

ŞUBAT 2014

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİBERİYEDE (*Rosmarinus officinalis* L.) BAKIR
UYGULAMALARININ BAZI FİZYOLOJİK ETKİLERİ

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MESUT BALCAN

ŞUBAT 2014

MESUT BALCAN

**Biberiyede (*Rosmarinus officinalis* L.) Bakır
Uygulamalarının Bazı Fizyolojik Etkileri**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN

Mesut BALCAN

Şubat 2014

© 2014 [Mesut BALCAN]

T.C.


GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: Biberiyede (*Rosmarinus officinalis* L.) Bakır Uygulamalarının Bazı Fiziolojik Etkileri

Öğrencinin, Adı Soyadı: Mesut BALCAN

Tez Savunma Tarihi: 04.02.2014

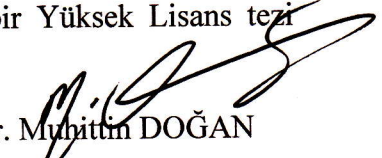
Fen Bilimleri Enstitüsü onayı


Doç. Dr. Metin BEDİR
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığımı onaylıyorum.


Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Enstitü ABD Başkanı

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


Öğr. Gör. 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 :

Prof. Dr. Şükran YAĞCI YÜCEL

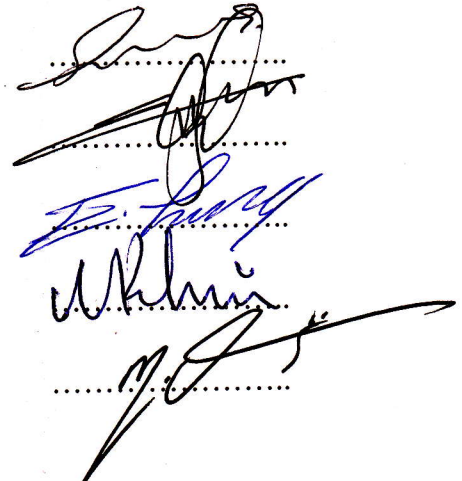
Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL

Yrd. Doç. Dr. Erdihan TUNÇ

Yrd. Doç. Dr. Mustafa PEHLİVAN

Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN

İmzası



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

Mesut BALCAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN'a,

Ders dönemi ve tez döneminde bilgi ve desteklerini gördüğüm bütün bölüm hocalarıma,

Çalıştığım kurum müdürüm Sayın Ali KAYGUSUZ'a,

Tezde kullandığımız bitkilerin tedarikindeki yardımlarından dolayı Sayın Dr. Feyza Nur KAFADAR'a,

Çalışmalarında yardımlarını gördüğüm değerli arkadaşlarım Biyolog Oğuz Gümüş İNAN, Biyolog Hande ZEREN'e,

İyi ve kötü günlerimde yanımda olan, varlıklarından güç aldığım aileme,

En içten teşekkürlerimi sunuyorum.

ÖZET

BİBERİYEDE (*Rosmarinus officinalis* L.) BAKIR UYGULAMALARININ BAZI FİZYOLOJİK ETKİLERİ

BALCAN, Mesut

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN

2014, 47 sayfa

Bu çalışmada, tıbbi ve aromatik bitkilerden olan biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisinde Cu uygulamalarının bazı fizyolojik etkileri araştırılmıştır. Bitkiler üç hafta boyunca araştırma ortamına aklimatize edilmiştir. Bitkiler, 20 gün boyunca bakırın 5, 50, 100 ve 500 ppm'lik derişimlerinin etkisinde yetiştirildikten sonra hasat edilmiştir. Özellikle bakırın 100 ve 500 ppm'lik derişimlerinde sürgün gelişiminde gerileme ve yapraklarda kloroz gözlenmiştir. Biberiye yapraklarının Cu içeriği, uygulanan Cu derişimi ile birlikte artmıştır. Yaprakların K içeriği bakırın 5 ve 50 ppm'lik derişimlerinde kontrole göre sırasıyla %3.8 ve %2.0 azalmışken, 100 ve 500 ppm'lik derişimde ise %1.6 ve %3.7 düzeyinde artmıştır. Yaprakların Fe, Mg ve Ca içeriği uygulanan Cu derişimi ile birlikte artarken, Zn içeriğinde ise azalmalar belirlenmiştir. Yaprakların klorofil-a ve klorofil-b miktarları 500 ppm'lik derişimde kontrole göre sırasıyla %26.4 ve %22.8 düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Benzer olarak, yaprakların toplam protein miktarları da özellikle yüksek Cu uygulamalarında azalmıştır. Reaktif oksijen türlerinden olan H₂O₂ miktarında ise artışlar olmuştur. Yaprakların toplam fenolik bileşik miktarlarında artışların olması, bu tür bileşiklerin toleranstaki rolleriyle ilgili olabilir.

