkileriyle İlgili Çalışmalar

Akıncı ve Akıncı (2010) Cr toksisitesinin *Cucumis molo* L. tohumlarının çimlenme ve erken fide gelişimine etkilerini araştırmışlardır. Cr 0-300 ppm'lik derişimleri çimlenme denemelerinde, 0-70 ppm'lik derişimlerini erken fide gelişim araştırmalarında kullanmışlardır. Aşırı Cr derişimleri çimlenme indeksi, çimlenme zamanı, ortalama çimlenme ve çimlenme oranlarını sınırlandırmıştır. Radikula uzunluğu, radikulanın taze ve kuru ağırlığı, hipokotil uzunluğu, hipokotil taze ve kuru ağırlığı, büyüme tolerans indeksi ve göreceli büyüme oranı artan Cr derişimlerinden olumsuz yönde etkilenmiştir.

Andaleeb vd. (2008) Cr farklı derişimlerinin etkisindeki (0, 20, 40 ve 60 mg/kg) ayçiçeğinin (*Helianthus annuus* L.) üç farklı varyetesindeki (G-3, G-9 ve G-59) etkilerini araştırmışlardır. Artan Cr dozlarıyla birlikte tohum çimlenmesi, kök ve gövde uzunluklarında azalmalar olmuştur. Bununla birlikte artan Cr dozuna paralel olarak kök ve gövdenin yaş ve kuru ağırlıklarında da azalmalar olmuştur. Ayrıca, kökler gövdelere göre daha fazla metali biriktirmişlerdir.

Singh vd. (2006) Cr toksisitesinin pirinç bitkisindeki bazı fizyolojik olaylara etkilerini araştırmışlardır. Artan Cr derişimleri pirinç yapraklarının klorofil, protein ve şeker miktarlarını azalttığı bulunmuştur. Ayrıca metalin artan derişimleri peroksidaz aktivitesi ile katalaz aktivitelerini de azalttığı belirlenmiştir.

Nichols vd. (2000) 1-2 mg/l Cr maruz bıraktıkları *Salvinia minima* B.'da ki fizyolojik cevapları incelemişlerdir. Cr varlığında *S. minima*'nın büyümesi ve CO₂ alınımları belirgin ölçüde azalmıştır. Aynı sonuçlar klorofil *a*, klorofil *b* ve karoten konsantrasyonları için de elde edilmiştir. Bitkinin özellikle mavi ve kırmızı dalga boyundaki ışığı alma kapasitesi Cr'un konsantrasyonundaki artma ile azaldığını ve Cr

artışında çözülebilir şeker, nişasta ve toplam yapısal olmayan karbonhidrat konsantrasyonu belirgin bir biçimde arttığını rapor etmişlerdir.

Vajpayee vd. (1999) *Nelumbo nucifera* G.'da Cr akümüasyonu ve bu metalin birikiminin fotosentetik pigment, nitrat redüktaz aktivitesi ve protein içeriğine etkilerini araştırmışlardır. Farklı Cr konsantrasyonlarında yetiştirilen bitkinin dokularında benzer birikim miktarları belirlenmiştir. Bununla birlikte en yüksek birikim köklerde bulunmuştur. Bitki dokularındaki çok yüksek krom birikimi klorofil, protein içeriği ve *in vitro* nitraz redüktaz aktivitesini önemli ölçüde engellediği bulunmuştur.

Bishnoi vd. (1993) Cr bezelye tohumlarının çimlenmesi ve fide gelişimi ile ürün miktarına etkilerini araştırmışlardır. Potasyum dikromat olarak uygulanan Cr derişimlerinin bezelye tohumlarının çimlenmesine etkileri olmamışken, radikula ve plumula gelişimini ise önemli düzeyde azaltmıştır.

2.2. Nikelin Bitkilerdeki Etkileriyle İlgili Çalışmalar

Akıncı ve Akıncı (2011) Ni toksisitesinin ıspanakta (*Spinacia oleracea* L. cv. Matador) çimlenme ve erken fide gelişimine etkilerini belirlemişlerdir. Ni çimlenme aşamasında 0 (kontrol), 25, 50, 100, 200, 400 ve 800 mg/l ve erken fide aşamasında 0 (kontrol), 2,5, 5, 10, 20, 40 ve 80 mg/l konsantrasyonları kullanılmıştır. Ni çimlenme, radikula-hipokotil gelişimi, radikula-hipokotil tolerans indeksi ve su içeriği için çimlenme aşamasında 25 mg/l ve erken fide aşamasında 2,5 mg/l dozunda uyarıcı, daha yüksek dozlarda engelleyici etkide bulunmuştur.

Duman ve Ozturk (2010) *Nasturtium officinale* A.'de farklı Ni derişimlerinin (1-25 ppm) 1, 3, 5 ve 7 gün uygulamasının etkilerini araştırmışlardır. Ni akümüasyonu ve translokasyonunun yanında bu metalin kök ve yaprakların biyomas ve protein miktarı ile enzimatik antioksidanlara etkileri belirlenmiştir. Ni özellikle köklerde aküleme olmuştur. Düşük Ni derişimlerinde biyomas artarken, yüksek derişimlerde ise bu artışlara rastlanılmamıştır. 5-10 ppm'lik derişimlerde protein ve antioksidan enzim aktivitelerinde artışlar bulunmuştur. Bu derişimlerde *N. officinale* oksidatif strese direnç göstermiştir.

Gajewska ve Skłodowska (2009) 50 ve 100 μM Ni' nin buğday fidelerinde büyüme, glutamat, prolin ve nitrat birikimi ile nitrat redüktaz, glutamat dehidrojenaz, alanin aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz aktiviteleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Uygulanan Ni derişimleriyle otsu gövdelerde Ni akümüasyonlarında artışlar olmuş; bununla beraber organların büyümesinde azalmalar tespit edilmiştir. Dokularda nitrat derişimi azalırken, Ni stresinde amonyum miktarında artışlar belirlenmiştir. Çalışmanın ilk zamanlarında prolin miktarı önemli düzeyde artmıştır. Özellikle yüksek derişimde nitrat redüktaz aktivitesinde ciddi azalmalar olmuştur. Alanin, aminotransferaz ve aspartat aminotransferaz aktiviteleri Ni uygulamasıyla birlikte stümüle olduğu bulunmuştur.

Kovacik vd. (2009) 10 gün Ni uygulamasının *Matricaria chamomilla* L. nin metabolizmasındaki değişimlerini araştırmışlardır. Yüksek Ni dozları kök protein miktarında azalmaya neden olmuştur. Ayrıca, yüksek Ni derişimleri kök ve yapraklarda çözülebilir fenolik miktarlarını stümüle etmiştir. Malondialdehit derişimleri Ni stresinde değişmemiştir. Kökler yapraklardan 3,4-6,1 kat daha fazla Ni akümüle etmiş olması, bu bitkinin metali üst organlara taşımadığını göstermektedir.

Hao vd. (2006) buğday fidelerinde Ni stresinde plazma membran NADPH oksidazın rollerini araştırmışlardır. Ni uygulaması membran lipit peroksidasyonu, hidrojen peroksit içeriği, süperoksit radikal üretimi ve plazma membran NADPH oksidazın aktivitesinde artışa neden olmuştur.

Parida vd. (2003) *Trigonella corniculata* L. büyümesi ve mineral kompozisyonu üzerinde Ni derişimlerinin etkisini incelemişlerdir. Araştırmada 0-300 mg/kg derişimlerde Ni kullanılmıştır. Araştırma bulgularına, bitkinin büyüme ve gelişiminde 10 ile 20 mg/kg Ni uygulanan bitkilerde normal olduklarını belirtmişlerdir. Uygulanan derişimin 20 mg/kg'ın üzerine çıkması ile birlikte özellikle 40 mg/kg Ni dozundan itibaren genç yapraklarda demir eksikliğine benzer klorozların oluştuğunu, daha yüksek Ni seviyelerinde ise büyüme ve gelişmenin engellendiği bildirmişlerdir.

Baccouch vd. (1998) mısır fidelerini beş gün boyunca 250 μM Ni derişimlerine maruz bırakmışlar ve Ni stresinin fidelerdeki antioksidan parametrelerdeki etkilerini araştırmışlardır. İki gün muamele sonucunda membran lipit peroksidasyonunda artışlar belirlemişlerdir. Guajakol peroksidaz aktivitesinde değişmeler belirlenmiş, süperoksit

dismutaz aktivitesi ise uygulamanın ilk zamanlarında stimüle olmuştur. Daha sonra glutatyon redüktaz ve askorbat peroksidaz aktivitelerinde de artışlar belirlenmiştir.

2.3. Krom ve Nikel Uygulamasının Bitkilerdeki Etkileriyle İlgili Çalışmalar

Kırbağ Zengin (2006), fasulye fidelerinin kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine Ni ve Cr'un etkileri araştırılmıştır. Çalışmada bir haftalık fasulye fideleri kullanılmıştır. Her iki metalinde klor tuzu ve Cr kullanılmıştır. Ni stok solüsyonundan 0,5, 0,7, 1,0 mM ve Cr stok solüsyonundan ise 0,5, 0,7, 1,0 mM konsantrasyonları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre her iki ağır metalin de fidelerin kök, gövde ve yaprak büyümesini önemli oranlarda engellediği tespit edilmiştir. Bu ağır metallerin konsantrasyonlarındaki artış ile kök, gövde ve yaprak büyümesinin inhibisyon oranı arasında bir paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Fidelerin ağır metale maruz kalma süresinin uzaması kök, gövde ve yaprak büyümesindeki azalmanın daha fazla olmasına yol açmıştır. Ayrıca kök, gövde ve yaprak büyümesindeki azalışın ağır metalin çeşidi ve konsantrasyonuyla ilişkili olduğu görülmüştür. Ni ve Cr stresine kök büyümesinin daha duyarlı olduğu, bunu gövde ve yaprak büyümesinin takip ettiği belirlenmiştir. Bu iki ağır metalden Ni' nin Cr'a göre daha toksik olduğu tespit edilmiştir.

Rout vd. (2000), çim bitkisinin Ni ve Cr metallerine karşı etkisini belirlemek için bir çalışma yapmıştır. Araştırmacılar Cr ve Ni metallerinin iki ayrı derişimini (1,25 ve 2,5 mg/L) ve etkileşimini (1,25 mg/L Cr + 1,25 mg/L Ni) kullanmışlardır. Sonuçlara göre, Ni ve Cr'lu şartlarda metal içermeyen ortama kıyasla tohum çimlenmesi ve bitki büyümesinin daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Deney Ortamı ve Uygulama

Uygulamalarına başlanmadan önce, bitki materyali araştırma ortamına iki hafta süre ile aklimatize edilmiştir. Bu dönemin sonunda sağlıklı bitkiler, her kaptaki üç adet ve her derişim üç tekerrürlü olacak şekilde aşağıdaki uygulamalar yapılmıştır:

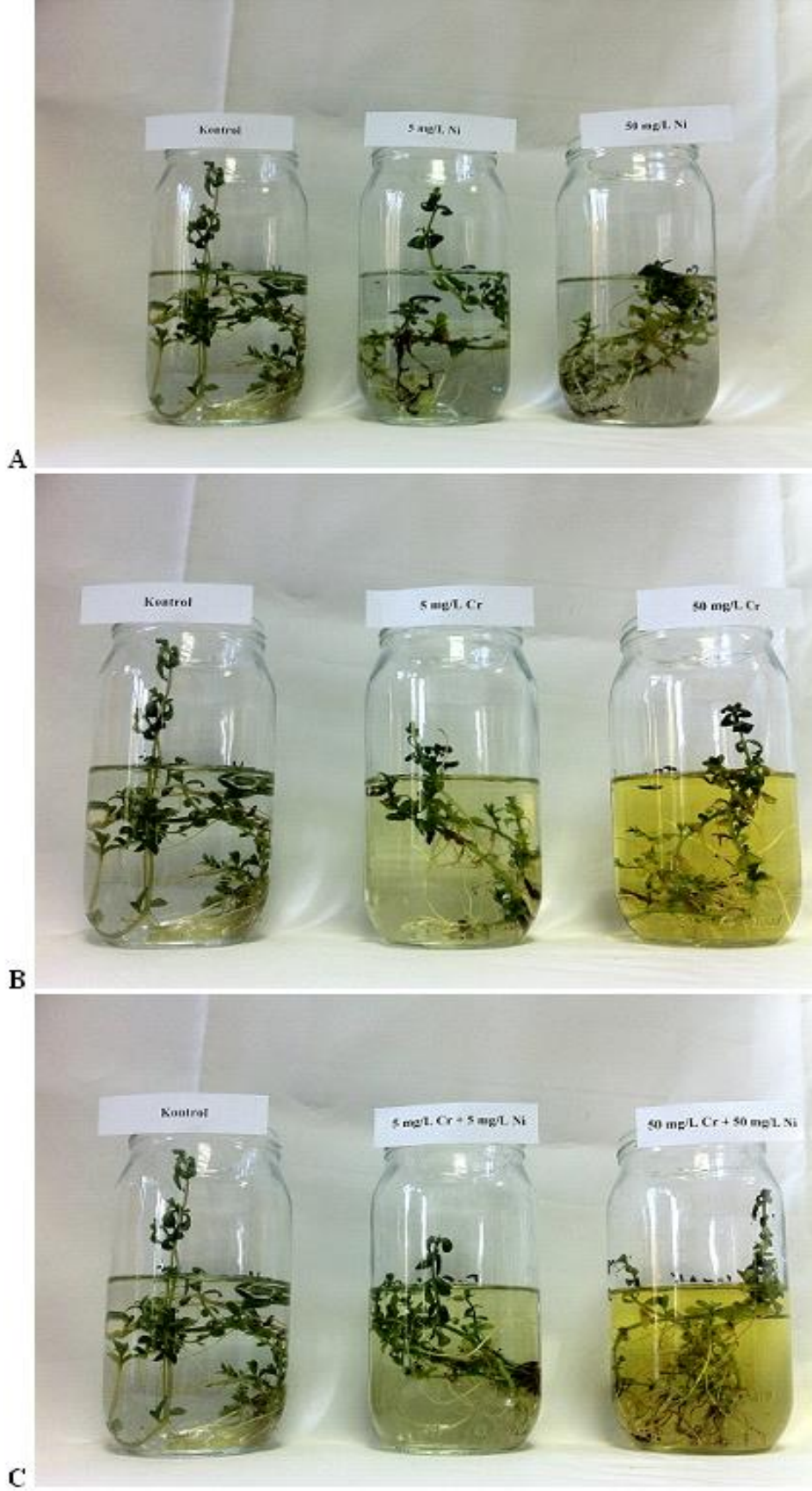
Tablo 3.1. *B. monnieri*'ye uygulanan metal derişimleri

| Ni (mM) | Cr (mM) | Ni +Cr (mM +mM) |
|---------|---------|-----------------|
| 0 | 0 | 0 |
| 5 | 5 | 5 +5 |
| 50 | 50 | 50 +50 |

Kontrol grubu için sadece besin içeren çözelti kullanılmıştır. Besin çözeltisi Arnon Hoagland (1940)'a göre hazırlanmıştır. Stres uygulamaları 5 gün boyunca devam etmiştir. *B. monnieri*'nin Ni, Cr ve Ni+Cr uygulamaları sonrası görünümü Şekil 3.1'deki gibidir. Bütün çözeltilerin hazırlanmasında distile su kullanılmıştır. Uygulama döneminin sonunda bitkiler önce çeşme suyu sonra distile su ile iyice yıkandıktan sonra aşağıdaki işlemler ve analizler yapılmıştır.

3.2. Tartımlar

Hasat edilen bitkilerin önce taze ağırlıklarının belirlenmesi için hassas terazi ile tartılmıştır. Daha sonra bu örnekler 80°C'de sabit tartıma kadar kurutulmuş ve tartılmıştır.



Şekil 3.1. *B. monnieri*'nin Ni (A), Cr (B) ve Ni+Cr (C) uygulamaları sonrası görünümü

3.3. Fotosentetik Pigment Tayini

Taze bitki yapraklarından 100 mg alınmıştır. Örnekler porselen havanda 1-2 mL % 80'lik aseton ile yapraktan tüm klorofil alınıncaya kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra ekstraktın son hacimi 10 mL olacak şekilde % 80'lik asetonla tamamlanmış ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Klorofil-a için 662 nm, klorofil-b için 645 nm ve karotenoid için 470 nm'de spektrofotometrede (Cintra 202) asetona karşı okunmuştur. Klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid hesaplamaları Lichtentaler ve Wellburn (1985)'e göre yapılmıştır.

3.4. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Bitki örneklerinin lipid peroksidasyon düzeyleri Zhou (2001)'e göre belirlenmiştir. Taze bitki dokuları % 10'luk TCA'da havan kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenizat 10000 devir/dakika 'da 20 dakika santrifüj edilmiştir. Sonra 2 ml homojenizattan alınmış, 2 ml tiyobarbutirik asit eklenerek 95°C'de 30 dakika bekletilmiştir. Bu bekleme süresi sonunda örnekler şok soğutma uygulamasına tabi tutulmuştur. Tekrar 10000 devir/dakika 'da 20 dakika santrifüjden sonra 532, 600 ve 450 nm'de spektrofotometrede okunmuştur.

3.5. Protein Analizi

Protein analizi Lowry vd. (1951)'nin saptadıkları yönteme göre yapılmıştır. 0,5 gram taze materyal 5 ml 0.1 M fosfor tamponunda (pH 7) homojenize edildikten sonra 12000 devir/dakika 'da 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 0,3 ml alınmış, üzerine 3 ml alkali çözelti ilave edilip 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonra 0,3 ml Folin-Ciocalteu ayırıcı eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve 750 nm'de okunmuştur. Aynı işlem 0,3 ml distile su kullanılarak tank için de uygulanmıştır. Standart olarak bovin serum albumin (BSA) kullanılmıştır.

3.6. Prolin Tayini

Prolin miktarları Bates vd. (1973)'nin saptadıkları yönteme göre belirlenmiştir. Taze bitki materyali tartılmış ve % 3'lük 5 ml sülfosalisilik asit kullanılarak havanda homojenize edilmiştir. Homojenizat 5000 devir/dakika 'da 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantın 2 ml'si 2 ml asit-ninhidrin ve 2 ml glasiyel asetik asitle test tüpünde karıştırılmıştır. Bu karışım 100 °C'de 1 saat su banyosunda bekletilmiştir. Bu

süre sonunda tüpler alınarak buz içerisine sokulmuş ve reaksiyon sonlandırılmıştır. Reaksiyon karışımı 4 ml toluen ile ekstrakte edilmiş ve 15-20 saniye tüp karıştırıcıda çalkalanmıştır. Toluene içeren renkli sıvı oda sıcaklığında bekletilmiş ve 520 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Cintra 202) okunmuştur. Standart olarak *L*-Prolin kullanılmıştır.

3.7. Element Derişimleri

Kurutularak öğütölmüş örnekler tartılıp 50 mL'lik erlene konmuştur. Üzerine 10 mL konsantre HNO₃ ilave edilmiştir. Erlenler daha sonra ısıyı ayarlanabilen ısıtıcı tabla üzerinde düşük ısıda renkli buharlar kayboluncaya kadar yavaş yavaş ısıtılmıştır. Daha sonra ısı biraz yükseltilmiştir. Erlenlerin üzerindeki balonlar alınmıştır. Tortu kalıncaya kadar yavaş yavaş buharlaştırılmıştır. Erlenlere 10 ml HCl ilave edilerek aynı işlem yenilenmiştir. Örneklerin tümü buharlaştıktan ve dipteki tortu kuruduktan sonra erlene konan örnek için 1 M'lik HCl ile sulandırılmıştır. Sulandırılan örneklerdeki Ni, Cr, Mg, Ca, Cu, Zn, K ve Fe derişimleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Perkin Emler AA400) kullanılarak belirlenmiştir.

3.8. İstatistiksel Analiz

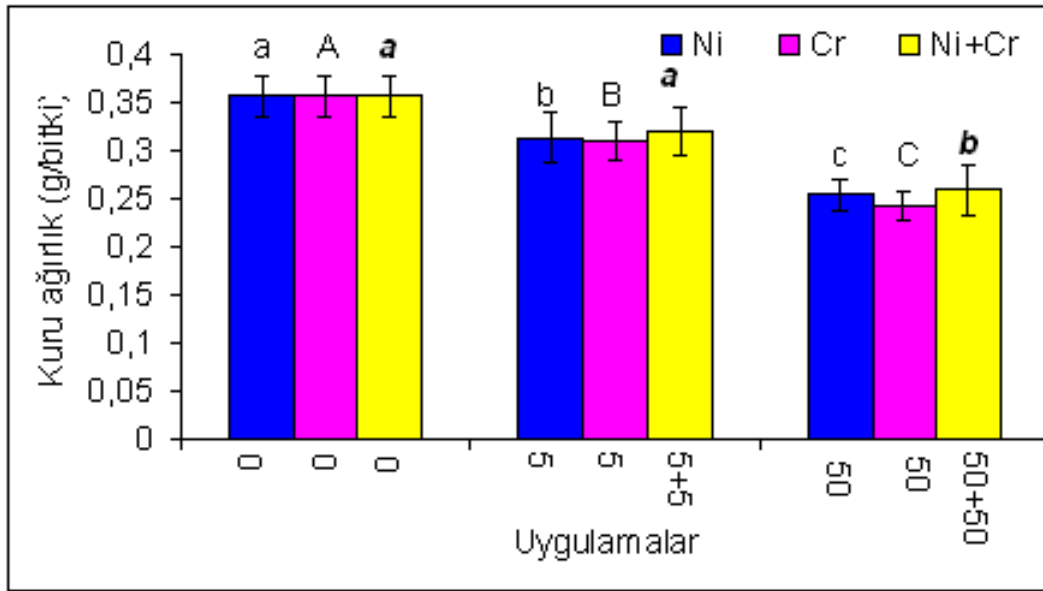
Araştırma bulgularının istatistiksel analizi SPSS (SPSS 11.0 for Windows) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Hangi grubun ya da grupların farklı olduğunu belirlemek amacıyla One-Way ANOVA LSD testi uygulanmıştır.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Kuru Ağırlık

Farklı Ni, Cr ve Ni+Cr derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B. monnieri*'nin kuru ağırlık değişimleri Şekil 4.1'de verilmiştir. Uygulanan metaller ve kombinasyonları bitkinin kuru ağırlık miktarlarında artan derişimlerle birlikte azalmaya neden olmuştur ($p<0.05$).

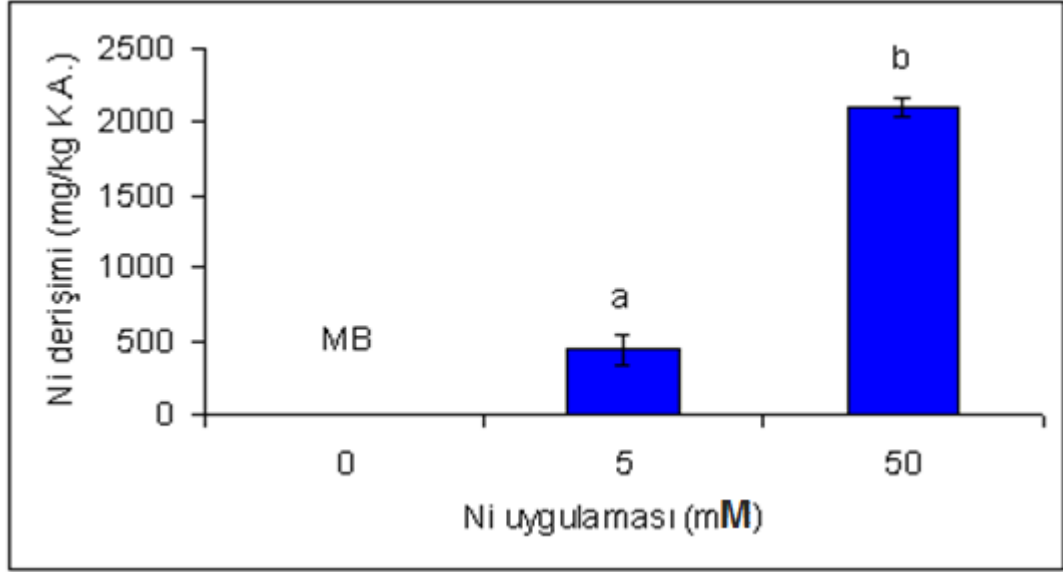


Şekil 4.1. Farklı Ni, Cr ve Ni+Cr derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B. monnieri*'nin kuru ağırlık değişimleri. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

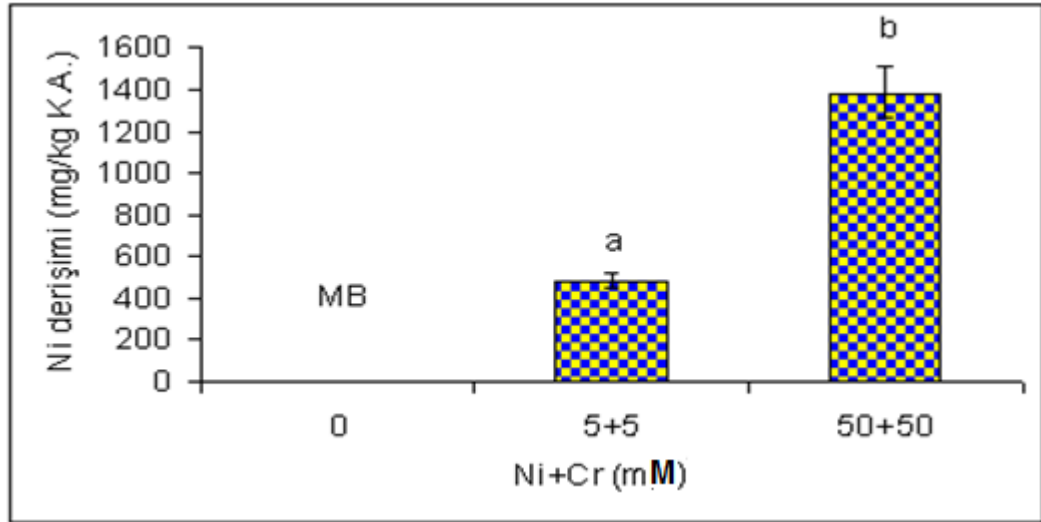
4.2. *B. monnieri* Dokularının Ni Derişimleri

Farklı Ni ve Ni+Cr derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B. monnieri* dokularının Ni içerikleri Şekil 4.2' ve 4.3'de verilmiştir. Kontrol bitki dokularında Ni belirlenememiştir. Yalnız Ni uygulanan bitkilerin metal içeriği 5 ve 50 mM'lık derişimde sırasıyla 444.2 ve 2102.7 mg/kg K.A. olarak belirlenmiştir. Bunun yanında,

Ni+Cr etkileşimli uygulamadaki bitki dokularının Ni içeriği de 5+5 ve 50+50 mM+mM'lık derşimlerde 487.6 ve 1383.8 mg/kg K.A. olarak belirlenmiştir.



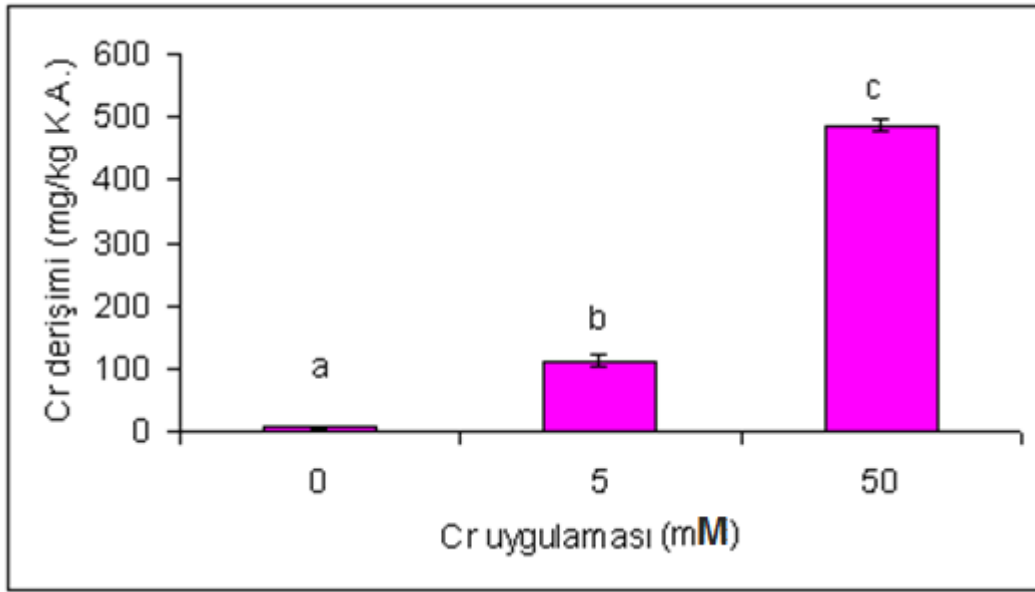
Şekil 4.2. Farklı Ni uygulamalarının etkisindeki *B. monnieri* dokularının Ni içeriği. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



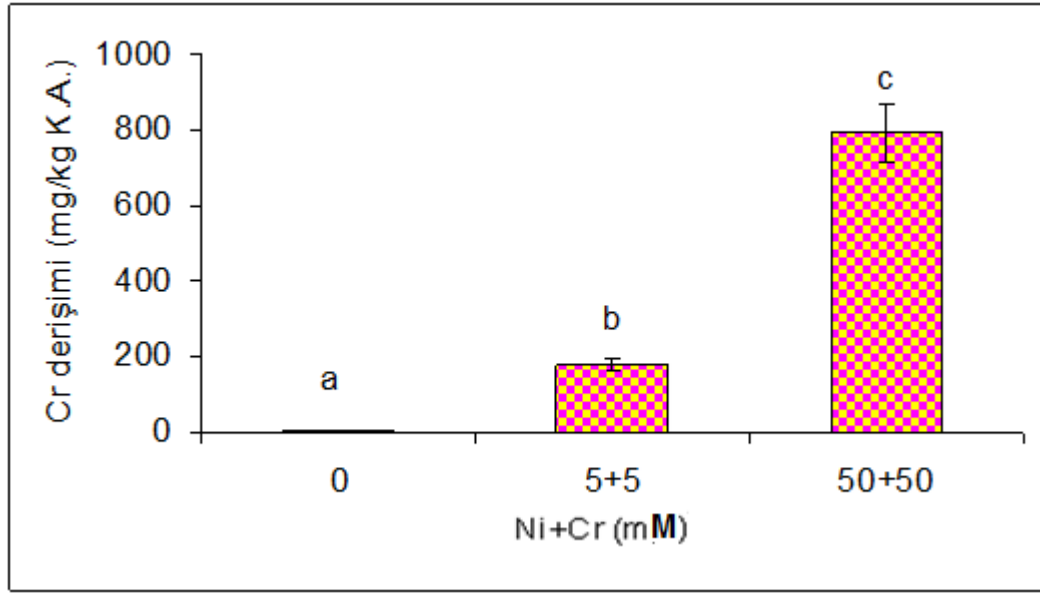
Şekil 4.3. Farklı Ni+Cr uygulamalarının etkisindeki *B. monnieri* dokularının Ni içeriği. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.3. *B.monnieri* Dokularının Cr Derişimleri

Farklı Cr ve Ni+Cr derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B. monnieri* dokularının Cr içerikleri Şekil 4.4 verilmiştir. Yalnız Cr uygulanan bitkilerin metal içeriği 5 ve 50 mM'lık derişimde sırasıyla 113.0 ve 488.5 mg/kg K.A. olarak belirlenmiştir. Nikel+krom derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B. monnieri* dokularının Cr içerikleri Şekil 4.5'de verilmiştir. Ni+Cr etkileşimli uygulamadaki bitki dokularının Cr içeriği de 5+5 ve 50+50 mM+mM'lık derişimlerde 179.7 ve 791.6 mg/kg K.A. olarak belirlenmiştir.



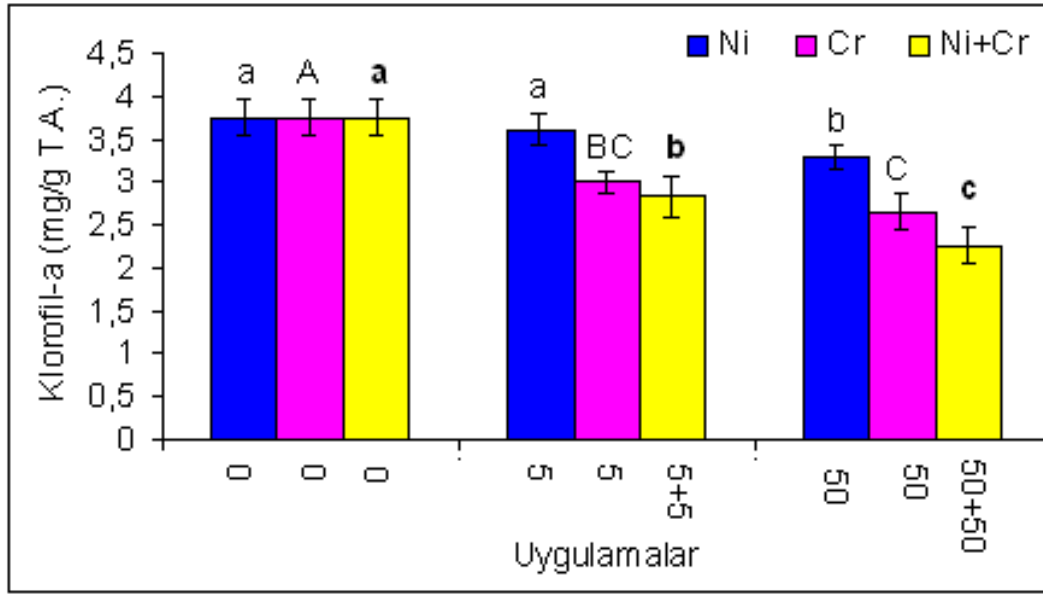
Şekil 4.4. Farklı Cr uygulamalarının etkisindeki *B. monnieri* dokularının Cr içeriği. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



Şekil 4.5. Farklı Ni+Cr uygulamalarının etkisindeki *B. monnieri* dokularının Cr içeriği. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.4. *B. monnieri*'nin Klorofil-a Miktarları

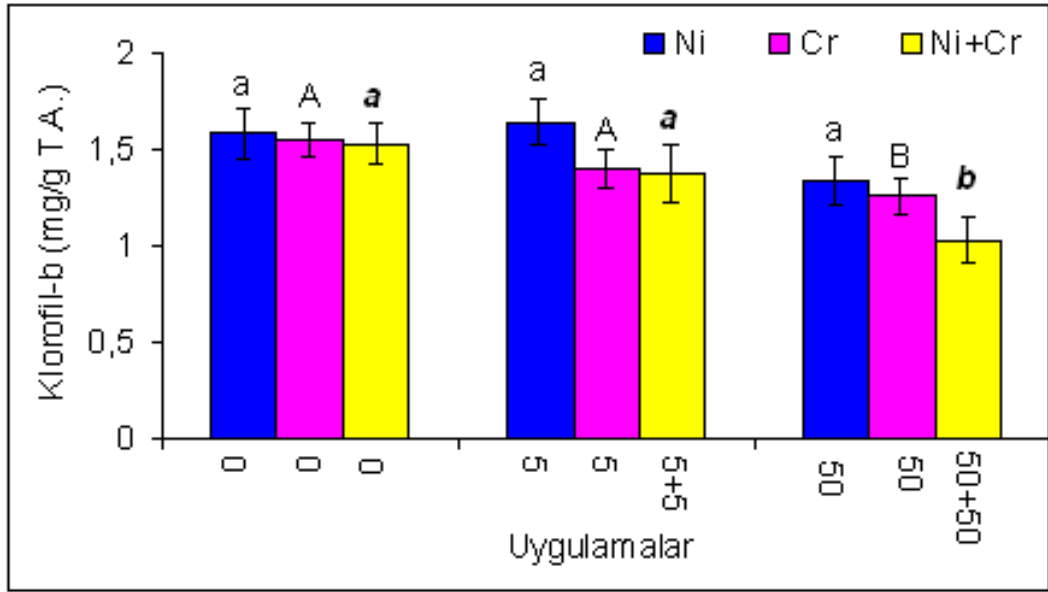
Farklı Cr, Ni ve Cr+Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B. monnieri* yapraklarının klorofil-a miktarları ile verilen istatistiksel değeriendirilmesi Şekil 4.6'da verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, her üç uygulama klorofil-a miktarında azalmaya sebebiyet vermiştir. Buna göre, *B. monnieri*'nin klorofil-a miktarları uygulanan 5mM Ni derişiminde, kontrole göre % 3.33 düzeyinde önemsiz derecede azalmış iken ($p>0,05$), 50 mM Ni derişiminde ise % 12.26 önemli düzeyde azalma belirlenmiştir ($p<0,05$). *B. monnieri*'nin klorofil-a miktarı 5 mM ve 50 mM'lık Cr derişimlerinde kontrole göre % 20 ve %29.2 düzeyinde azalmıştır ($p<0,05$). Nikel+krom etkileşimli ortamda yetiştirilen makrofitin klorofil-a miktarlarıda 5+5 ve 50+50 mM+mM'da kontrole göre sırasıyla %24.8 ve %39.7 düzeyinde azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin klorofil-a miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.5. *B. monnieri*'nin Klorofil- b Miktarları

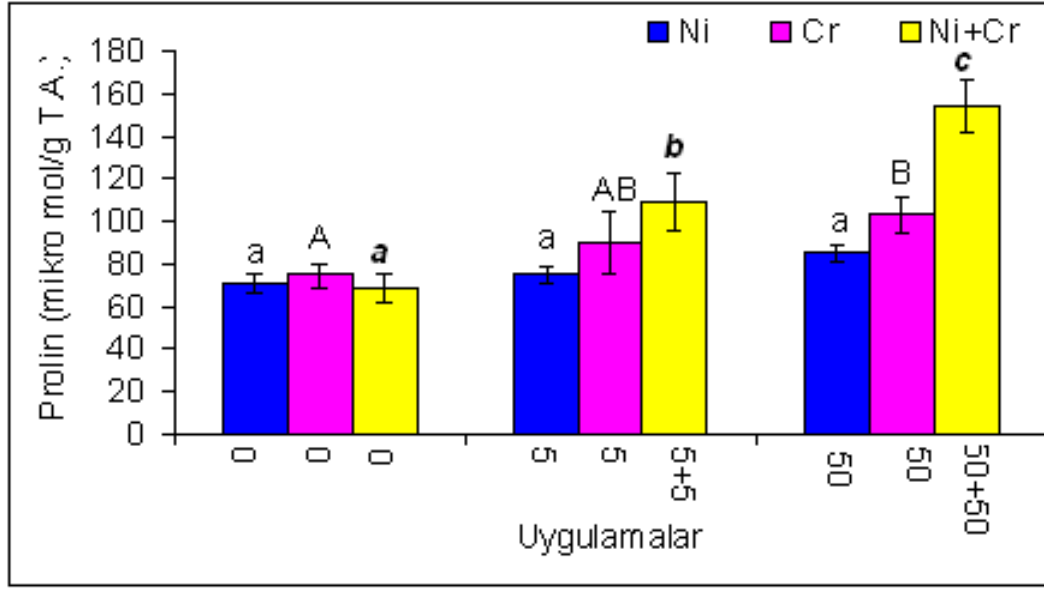
Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri* yapraklarının klorofil-b miktarları ile verilen istatikselsel değeriendirilmesi Şekil 4.7'de verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda bitkide yapılan üç uygulama sonucunda bitkide bulunan klorofil-b miktarını genel itibari ile azaltmıştır. Bulgularımıza göre *B.monnieri*'nin klorofil-b miktarları uygulanan 5mM Ni, kontrole göre %4,11 önemsiz derecede artmıştır ($p > 0,05$). 50mM Ni, kontrole göre % 15,5 önemsiz düzeyinde azalmıştır ($p > 0,05$). *B. monnieri* klorofil miktarı uygulanan 5 mM Cr, kontrol parametresine göre % 9,67 önemsiz düzeyde azalmıştır ($p > 0,05$). Bunun yanında, 50 mM Cr, kontrol parametresine göre % 19,03 önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0,05$). Uygulanan 5 mM Cr +Ni, kontrol parametresine göre % 10,13 önemsiz düzeyde azalmışken ($p > 0,05$), 50 mM Cr +Ni de ise %33 önemli oranda azalmıştır ($p < 0,05$).



Şekil 4.7. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin klorofil-b miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.6. *B. monnieri* Dokularının Prolin Miktarı

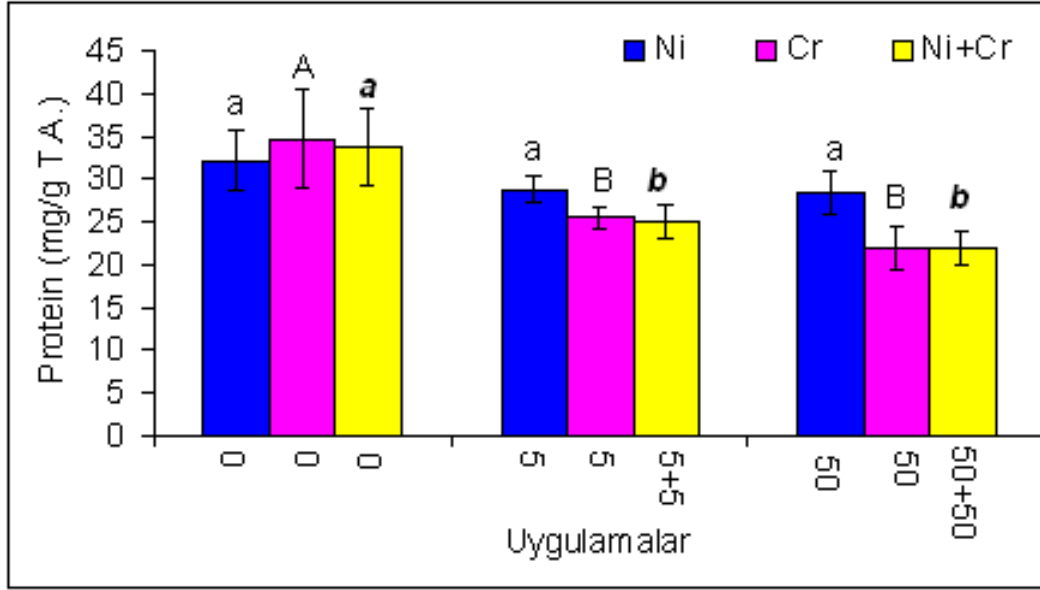
Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B. monnieri*'nin prolin miktarları ile verilen istatistiksel değerlendirilmesi Şekil 4.8'de verilmiştir. Uygulamalar prolin miktarında değişimlere yol açmıştır. Nikel uygulaması bitkide bulunan prolin miktarında çok önemsenmeyecek derecede bir artışa sebep olmuştur. Bulgularımıza göre *B. monnieri* prolin miktarları uygulanan 5 ve 50 mM Ni'de kontrole göre sırasıyla % 5,07 ve %18,93 önemsiz düzeyde artmıştır ($p > 0,05$). Uygulanan 5 mM Cr, *B. monnieri*'de prolin miktarında kontrole göre % 20,69 önemsiz düzeyde artırmışken ($p > 0,05$), 50 mM Cr derişiminde ise % 38,22 önemli düzeyde artmıştır ($p < 0,05$). Prolin miktarları uygulanan 5 mM Cr + 5 mM Ni ve 50 mM Ni +50 mM Cr uygulamalarında sırasıyla % 58,48 ve % 124.15 düzeyinde önemli düzeyde artırmıştır ($p < 0.05$).



Şekil 4.8. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin prolin miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.7. *B. monnieri* Dokularının Protein Miktarı

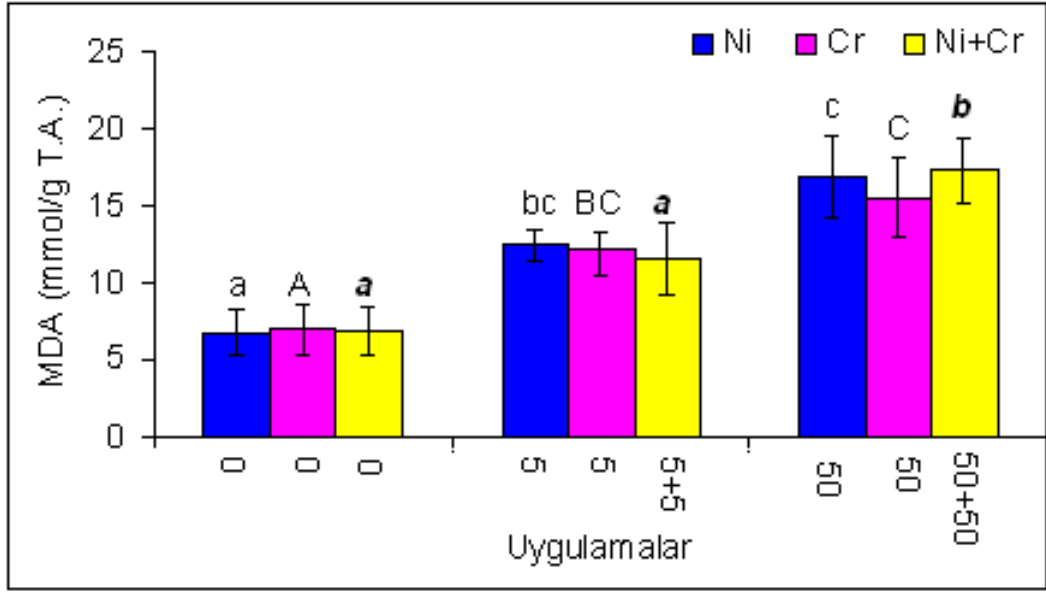
Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri* 'nin protein miktarları ile verilen istatikselsel değeriendirilmesi Şekil 4.9'da verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda uygulanan üç parametrede bitkide bulunan protein miktarını azalttığı belirlenmiştir. Uygulanan yalnız Ni derişimleri protein miktarlarında önemsiz azalmalara neden olmuştur ($p > 0.05$). Kromun 5 ve 50 mM'lık derişimleri protein miktarlarında kontrole göre sırasıyla % 26,43 ve % 36,88 düzeyinde azalmaya neden olmuştur ($p < 0.05$). Protein miktarları uygulanan 5 mM Cr + 5 mM Ni ve 50 mM Ni +50 mM Cr uygulamalarında sırasıyla % 25,71 ve % 34,99 düzeyinde azalmıştır ($p < 0.05$).



Şekil 4.9. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin protein miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.8. *B. monnieri* Dokularının MDA Miktarları

Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri*'nin MDA miktarları ile verilen istatikselsel değeriendirilmesi Şekil 4.10'da verilmiştir. Yapılan analizler sonucunda uygulamalar bitkide MDA miktarında artışa neden olmuştur. Nikelin 5 ve 50 mM'lık derişimlerindeki bitkinin MDA miktarları kontrole göre sırasıyla %84,38 ve % 148,85 düzeyinde artmıştır ($p < 0.05$). Benzer şekilde, 5 ve 50 mM Cr uygulaması MDA miktarında % 74,09 ve % 119,71 düzeylerinde artışa neden olmuştur ($p < 0.05$). Bunların yanında, MDA miktarları 5 mM Cr + 5 mM Ni ve 50 mM Ni +50 mM Cr uygulamalarında % 67,53 ve % 150,68 artmıştır ($p < 0.05$).

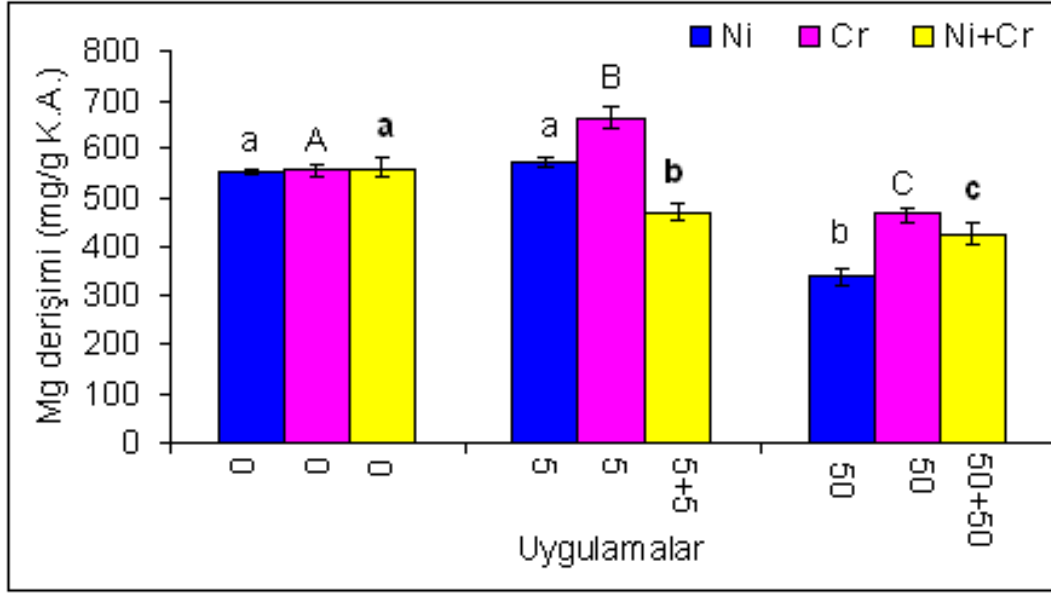


Şekil 4.10. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin MDA miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.9. *B.monnieri* Dokularının Element Derişimleri

4.9.1. Magnezyum Derişimleri

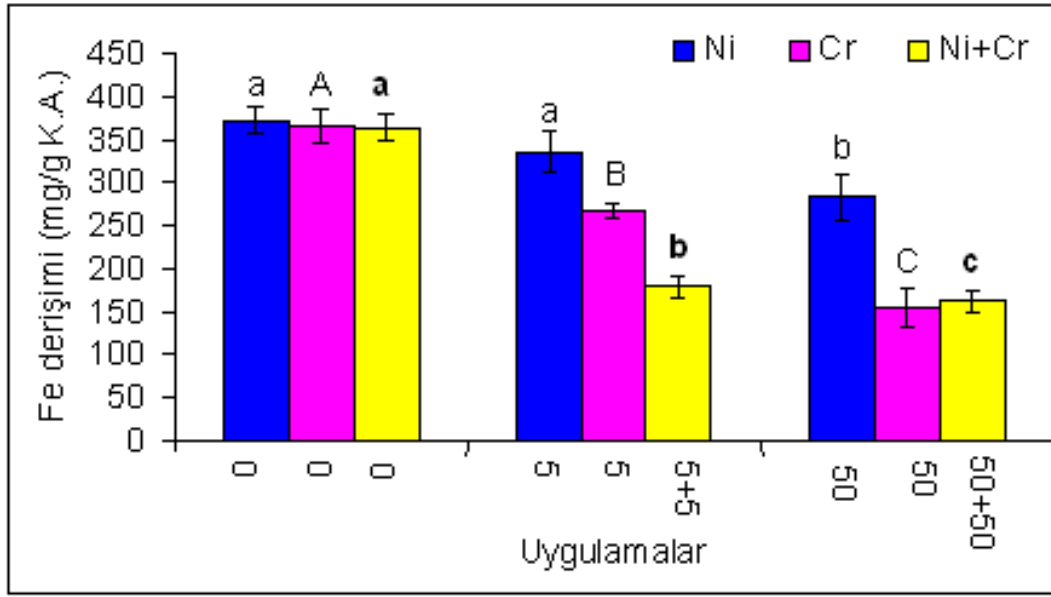
Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri*'nin Mg miktarları ile verilen istatistiksel değerlendirilmesi Şekil 4.11'de verilmiştir. Yalnız Ni uygulamaları dikkate alındığında, bitkinin Mg içeriği 5 mM'lık derişimde önemsiz artış ($p > 0,05$), 50 mM'lık derişimde ise kontrole göre % 38,94 önemli düzeyinde azalmıştır ($p < 0,05$). *B.monnieri*'nin Mg miktarı uygulanan 5 mM Cr, kontrole göre % 19,04 düzeyde önemli artmışken ($p < 0,05$), 50 mM Cr ise % 16,55 düzeyinde önemli azaltmıştır ($p < 0,05$). Ayrıca, bitkinin Mg içeriği 5 mM Cr + 5 mM Ni ve 50 mM Ni +50 mM Cr'de kontrole göre sırasıyla % 16,24 ve % 24,04 düzeyinde azalmaya neden olmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 4.11. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin Mg miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.9.2. Demir Derişimleri

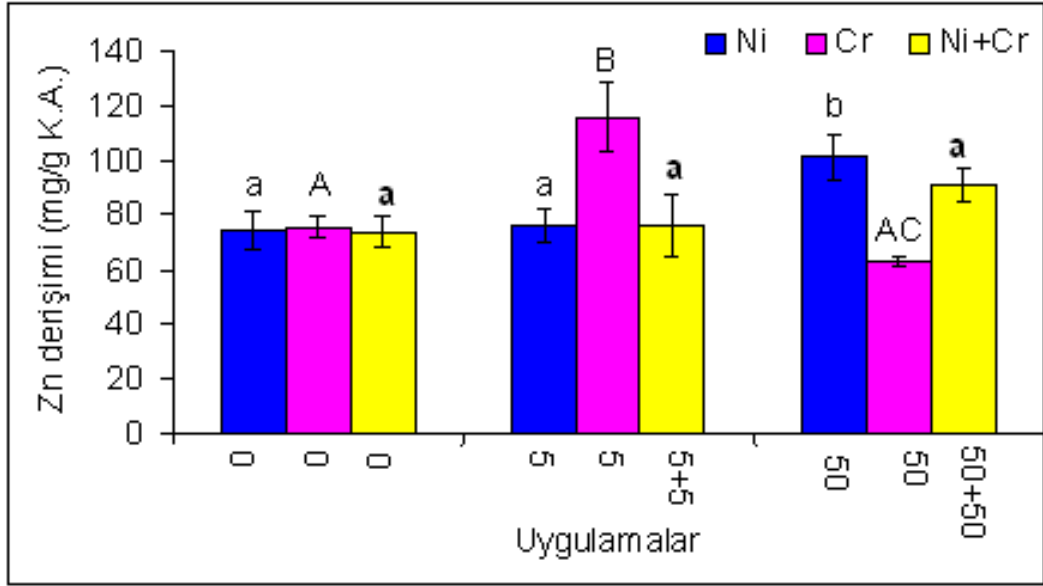
Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri*'nin Fe miktarları ile verilen istatistiksel değerlendirilmesi Şekil 4.12'de verilmiştir. Uygulanan derişimler Fe içeriğinde azalmaya neden olmuştur. Uygulanan 5mM Ni, kontrole göre % 9,86 önemsiz oranda azalmıştır ($p > 0,05$). 50 mM Ni ise % 24,17 önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0,05$). Yalnız Cr uygulaması dikkate alındığında, bitkinin Fe içeriği 5 ve 50 mM'lık derişimlerde % 27,32 ve % 58,03 düzeyinde önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0,05$). Benzer olarak, bitkinin Fe içeriği 5 mM Cr + 5 mM Ni ve 50 mM Ni +50 mM Cr'de kontrole göre sırasıyla % 50,93 ve % 55,28 düzeyinde önemli azalmaya neden olmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 4.12. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin Fe miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.9.3. Çinko Derişimleri

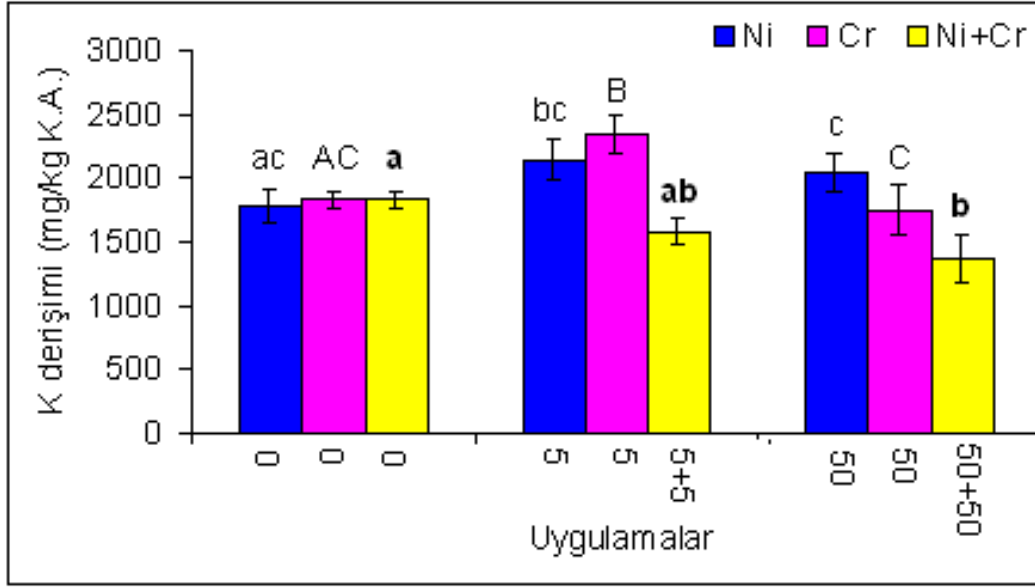
Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri*'nin Zn miktarları ile verilen istatistiksel değerlendirilmesi Şekil 4.13'de verilmiştir. Yalnız Ni uygulaması, bitki dokularının Zn miktarında artışa sebep olmuştur. Buna göre, Zn içeriği 5 mM Ni'de kontrole göre % 1,61 önemsiz derecede artmıştır ($p > 0,05$). Çinko içeriği 50 mM'lık Ni derişiminde ise % 34,89 düzeyinde önemli düzeyde artmıştır ($p < 0,05$). Yalnız Cr uygulamaları dikkate alındığında, 5 mM'lık derişimdeki Zn içeriği % 53,43 önemli düzeyde artmışken ($p < 0,05$), 50 mM'lık derişimde ise % 16,46 düzeyinde önemsiz düzeyde azalmıştır ($p > 0,05$). 5 mM Ni + 5 mM Cr ve 50 mM Ni +50 mM Cr'de ise Zn içeriği % 2,71 ve % 23,02 düzeyinde artmıştır ($p > 0,05$).



Şekil 4.13. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin Zn miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.9.4. Potasyum Derişimleri

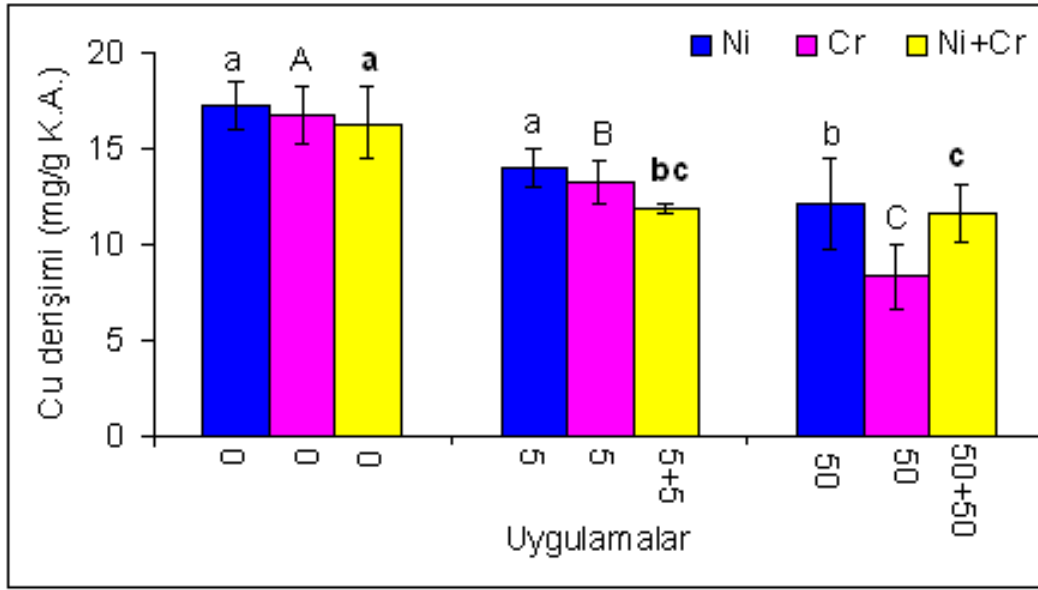
Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri*'nin K miktarları ile verilen istatistiksel değerlendirilmesi Şekil 4.14'de verilmiştir. Yalnız Ni uygulaması, bitkinin K içeriğinde kontrole göre önemsiz düzeyde artırmıştır ($p > 0,05$). Yalnız Cr uygulamasında, bitkinin K içeriği 5 mM'lık derişimde % 28,21 düzeyinde artmasına rağmen ($p < 0,05$), 50 mM'lık derişimde ise % 4,15 düzeyinde önemsiz düzeyde azalmıştır ($p > 0,05$). Bunun aksine, 5 mM Ni + 5 mM Cr etkileşimdeki bitkinin K içeriği % 13,20 düzeyinde önemsiz azalmıştır ($p > 0,05$). Ayrıca, 50 mM Ni +50 mM'da ise kontrole göre % 25,47 önemli oranda azalmıştır ($p < 0,05$).



Şekil 4.14. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin K miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.9.5. Bakır Derişimleri

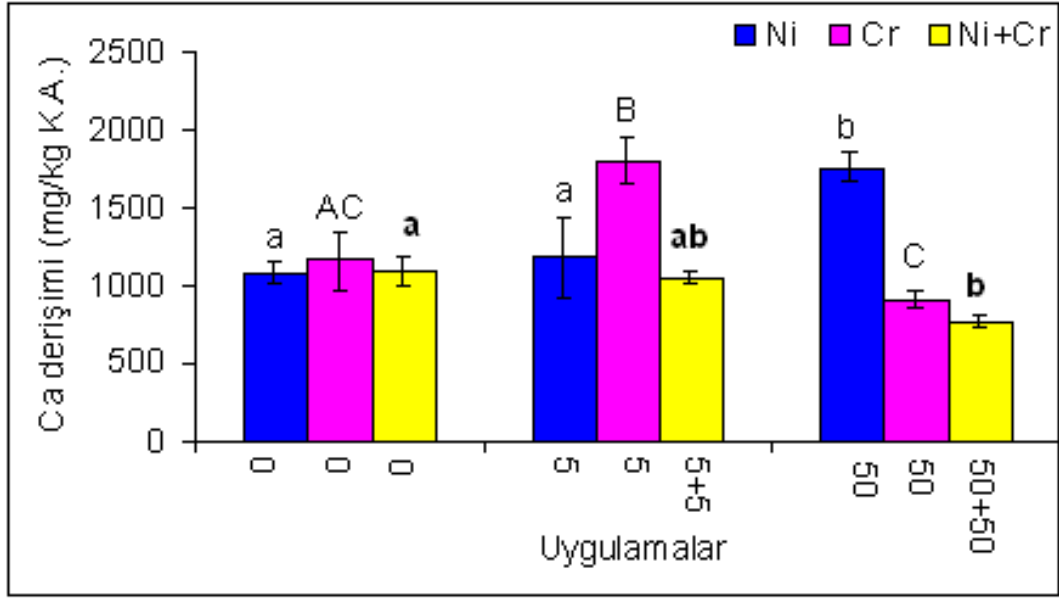
Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri*'nin Cu miktarları ile verilen istatistiksel değerlendirilmesi Şekil 4.15'de verilmiştir. Bulgularımıza göre her üç uygulama bitkinin Cu içeriğinde azalmaya neden olmuştur. Yalnız 5 ve 50 mM Ni derişimlerinde bu azalmalar kontrole göre sırasıyla % 19,07 ($p > 0,05$) ve % 29,76 ($p < 0,05$) düzeylerinde olmuştur. Yalnız 5 ve 50 mM'lık Cr derişimlerinde bu azalmalar sırasıyla % 20,59 ve % 50,44 düzeylerinde bulunmuştur ($p < 0,05$). Bunlara benzer olarak Ni+Cr uygulamalarındaki bitkinin Cu içeriği %28,52'ye kadar azaldığı belirlenmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 4.15. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin Cu miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.9.6. Kalsiyum Derişimleri

Farklı Cr, Ni ve Cr +Ni derişimlerinin etkisinde yetiştirilen *B.monnieri*'nin Ca miktarları ile verilen istatistiksel değerlendirilmesi Şekil 4.16'da verilmiştir. Uygulanan 5 ve 50 mM Ni derişimleri bitkinin Ca içeriğinde %9,60 ($p > 0.05$) ve %63,34 ($p < 0.05$) düzeylerinde artışa neden olmuştur. Kromun 5 mM'lık derişimindeki bitkinin Ca içeriği %55,04 düzeyinde önemli artış göstermiş iken ($p < 0.05$), 50 mM'lık derişimde ise % 21.08 düzeyinde azalmaya neden olmuştur. Ni+Cr derişimlerinin etkisi ise bitkide bulunan Ca miktarının azaldığı belirlenmiştir. Bu azalma 5 mM Ni + 5 mM Cr etkileşimde önemsiz olmuşken ($p > 0.05$), 50 mM Ni +50 mM'da ise % 29,62 düzeyinde önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).



Şekil 4.16. Farklı Ni, Cr ve Ni +Cr derişimlerinin etkisindeki *B. monnieri*'nin Ca miktarları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde bazı elementlerin üretim ve tüketiminin sürekli artış göstermesi, bunların çevreye yayılma ve bulaşma olasılığını artırmaktadır. Bir element gerek maden cevheri halindeyken gerekse işlenirken doğaya karışabilmektedir (Özbek vd., 1995). Çevrede bulunan metallerin kaynakları doğal yollar ve insan faaliyetleridir. Akarsu yataklarında toprağın tipine bağlı olarak zararsız halde bulunabilirler. Bazı metallerin sucul hayat ve insan sağlığına eser miktarda da olsa katkısı vardır. Sadece birkaç metal sucul sistemlerde aşırı miktarlarda bulunabilmekte ve toksik seviyeleri aşabilmektedir. EPA'nın öncelikli kirleticiler listesinde 129 kirletici vardır. Bunlardan 13 tanesi metal, diğerleri organik bileşikler, pestisitler, poliklorobifeniller ve birkaç metal olmayan inorganik bileşiklerdir. Bu metaller kadmiyum, kurşun, antimon, arsenik, berilyum, krom, bakır, cıva, nikel, selenyum, gümüş, talyum ve çinkodur. Bu metaller dünyanın birçok yerinde çevre koruma örgütleri tarafından öncelikli kirleticiler listesine alınmışlardır (Novotny, 1995).

Bitkiler buldukları ortamlardan bazı elementleri bünyelerinde biriktirme yeteneğine sahiptirler. Bazı ağır metaller bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için gereklidir. Bazı bitkiler ise biyolojik işlevi bilinmeyen ağır metalleri de biriktirmektedirler. Bu metaller, derişime ve türe bağlı olarak bitkilerdeki fizyolojik proseslere etki yapabilmektedirler (Raskin vd., 1994).

Krom büyüme, gelişme, enzimler ve diğer bileşikler üzerinde etkili olarak fitotoksik etki gösterdiği birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Vajpayee vd., 2001; Shanker vd., 2005). Krom derişimindeki artışla *Brassica juncea*'de taze ağırlık önemli düzeyde azalırken, kuru ağırlık kontrole göre 500 µM Cr uygulamasında yaklaşık % 57 daha yüksek bulunmuştur (Gupta vd., 2009). *Vallisneria spiralis*'de Cr birikimi ve biyokütle üretimi ile ilişkili toksisite değerlendirilmesinde, 2,5 µg/mL'nin üzerindeki Cr konsantrasyonlarında kuru ağırlık üretiminin olumsuz etkilendiği belirtilmiştir

(Vajpayee vd., 2001). *Portulaca oleracea* bitkisinde tuzluluk ve Cr birikiminin kuru ağırlıkta azalmaya neden olduğunu bildirmiştir (Zurayk vd., 2001). Bununla birlikte, sucul makrofit *Salvinia* türlerinde Cr stresinin kuru ağırlıkta azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Olguin vd., 2002; Dhir vd., 2009). Nikel, bitkilerin normal büyüme ve gelişmesi için önemli olan mikro elementlerden bir tanesidir ve birçok metabolik süreçte gereklidir (Eskew vd., 1983; Brown vd., 1987). Nikelin yüksek derişimlerinin bitkilerde transpirasyonu, fotosentezi, çimlenmeyi ve protein sentezini olumsuz yönde etkilediği yapılan birçok çalışmayla belirlenmiştir (Lidon vd. 1993; Costa vd., 1994; Mohan ve Hosetti, 1997; Munzuroğlu ve Gecgil, 2002). Yaptığımız çalışmada, uygulanan metaller ve kombinasyonları bitkinin kuru ağırlık miktarlarında artan derişimlerle birlikte azalmaya neden olmuştur. Metaller karşılaştırıldığında kuru ağırlık miktarı üzerindeki olumsuz etkilerin Cr>Ni+Cr>Ni şeklinde olduğu görülebilir. Bu sonuçlara göre, uygulanan Cr'nin Ni'ye kıyasla büyüme üzerinde daha olumsuz etkilerinin olduğu; etkileşim uygulamasının ise Cr'nin olumsuz etkilerini azalttığı sonucu çıkartılabilir. Bütün bitki kısımları metalleri direkt olarak akümüle etmelerine karşın, dokulardaki metal konsantrasyonu bitki türleri, metalin türü ve derişimi gibi birçok faktör tarafından etkilenebilmektedir.

Uygulanan metallerin derişimlerinin artışı ile birlikte *B. monnieri*'nin metal içeriğinde de artışlar olduğu belirlenmiştir. Metaller karşılaştırıldığında, Ni'nin Cr'ye kıyasla bitki dokularında daha fazla biriktiği bulunmuştur. Ayrıca, metallerin etkileşimleri dikkate alındığında, Ni+Cr etkileşiminin bitkideki Cr alınımı ve birikimini yalnız Cr uygulamasına göre artırıcı bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında, etkileşimin 5 mM'lık derişimde bitkinin Ni içeriği yalnız Ni uygulamasına göre önemsiz artmış, 50 mm'lık etkileşim derişiminde ise önemli miktarda azaltmıştır. Bu sonuçlarımıza göre, *B. monnieri*'nin Ni ve Cr'yi iyi düzeyde akümüle edebilme yeteneğinin olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, metal etkileşiminin de metallerin alınımı ve taşınmasını etkileyen bir faktör olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, özellikle Ni ile kirletilmiş suların remediasyonunda bu bitkiden de faydalanılabileceği söylenebilir.

Klorofil miktarı ağır metal toksisitesine hassas olan parametrelerden biridir. Ağır metallerin klorofil sentezini inhibe ettiği ve sonuç olarak klorofil miktarlarında azalmalara neden olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Miranda ve

Ilangoan, 1996; Mohan ve Hosetti, 1997). Sucul makrofitlerden *Ceratophyllum*, *Hydrilla* ve *Wolffia*'da klorofil-a ve klorofil-b miktarlarının artan Cd derişimleriyle birlikte azaldığı bulunmuştur. *Ceratophyllum* ile yapılan başka bir araştırmada 0.5 ve 1 mM Cd etkisinde klorofil-a miktarlarındaki azalmalar kontrole göre sırasıyla % 2.7 ve % 5.3 olmuşken, klorofil-b miktarlarında ise sırasıyla % 6.7 ve % 30.0 olduğu bulunmuştur (Dhir vd., 2004). Bulgularımıza göre, uygulanan metaller fotosentetik pigment içeriğinde azalmaya neden olmuştur. Metaller ve etkileşimleri dikkate alındığında klorofil-a ve klorofil-b miktarı üzerindeki olumsuz etkileri Ni+Cr>Cr>Ni şeklinde olduğu belirlenmiştir. *B. monnieri*'nin klorofil miktarındaki bu azalmalar δ -aminolevulinik asit dehidrataz (ALA-dehidrataz) (Padmaja vd., 1990), klorofil biyosentezi için gerekli olan Mg ve Fe elementlerinin alınımı ve kullanımının zayıflaması, Zn yetersizliği sonucunda karbonik anhidraz enziminin inhibisyonu (Van Assche ve Clijsters, 1990) ve klorofil molekülünün tetrapireol halkasındaki Mg'nin yerine bağlanması (Küpper vd., 1996) yollarıyla klorofil biyosentezini inhibe etmiş ve dolayısıyla da klorofil miktarlarında azalmaya neden olmuş olabilir.

Araştırma bulgularımıza göre, protein miktarları artan derişimle birlikte azalmıştır. Bu azalmalar genellikle Ni+Cr>Cr>Ni şeklinde olduğu belirlenmiştir. Ağır metal toksisitesinin bitkilerin protein azalmaların nedenlerinin genelde protein sentezinin inhibisyonunda ya da oksidatif strese üretilen ROT'ların tetiklediği proteolizden kaynaklandığı da rapor edilmiştir (Solomon vd., 1999; Parida vd., 2004).

Tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklık, ağır metal toksisitesi, patojen enfeksiyonları, besin elementi eksiklikleri atmosferik kirlilik ve UV radyasyonları gibi stres koşullarında bitkilerde prolin akümülyasyonları stimüle edilebilir (Hare ve Cress, 1997). Schat vd. (1997) *Silena vulgaris*'in metal tolerant ve tolerant olmayan ekotiplerini ağır metal etkisinde bırakmış ve en yüksek prolin akümülyasyonun Cd stresinde oluştuğunu bulmuşlardır. Cd etkisinde bırakılan iki farklı arpa genotipinde prolin miktarlarında artışlar bulunmuştur (Wu vd., 2004). *B. monnieri*'nin prolin içeriğinde uygulanan Ni, Cr ve Ni+Cr derişimleriyle birlikte artışlar olmuştur. Bu artışlar Ni+Cr>Cr>Ni şeklinde olduğu belirlenmiştir. Ağır metal toksisitesine karşı bitkiler çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bunlardan birinin de prolin olduğu yapılan bu araştırma sonuçları gösterebilir. Özellikle artan metal derişimleriyle

birlikte prolin miktarlarında artışların olması bu aminoasidin metal stresine cevapta biyosentezinin arttığını açıklayabilir.

Membranların lipid kompozisyonu organellerin yapısı ve fonksiyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir (Harwood ve Russel, 1984). Metal toksisitesi bezelyede (Lozano-Rodriguez vd., 1997), *Halianthus annuus*'da (Gallego vd., 1996), *Festuca rubra*'da (Wong vd., 1997) ve *Ceratophyllum demersum*'da (Aravind ve Prasad, 2003) lipid peroksidasyonunda artışlara neden olmuştur. Ağır metaller doymamış yağ asitlerinden ROT'lar yoluyla hidrojen çıkartarak şiddetli bir biçimde lipidlerde peroksidasyona neden olmaktadır. Sonuçlarımıza göre, uygulanan metallerin derişimlerinin artışıyla birlikte MDA miktarında da artışlar olmuştur. Bu artışlar genellikle $Ni+Cr > Ni > Cr$ şeklinde olduğu belirlenmiştir. Buna göre, uygulanan metallerin yüksek derişimleri oksidatif stresin sonucu olarak membranlarda hasarlanmaya yol açtığı MDA miktarlarına bakılarak söylenebilir.

Bitkilerin normal metabolik olaylarını sürdürebilmesi için mineral nutrientlere ihtiyaçları vardır. Birçok stres faktörünün bitkiler tarafından bu elementlerin alınımını ve/veya kullanımını sınırlandırdığı yapılan çalışmalarla ortaya çıkartılmıştır. *B. monnieri*'nin makro ve mikro besin element içeriği Ni, Cr ve bu metallerin kombine uygulamalarından etkilendiği belirlenmiştir. Dokuların Fe ve Cu içeriği uygulamalar tarafından azaltılmıştır. Çinko içeriği 50 mM Cr hariç, genelde uygulamalar tarafından artırılmıştır. Bunların yanında düşük Ni ve Cr derişimleri Mg, K ve Ca içeriğinde artışa neden olmuştur. Literatür çalışmaları sonucunda bitkilerin mineral element akümülyasyonları bitki türüne, organına ve test edilen metalin derişimi ve özelliğine göre farklıklar gösterdiği görülmüştür. Genel olarak bilindiği gibi ağır toksisitesinin membranlara zarar vermesi, test edilen metallerin (Cr ve Ni) ortamdaki anyon ve kationlarla antagonistik ve/veya sinerjistik olarak etkileşmesi ya da bitkinin membranlarının element taşıyıcıları ile rekabet etmesinden dolayı bu sonuçların oluştuğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, Ni, Cr ve bunların etkileşiminin *B. monnieri*'de fizyolojik değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Bu bitki ile ilgili olarak farklı ağır metallerin ve metal-metal etkileşimlerinin fizyolojik etkilerinin çalışılmasında da fayda vardır. Ayrıca, yüksek yapılı su bitkileri ile yapılan çalışmaların sayısı oldukça kısıtlı olduğundan, bu çalışmanın ileride yapılacak benzer çalışmalara kaynak olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

Adiloğlu, A., Bellitürk, K., Karakaş, Ö., Sümer, A., Gönülsüz, E., ve Sarı, H., (2011). Tekirdağ Kıyı Şeridi Topraklarında Ağır Metal Kirliliği. Kıyı Bölgelerinde Çevre Kirliliği ve Kontrolü Sempozyumu, 17/20 Kasım, s: 351/ 365, Tekirdağ.

Ağca, N. (1998). Atık suların toprak ekosistemine etkileri, Atıksu Sempozyumu Bildiri Kitabı, sf.5-8, Kayseri.

Akıncı, I.E. ve Akıncı, S. (2010). Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). *African Journal of Biotechnology* **9**, 4589-4594.

Akıncı, S. ve Akıncı, İ. E. (2011). Nikelin ıspanakta (*Spinacia oleracea*) çimlenme ve bazı fide büyüme parametreleri üzerine etkisi. *Ekoloji* **79**, 69-76.

Ali, N.A., Ater, M., Sunahara, G.I. ve Robidoux, P.Y. (2004). Phytotoxicity and bioaccumulation of copper and chromium using barley (*Hordeum vulgare* L.) in spiked artificial and natural forest soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **57**, 363–374.

Alloway, B. J. ve Ayres DC, (1993). Chemical Principles of Environmental Pollution. Chapman and Hall, U.K., pp. 291.

Alloway, B. J. (1995). In *Heavy Metal in Soils* (Ed: B. J. Alloway), 2nd ed., Blackie Academic and Professional, London, pp. 25-34. and Availability of Bean Leaf Cr to Animals, *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 982-986.

Andaleeb, F., Anjum Zi, M., Ashraf, M. ve Mahmood Khalid Z. (2008). Effect of chromium on growth attributes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Environmental Sciences* **20**, 1475-1480.

Anonim (1990). IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Volume 49, Chromium, Nickel and Welding, IARC, Lyon, France, pp. 257-446.

- Antoniadis, V., Robinson, J.S. ve Alloway, B.J. (2008). Effects of short-term pH fluctuations on cadmium, nickel, lead, and zinc availability to ryegrass in a sewage sludge-amended field. *Chemosphere*, **71**, 759-764.
- Aravind, P. and Prasad, M.N.V., (2003). Zinc Alleviates Cadmium-Induced Oxidative Stress in *Ceratophyllum demersum* L.: A Free Floating Freshwater Macrophyte. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 391-397.
- Aschmann, S.G. ve Zasoski, R.J. (1987). Nickel and rubidium uptake by whole oat plant in solution culture. *Physiol. Plant.* **71**, 191-196.
- Assuncao, A.G.L., Schat, H. ve Aarts, M.G.M. (2003). *Thlaspi caerulescens*, an attractive model species to study heavy metal hyperaccumulation plants. *New Phytologist*, **159(2)**, 351-360.
- Baccouch, S., Chaoui, A., Ferjani, E.E., (1998) . Nickel-Induced Oxidative Damage and Antioxidant Responses in *Zea mays* Shoots. *Plant Physiol Biochem.* **36(9)**: 689- 694.
- Barcelo, J., Poschenrieder, C. ve Gunse B. (1986).Water relations of chromium VI treated bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender) under both normal and water stress conditions. *J. Exp. Bot.*, **37**, 178-187.
- Bishnoi, N.R., Dua, A., Gupta ve Sawhne, S.K. (1993). Effect of chromium on seed germination, seedling growth and yield of peas. *Agric. Ecosyst. Environ.* **47**, 47-57.
- Bollard, E.G. (1983). Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, 15B (Eds.: Lauchli, R. L. Bielecki), Springer-Verlag, Berlin, pp. 695-755.
- Brown P.H., Welch R.M. ve Cary E.E. (1987). Nickel a micronutrient essential for all higher plants. *Plant Physiology* **85**, 801-803.
- Brown, P.H., Welch, R.M. ve Madison, J. (1990). Effect of nickel deficiency on soluble anion, amino acid and nitrogen levels in barley. *Plant and Soil* **125**, 19-27.
- Burke, D.J., Weis, J.S. ve Weis, P. (2000). Release of metals by the leaves of the salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, **51**, 153-159.

- Caneb, G. (1970). Nikel, Madencilik *TMMOB Maden Müh. Od. Derg.*, Cilt:9, Sayı:5.
- Cataldo, D., Garland, T. ve Wildung, R. (1978). Nickel distribution and chemical form in soybean plants. *Plant Physiology* **62**, 566-570.
- Cervantes, C., Campos-Garcia J., Devars, S., Gutierrez-Corona, F., Loza-Tavera, H., Torres-Guzman J.C. ve, Moreno-Sanchez, R. (2001). Interactions of chromium with micro-organisms and plants. *FEMS Microbiol. Rev.*, **25**, 335-347.
- Chatterjee, J. ve Chatterjee, C. (2000). Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower. *Environ. Pollut.*, **109**, 69-74.
- Choudhury, S. ve Panda, S.K. (2004). Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oryza sativa* L. roots. *Bulg. J. Plant Physiol.*, **30**, 95- 110.
- Choudhury, S. ve Panda, S.K. (2005). Toxic effect, oxidative stress and ultrastructural changes in moss *Taxitheelium nepalense* (Schwaegr.) Broth. under lead and chromium toxicity. *Water, Air and Soil Pollution*, **167**, 73–90.
- Collard, J.M., Corbisier, P., Diels, L., Dong, Q., Jeanthon, C., Mergeay, M., Taghavi, S., Van Der Lelie, D., Wilmotte, A. ve Wuertz, S. (1994). Plasmids for heavy metal resistance in *Alcaligenes eutrophus* CH34: mechanisms and applications. *FEMS Microbiol. Rev.*, **14**, 405-414.
- Colpas, G.J. ve Hausinger, R.P. (2000). *In vivo* and *In vitro* kinetics of metal transfer by the *Klebsiella aerogenes* urease nickel metallochaperone, ure. *J. Biol. Chem.*, **275**, 10731-10737.
- Costa, G. Michaut, J.C. ve Morel, J.L., (1994). Influence of cadmium on water relations and gas exchanges in phosphorus deficient *Lupinus alba*. *Plant Physiol. Biochem.*, **32**, 105.
- Courbot, M., Diez, L., Ruotulo, R., Chalot, M. ve Leroy, P., (2004). Cadmium-responsive thiols in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*, *Appl. Environ. Microb.*, **70**, 7413-7417.
- Crooke, W.M., Hunter, J.G. ve Vergnano, O., (1954). The relationship between nickel toxicity and iron supply. *Ann. Applied Biol.*, **41**, 311-324.

- Dekock, P.C. (1956). Heavy metal toxicity and iron chlorosis. *Ann. Bot.* 20, 133- 141.
- Dekock, P.C. ve Mitchell, R.L. (1957). Absorption of metal chelates by plants. *Soil Sci.*, **84**, 55-62.
- Dey, S.K., Jena P.P. ve Kundo S. (2009). Antioxidative efficiency of *Triticum aestivum* L. exposed to chromium stress, *J. Environ. Biol.*, **30**, 539-544.
- Dhir, B., Sharmila, P., Saradhi P.P. ve Nasim, S.A. (2009). Physiological and Antioxidant Responses of *Salvinia natans* Exposed to Chromium- Rich Wastewater. *Ecotox. Environ. Safe.*, **72**, 1790- 1797.
- Dixit, V., Pandey V. ve Shyam, R. (2002). 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.
- Dixon, J.E., Gazzola, C., Blakely, R.B. ve Zerner, B. (1975). Jack-bean Urease (EC 3.5.1.5.3). A Metalloenzyme, A Simple Biological Role for Nickel. *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 4131-4133.
- Douchkov, D., Gryczka, C., Stephan, U.W., Hell, R. ve Baumlein, H. (2005). Ectopic expression of nicotianamine synthase genes results in improved iron accumulation and increased nickel tolerance in transgenic tobacco. *Plant Cell Environ.*, **28**, 365-374.
- Duarte, B., Delgado, M. ve Cacador, I. (2007). The role of citric acid in cadmium and nickel uptake and translocation in *Halimione portulacoides*. *Chemosphere*, **69**, 836-840.
- Duman, F. ve Ozturk, F. (2010). Nickel accumulation and its effect on biomass, protein content and antioxidative enzymes in roots and leaves of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.). *Journal of Environmental Sciences* **22**, 526- 532.
- Ermler, U., Grabarse, W., Shima, S., Goubeaud, M. ve Thauer, R.K. (1998). Active sites of transition-metal enzymes with a focus on nickel. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **8**, 749-758.
- Eskew, D.L., Welch, R.M. ve Norvell, W.A. (1983). Nickel, an essential micronutrient for legumes and possibly all higher plants. *Science*, **222**, 621-623.

Fergusson, J.E., (1990). "The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact and Health Effects", Pergamon Pres, s. 614

Fismes, J., Echevarria, G., Leclerc-Cessac, E. ve Morel, J.L. (2005). Uptake and transport of radioactive nickel and cadmium into three vegetables after wet aerial contamination. *J. Environ. Qual.*, **34**, 1497-1507.

Freeman, J.L., Persans, M.W., Nieman, K., Albrecht, C., Peer, W., Pickering, I.J. ve Salt, D.E. (2004). Increased glutathione biosynthesis plays a role in nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *Plant Cell*, **16**, 2176-2191.

Gajewska E. ve Skłodowska, M. (2005). Antioxidative responses and proline level in leaves and roots of pea plants subjected to nickel stress. *Acta Physiologia Plantarum*, **27(3)**, 329-339.

Gajewska E., Skłodowska, M., Słaba, M. ve Mazur, J. (2006), Effect of Nickel on Antioxidative Enzyme Activities, Proline and Chlorophyll Contents in Wheat Shoots, *Biol. Plant.*, **50**, 653-659.

Gajewska, E. ve Skłodowska, M. (2009). Nickel-induced changes in nitrogen metabolism in wheat shoots. *Journal of Plant Physiology* **166**, 1034-1044.

Gallego, S.M., Benavides, M.P. and Tomaro, M.L., (1996). Effect of Heavy Metal Ion Excess on Sunflower Leaves: Evidence for Involvement of Oxidative Stress. *Plant Sci.* **121**: 151-159.

Gikas, P. ve Romanos, P. (2006). Effects of trivalent (Cr(III)) and hexavalent (Cr(VI)) chromium on the growth of activated sludge. *J. Hazard. Mater.*, **133**, 212-217.

Golovatyj, S.E. ve Bogatyreva E.N. (1999). Effect of levels of chromium content in a soil on its distribution in organs of corn plants. *Soil Res. Fertil.*, **99**, 197-204.

Greger, M. (1999). Metal Availability and Bioconcentration in Plants, pp.1-27, In: Prasad, M.N.V., Hagemeyer, J., (Eds), Heavy Metal Stress in Plants-From Molecules to Ecosystems. Springer, Berlin.

Gupta, S., Srivastava, S. ve Pardha Saradhi, P. (2009). Chromium increases photosystem 2 activity in *Brassica juncea*. *Biol. Plant.*, **53**, 100-104.

- Halstead, R.L., Finn, B.J., Mactean, A.J. (1969). Extractability of nickel added to soils and its concentration in plants. *Can. J. Soil Sci.* **49**, 335–342.
- Hao, F., Wang, X. ve Chen, J. (2006). Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in nickel induced oxidative stress in roots of wheat seedlings. *Plant Science* **170**, 151-158
- Hare, P.D. and Cress, W.A., (1997). Metabolic Implications of Stress-Induced Proline Accumulation in Plants, *Plant Growth Regul.* **21**: 79-102.
- Harwood, J.L. and Russel, N.J. (1984). *Lipids in Plants and Microbes*. Allen and Unwin, London.
- Hausinger, R.P. (1997). Metallocenter assembly in nickel-containing enzymes. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2**, 279-286.
- Haydon, M.J. ve Cobbett, C.S. (2007). Transporters of ligands for essential metal ions in plants. *New Phytol.*, **174**, 499–506.
- Huffman, E.W.D. ve Allaway, H.W. (1973). Chromium in plants: Distribution in tissues, organelles, and extracts. *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 982-986.
- Ilag, L.L., Kumar, A.M. ve Söll, D. (1994). Light regulation of chlorophyll biosynthesis at the level of 5- aminolevulinate formation in Arabidopsis. *Plant Cell*, **6**, 265-275.
- Jain, R., Srivastava, S., Madan, V.K., Jain, R. (2000). Influence of chromium on growth and cell division of sugarcane. *Indian J Plant Physiol* **5**, 228–231.
- Jean, L., Bordas, F., Moussard, C.G., Vernay, P., Hitmi, A. ve Bollinger, J.C. (2008). Effect of citric acid and EDTA on chromium and nickel uptake and translocation by *Datura innoxia*. *Environmental Pollution*, **153**, 555-563.
- Kabataz, Pendias, A. ve Pendias, H. (2001). *Trace, Elements, in, Soils, and, Plants, 3rd, Edition, CRC, Press, Boca, Raton, Ann, Arbor, London*.
- Kahvecioğlu, O., Kartal, G., Güven, A. ve Timur, S. (2004). *Metallerin Çevresel Etkileri I-II*, İTÜ Metalurji ve Malzeme Muhendisliği Bl. (Seminer çalışması 24s).

Kerkeb, L. ve Kramer, U. (2003). The Role of Free Histidine in Xylem Loading of Nickel in *Alyssum lesbiacum* and *Brassica juncea*. *Plant Physiol.*, **131**, 716–724.

Kırbağ Zengin, F. (2006). Fasulye fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike) kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine nikel (Ni^{+2}) ve krom'un (Cr^{+3})'un etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi* **16**,49-56.

Kim, S., Takahashi, M., Hıguchi, K., Tsunoda, K., Nakanishi, H., Yoshimura, E., Mori, S. Ve Nishizawa, N.K. (2005). Increased nicotianamine biosynthesis confers enhanced tolerance of high levels of metals, in particular nickel, to plants. *Plant Cell Physiol.*, **46**, 1809–1818.

Kovacik, J., Klejdusb, B., Kadukova, J. ve Backora, M. (2009). Physiology of *Matricaria chamomilla* exposed to nickel excess. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **72**, 603-609.

Kozlow, M.V. (2005). Pollution resistance of mountain birch, *Betula pubescens* subsp. *czerepanovii*, near the copper-nickel Smelter: natural selection or phenotypic acclimation? *Chemosphere*, **59**, 189-197.

Kramer, U., Cotter-Howells, J.M., Charnock, J.M., Baker, A.J.M., ve Smith, A.C., (1996). Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature*, **379**, 635-638.

Krupa, Z., Siedleka, A., Maksymiec, W. ve Baszynski, T. (1993). *In vivo* response of photosynthetic apparatus of *Phaseolus vulgaris* L. to nickel toxicity. *J. Plant Physiol.*, **142**, 664–668.

Kukier, U., Peters, C.A., Chaney, R.L., Angle, J.S. Ve Roseberg, R.J. (2004). The effect of pH on metal accumulation in two *Alyssum* Species. *J. Environ. Qual.*, **32**, 2090-2102.

Kupper, H., Kupper, F. and Spiller, M., (1996). Environmental Relevance of Heavy Metal Substituted Chlorophylls Using the Exaple of Water Plants. *Journal of Environmental Botany*, 295: 259-266.

Kupper, H. ve Kroneck P.M.H. (2007). *In Metal Ions in Life Sciences* (Eds: A. Sigel, H. Sigel, R. K. O. Sigel), Vol. 2, John Wiley and Sons, Chichester, UK, pp. 31-62.

Kupper, H., Lombi, E., Zhao, F. Kupper, H., Lombi, E., Zhao, F.J., Wieshammer, G. ve Mcgrath, S.P. (2001). Cellular compartmentation of nickel in the hyperaccumulators *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*. *J. Exp. Bot.*, **52**, 2291– 2300.

Lidon, F.C., Ramalho, J. ve Henriques, F.S., (1993). Copper inhibition of rice photosynthesis. *J. Plant Physiol.*, **142**, 12-17.

Lindberg, S., Meyers, T.P. ve Taylor, G.E. (1992). Atmosphere-surface exchange of mercury in a forest: Results of modeling and gradient approaches. *J. Geophys. Res.*, **97**, 2519-2528.

Liu, D.H., Jaing, W.S. ve Li, M.X. (1993). Effect of chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. *Israel Journal of Plant Science*, **42**, 235–243.

Lozano-Rodriguez, E., Hernandez, L.E., Bonzy, P. and Charpena- Ruiz R.O. (1997). Distribution of Cadmium in Shoot and Root Tissue of Maize and Pea Plants: Physiological Disturbances. *J. Exp. Bot.* 306: 123-128.

Luo, Y. ve Rimmer, D.L. (1995). Zinc-copper interaction affecting plant growth on a metal contaminated soil. *Environ. Pollut.*, **88**, 79–83.

Ma, J.F., Ueno, D., Zhao, F.J. ve Mcgrath, S.P. (2005). Subcellular localisation of Cd and Zn in the leaves of a Cd-hyperaccumulating ecotype of *Thlaspi caerulescens*. *Planta*, **220**, 731–736.

Madhava Rao, K.V. ve Sresty, T.V. (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci.* **157**, 113-128.

Maier, T., Jacobi, A., Sauter, M. ve Bock, A. (1993). The product of the hypB gene, which is required for nickel incorporation into hydrogenases, is a novel guanine nucleotide protein. *J. Bacteriol.*, **175**, 630-635.

Marschner, H. (2002). Mineral Nutrition of Higher Plants. *London, Academic Press.*

- Mcgrath, S.P., Lombi; E., Gray, C.W., Caille, N., Dunham, S.J. ve Zhao, F.J. (2006). Field evaluation of Cd and Zn phytoextraction potential by the hyperaccumulators *Thlaspi caerulescens* and *Arabidopsis halleri*. *Environ. Pollut.*, **141**, 115-125.
- Mckenna, I.M., Chaney, R.L. Ve Williams F.M., (1993). The Effects of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. *Environ. Pollut.*, **79**, 113–120.
- Miller, C.P. (1961). Plant and soil prospecting for nickel. *Trans. AMIE*, **220**, 255- 260.
- Miranda M.G. and Ilangovan K., (1996). Uptake of lead by *Lemna gibba* L. influence on spesific growth rate and basic biochemical changes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 56:1000-1007.
- Mizuno, N. (1968). Interaction between iron and nickel and copper and nickel in various plant species. *Lett. Nature*, **219**, 1271-1272.
- Mohan, B.S. and Hosetti, B.B., (1997). Potential phytotoxicity of lead and cadmium to *Lemna minor* grown in sewage stabilization ponds. *Environ. Pollution* 9:233-238.
- Molas, J., (1997). Changes in morphological and anatomical structure of cabbage (*Brassica oleracea* L.) outer leaves and in ultrastructure of their chloroplasts caused by an *in vitro* excess of nickel. *Photosynthetica*. **34 (4)**, 513-522.
- Molas, J. (2002). Changes of chloroplast ultrastructure and total chlorophyll concentration in cabbage leaves caused by excess of organic Ni (II) complexes. *Environ. Exp. Bot.*, **47**, 115–126.
- Mulrooney, S.B. ve Hausinger, R. P. (2003). Nickel Uptake and Utilization by Microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.*, **27**, 239–261.
- Munzuroğlu, Ö., Geçkil, H., (2002). Heavy metal effect on seed germination, root elongation, coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **43**, 203- 212.
- Neumann, P.M. ve Chamel, A. (1986). Comparative Phloem Mobility of Nickel in Nonsenescent Plants. *Plant Physiol.*, **81**, 689-691.

- Nichols, P., Couch, J. D., Al- Hamdanı, S. H., (2000) . *Salvinia minima*'nın
- Nieminen, T.M., Ukonmaanaho, L., Rausch, N. ve Shotyk, W. (2007). Biogeochemistry of Nickel and Its Release into the Environment. *Met. Ions Life Sci.*, **2**, 1-30.
- Novotny, V.,(1995). Diffuse Source of Pollution by Toxic Metals and Impact on Waters, Heavy Metals Problems and Solutions, Salamons, W., Förstner, U and Mader, P. (Eds.). *Springer Verlag*, 412s.
- Olguin, E.J., Hernandez, E. ve Ramos, I. (2002). The Effect of Both Different Light Conditions and The pH Value on The Capacity of *Salvinia minima* BAKER for Removing Cadmium, Lead and Chromium. *Acta Biotechnol.*, **22**, 121-131.
- Özay ve Mammadov, (2013). Ağır Metaller ve Süs Bitkilerinin Fitoremediasyonda Kullanılabilirliği Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Denizli, *Fen Bil. Enst. Dergisi Cilt 15(1)* 67-76.
- Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M. ve Kaplan, H., (1995). Toprak Bilimi. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No:73, Adana, 816s.
- Page, V. Ve Feller, U. (2005). Selective Transport of Zinc, Manganese, Nickel, Cobalt and Cadmium in the Root System and Transfer to the Leaves in Young Wheat Plants. *Ann. Bot.*, **96**, 425-434.
- Page, L. Weisskopf, U. Feller,(2006). Heavy metals in white lupin: Uptake, root-to-shoot transfer and redistribution within the plant, *New Phytol.*, **171**, 329-341.
- Pais, I., Somos, A., Duda, L., Tarjanyı, F. ve Nagymihaly, F. (1970). Trace Elements Experiments with Tomato and Paprika. *I. Kiserletugyi Kozlem*, **62**, 25- 40.
- Panda, S.K., Mahapatra, S., Patra, I.I.K. (2002). Chromium Toxicity and Water Stress Simulation Effects in Intact Senescing Leaves of Green Gram (*Vigna radiata* L. Var Wilckzeck K851), pp.129-136, In: Panda, S.K., (Ed), *Advances in Stress Physiology of Plants*, Scientific Publishers, India.
- Panda, S.K., Chaudhary, I. ve Khan, M.H. (2003). Heavy Metals Induce Lipid Peroxidation and Affect Antioxidants in Wheat Leaves. *Biol. Plant.*, **46**, 289-294.

- Panda, S.K., Choudhury, S., (2005). Chromium Stress in Plants. *Braz. J. Plant Physiol.*, **17**, 95-102.
- Panda, S.K. (2007). Chromium-Mediated Oxidative Stress and Ultrastructural Changes in Root Cells of Developing Rice Seedlings. *J. Plant Physiol.*, **164**, 1419-1428.
- Pandey, V., Dixit, V. ve Shyam, R. (2009). Chromium effect on ROS generation and detoxification in pea (*Pisum sativum*) leaf chloroplasts. *Protoplasma*, **236**, 85-95.
- Pandolfini T., Gabbrielli R., Comparini C. (1992). Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant Cell and Environment* **15**, 719-725.
- Parida, B.K., Chibba, I.M. ve Nayyar, V.K. (2003). Influence of Nickel- Contaminated Soils on Fenugreek (*Trigonella corniculata* L.) Growth and Mineral Composition. *Scientia Horticulturae*, **98**, 113-119.
- Parida, A.K., Das, A.B. and Mittra, B., (2004). Effects of Salt on Growth, Ion Accumulation, Photosynthesis and Leaf Anatomy of the Mangrove, *Bruguiera parviflor*. *Trees*, 18:167-174.
- Peralta-Videa J.R., de la Rosa, G., Gonzalez, J.H. ve J.L. Gardea-Torresdey J.L. (2004). Effects of the growth stage on the heavy metal tolerance of alfalfa plants. *Advances in Environmental Research*, **8**, 679-685.
- Persans, M.W., Nieman, K. ve Salt. D.E. (2001). Functional Activity and Role of Cation-efflux Family Members in Ni Hyperaccumulation in *Thlaspi goesingense*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **98**, 9995–10000.
- Pianelli, K., Mari, S., Marques, L., Lebrun, M. ve Czernic, P., (2005). Nicotianamine Over-accumulation Confers Resistance to Nickel in *Arabidopsis thaliana*. *Transgenic. Res.*, **14**, 739-748.
- Polacco, J.C. (1977). Is Nickel a Universal Component of Plant Urease?, *Plant Sci. Lett.*, **10**, 249-255.
- Ragsdale, S.W. (1998). Nickel Biochemistry, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2**, 208-215.

- Rahman, H., Sabreen, S., Alam, S. ve Kawai, S. (2005). Effects of Nickel on Growth and Composition of Metal Micronutrients in Barley Plants Grown in Nutrient Solution. *J. Plant Nutr.* **28**, 393-404.
- Ramachandran, V., DeSouza T.J. ve Mistry, K.B. (1980). Uptake and Transport of Chromium in Plants. *J. Nucl. Agric. Biol.*, **9**, 126-129.
- Raskin, I., Kumar, P.B.A.N., Dushenkov, S. and Salt, D.E., (1994). Bioconcentration of Heavy Metals by Plants, *Current Opinion in Biotechnology*, **5**: 285-290.
- Riesen, O. ve Feller, U. (2005). Redistribution of Nickel, Cobalt, Manganese, Zinc and Cadmium via the Phloem in Young and in Maturing Wheat. *J. Plant Nutr.*, **28**, 421-430.
- Rout, G.R., Sanghamitra, S. ve Das, P., (2000). Effects of chromium and nickel on germination and growth in tolerant and non-tolerant populations of *Echinochloa colona* (L). *Chemosphere* **40**, 855 -859.
- Schat H., Sharma, S.S. and Vooijs, R., (1997). Heavy Metal-Induced Accumulation of Free Proline in a Metal-Tolerant and a Nontolerant Ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiol. Plant.* 101:477-482.
- Schmidt, W. (1996). Influence of Chromium (III) on Root associated Fe (III) Reductase in *Plantago lanceolata* L. *J. Exp. Bot.*, **47**, 805-810.
- Scoccianti, V., Crinelli, R., Tirillini, B., Mancinelli, V. ve Speranza, A. (2006). Uptake and Toxicity of Cr(III) in Celery Seedlings. *Chemosphere*, **64**, 1695-1703.
- Seregin, I.V. ve Kozhevnikova, A.D. (2006). Physiological Role of Nickel and Its Toxic Effects on Higher Plants. *Russ. J. Plant Physiol.*, **53**, 257-277.
- Shanker, A.K. (2003). Physiological, Biochemical and Molecular Aspects of Chromium Toxicity and Tolerance in Selected Crops and Tree Species, PHD Thesis, Coimbatore: Tamil Nadu Agricultural University, India.
- Shanker, A.K., Djanaguraman, M ve Sudhagar, R. (2004). Differential Antioxidative Response of Ascorbate Glutathione Pathway Enzymes and Metabolites

to Chromium Speciation Stress in Green Gram (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. cv. CO4) Roots. *Plant Sci.*, **166**, 1035-1043.

Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. ve Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International*, **31**, 739-753.

Sharma, D.C., Chatterjee, C. ve Sharma, C.P. (1995). Chromium accumulation and its effects on wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Dh2204) metabolism. *Plant Science*, **111**, 145–151.

Shanker, A.K., Djanaguraman, M ve Sudhagar, R. (2004). Differential Antioxidative Response of Ascorbate Glutathione Pathway Enzymes and Metabolites to Chromium Speciation Stress in Green Gram (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek. cv. CO4) Roots. *Plant Sci.*, **166**, 1035-1043.

Sheoran, I.S., Singal, H.R. ve Singh, R. (1990). Effects of Cadmium and Nickel on Photosynthesis and the Enzymes of the Photosynthetic Carbon Reduction Cycle in Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.), *Photosynth. Res.*, **23**, 345-351.

Singh, A.K., Misra P. ve Tandon P.K. (2006). Phytotoxicity of chromium in paddy (*Oryza sativa* L.) plants. *Journal of Environmental Biology* **27**, 283-285.

Solomon, M., Belenghi, B., Delledonne, M., Menachem, E. And Levine, A., (1999). The Involvement of Cysteine Proteases and Protease Inhibitor Genes in the Regulation of Programmed Cell Death in Plants, *Plant Cell*. 11: 431-444.

Subrahmanyam, D. (2008). Effects of Chromium Toxicity on Leaf Photosynthetic Characteristics and Oxidative Changes in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Photosynthetica*, **46**, 339-345.

Sun, E.J. Ve Wu ve F.Y. (1998). Along-vein Necrosis as Indicator Symptom on Water Spinach Caused by Nickel in Water Culture. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, **39**, 255-259.

Sunderman, F.W. ve Oskarsson, A., (1991). Metals and Their Compounds in the Environment (Ed: E. Merian), VCH, Weinheim, 1101-1126.

TERA (1999). Toxicological Review of Soluble Nickel Salts, Prepared for: Metal Finishing Association of Southern California, Inc., US Environmental Protection

Agency and Health Canada. Prepared by Toxicology Excellence for Risk Assessment (TERA) under subcontract in part with Science Applications International Corporation (SAIC).

The Merck Index (1983). 10th ed. Rahway, New Jersey, Merck Co., Inc., 932.

Tok, H.H. (1997). Çevre Kirliliği. Anadolu Matbaa Ambalaj San. Tic. Ltd. Şti., sf. 266-283, İstanbul.

Toppi, L.S.D., Fossati, F., Musetti, R., Mikerezi, I. ve Favali, M.A. (2002). Effects of hexavalent chromium on maize, tomato and cauliflower plants. *Journal of Plant Nutrition*, **25**, 701–717.

Tripathi, A.K., Sadhna, T. ve Tripathi S. (1999). Changes in Some Physiological and Biochemical Characters in *Albizia lebbek* as Bio- Indicators of Heavy Metal Toxicity. *J. Environ. Biol.*, **20**, 93-98.

Tsui, C. (1955). Effect of Seed Treatment with Micro-elements on the Germination and Early Growth of Wheat, *Scientia Sinica*, **4**, 129-135.

Uzunoğlu, O. (1999). Gediz Nehrinden Alınan Su ve Sediment Örneklerinde Bazı Ağır Metal Konsantrasyonlarının Belirlenmesi, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, sf. 12-73, Manisa.

Vacchina, V., Mari, S., Czernic, P., Marques, L., Pianelli, K. ve Schaumlöffel, D, 2003, Speciation of Nickel in a Hyperaccumulating Plant by High Performance Liquid Chromatography-inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Electrospray MS/MS Assisted by Cloning Using Yeast Complementation, *Anal. Chem.*, **75**, 2740-2745.

Vajpayee, P., Sharma, S.C., Tripathi, R.D., Rai, U.N. ve Yunus, M. (1999). Bioaccumulation of Chromium and Toxicity to Photosynthetic Pigments, Nitrate Reductase Activity and Protein Content of *Nelumbo nucifera* Gaertn. *Chemosphere* **39**, 2159- 2169.

Vajpayee, P., Tripathi, R.D., Rai, U.N., Ali, M.B. ve Singh, S.N. (2000). Chromium (VI) Accumulation Reduces Chlorophyll Biosynthesis, Nitrate Reductase Activity and Protein Content in *Nymphaea alba* L. *Chemosphere*, **41**, 1075-1082.

Vajpayee, P., Rai, U.N., Ali, M.B., Tripathi, R.D., Yadav, V., Sinha, S., Singh, S.N. (2001). Chromium Induced Physiological Changes in *Vallisneria spiralis* L. and Its Role in Phytoremediation of Tannery Effluent. *B. Environ. Contam. Tox.*, **67**, 246-256.

Van Assche, F., Clijsters, H., (1990). Effects of Metals on Enzyme Activity in Plants, *Plant Cell Environ.*, **13**, 195-206.

Vogel-Mikus, K., Drobne, D. ve Regvar, M. (2005). Zn, Cd and Pb Accumulation and Arbuscular Mycorrhizal Colonization of Pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the Vicinity of a Lead Mine and Smelter in Slovenia, *Environ. Pollut.*, **133**, 233-242.

Web, 2015 www.wildlower.org/plants/result.php?id_plant=BAMO

Webb, D., Gagnon, M.M., (2002). “Biomarkers of Exposure in Fish Inhabiting the Swan-Canning Estuary Western Australia-a preliminary study”, *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, p.p.259-269.

Weber, M., Harada, E., Vess, C., Roepenack-Lahaye, E.V. ve Clemens, S. (2004). Comparative Microarray Analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* Roots Identifies Nicotianamine Synthase, a ZIP Transporter and Other Genes as Potential Metal Hyperaccumulation factors. *Plant J.*, **37**, 269- 281.

Welch, R.M. (1995). Micronutrient Nutrition of Plants. *Crit. Rev. Plant Sci.*, **14**, 49-82.

Wong, Y.S., Luo, G.H. and Kwan, K.M.F., (1997). Peroxidation Damage of Oxygen Free Radicals Induced by Cadmium to Plant. *Acta Bot. Sin.* 39: 522-526

Wu, J.-T., Chang, S.C. and Chen, K.S., (1995). Enhancement of Intracellular Proline Levels in Cells of *Anacystis nidulans* (cyanobacteria) Exposed to Deleterious Concentrations of Copper. *J. Phycol.* 31:376-379.

- Wycisk, K., Kim, E.J., Schroeder, J.I. ve Kramer, U. (2004). Enhancing the First Enzymatic Step in the Histidine Biosynthesis Pathway Increases the Free Histidine Pool and Nickel Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.*, **578**, 128-134.
- Xylander, M. ve Braune, W. (1994). Influence of nickel on the green alga *Haematococcus lacustris* Rostafinski in phases of its life cycle. *J. Plant Physiol.*, **144**, 86-93.
- Yanai, J., Zhao, F.J., Mcgrath, S.P. ve Kosaki, T. (2006). Effect of Soil Characteristics on Cd Uptake by the Hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Environ. Pollut.*, **139**, 167-175.
- Zayed, A. Lytle, M.D., QianJ.H. ve Tery, N. (1998). Chromium Accumulation, Translocation and Chemical Speciation in Vegetable Crops. *Planta*, **206**, 293-299.
- Zeid, I.M. (2001). Responses of *Phaseolus vulgaris* to Chromium and Cobalt Treatments. *Biol. Plant*, **44**, 111-115.
- Zengin, F.K. ve Munzuroğlu, O. (2005). Effects of Some Heavy Metals on Content of Chlorophyll, Proline and Some Antioxidant Chemicals in Bean (*Phaseolus vulgaris* L) Seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, **47**, 157-164.
- Zornoza P., Robles S. ve Martin N. (1999) Alleviation of nickel toxicity by ammonium supply to sunflower plants. *Plant and Soil* **208**, 221-226.
- Zurayk, R., Sukkariyah, B. ve Ballbaki, R. (2001). Common Hydrophytes as Bioindicators of Nickel, Chromium and Cadmium Pollution. *Water Air Soil Poll.*, **127**, 373-388.