Anahtar kelimeler: Bakır, fizyolojik etki, *Rosmarinus officinalis*

ABSTRACT

SOME PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF COPPER APPLICATIONS IN ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis* L.)

BALCAN, Mesut
M.Sc. in Biology Department
Supervisor: Dr. Muhittin DOĞAN
2014, 47 pages

In this study, effects of Cu application on some of the physiological effects of medicinal and aromatic plants rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) plants were investigated. The plants were acclimatized in growing chamber during three weeks. The plants were treated with 5, 50, 100 and 500 ppm Cu concentrations during 20-days, then harvested. Particularly, a decline in shoot growth and chlorosis in leaves were observed at 100 and 500 ppm Cu concentrations. Copper contents of leaves were increased with increasing Cu concentrations. Although K contents of leaves at 5 and 50 ppm Cu concentrations were decreased as 3.8% and 2.0%, respectively, with respect to control, the contents were increased at 100 and 500 ppm Cu concentrations as 1.6% and 3.7%, respectively. Whereas Fe, Mg and Ca contents of leaves were increased with increasing Cu concentrations, Zn content was decreased. Chlorophyll-a and chlorophyll-b contents of leaves were decreased at 500 ppm Cu concentration as 26.4% and 22.8%, respectively, with respect to control. Similarly, the total protein content of the leaves were decreased by Cu the applications, particularly at high Cu concentrations. There were increases in H₂O₂ amounts, a reactive oxygen species. Observed increases in total amount of phenolic compounds show that such compounds may be related to the roles in tolerance.

Key words: Copper, Physiological effect, *Rosmarinus officinalis*

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
BÖLÜM 1: GİRİŞ	1
1.1. Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Etmenler	3
1.1.1. Doğal Etmenler	3
1.1.2. Tarımsal Etmenler	3
1.1.3. Endüstriyel Etmenler	3
1.1.4. Evsel Etmenler.....	3
1.2. Bakır.....	3
1.2.1. Bitkilerin Bakır Alımı.....	5
1.2.2. Bakırın Bitkilerdeki Etkileri	6
1.3. Çalışmanın amacı.....	8
BÖLÜM 2: LİTERATÜR ÖZETLERİ	9
BÖLÜM 3: MATERYAL VE METOD	17
3.1. Bitki Materyali.....	17
3.2. Bakır Çözeltileri.....	17
3.3. Bakır Uygulaması.....	17
3.4. Tartımlar.....	17
3.5. Bakır ve Mineral Madde İçeriğinin Belirlenmesi.....	18
3.6. Fotosentetik Pigment Analizi.....	18
3.7. Protein Analizi.....	18
3.8. Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi	19
3.9. Hidrojen Pertoksit (H ₂ O ₂) Miktarının Belirlenmesi	19
3.10. İstatistiksel Analiz.....	19
BÖLÜM 4: ARAŞTIRMA BULGULARI	20
4.1. Morfolojik Gözlemler.....	20

4.2. Yaprakların Bakır Miktarları.....	21
4.3. Yaprakların Kuru Ağırlıkları.....	21
4.4. Biberiyelerin Bakıra Toleransları.....	22
4.5. Yaprakların Pigment Miktarları.....	23
4.5.1. Klorofil-a Miktarları.....	23
4.5.2. Klorofil-b Miktarları.....	23
4.5.3. Karotenoit Miktarları.....	24
4.6. Yaprakların Protein Miktarları.....	25
4.7. Yaprakların Fenolik Bileşik Miktarları.....	25
4.8. Yaprakların Hidrojen Peroksit Miktarları.....	26
4.9. Yaprakların Besin Elementi Miktarları.....	27
4.9.1. Demir Miktarları.....	27
4.9.2. Çinko Miktarları.....	27
4.9.3. Potasyum Miktarları.....	28
4.9.4. Magnezyum Miktarları.....	29
4.9.5. Kalsiyum Miktarları.....	29
BÖLÜM 5: TARTIŞMA VE SONUÇ.....	31
KAYNAKLAR.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ		Sayfa no
Şekil 4.1.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiyelerin deney sonu görünümü.....	20
Şekil 4.2.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Cu miktarları.....	21
Şekil 4.3.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının kuru ağırlıkları.....	22
Şekil 4.4.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının tolerans indeksleri.....	22
Şekil 4.5.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının klorofil-a miktarları.....	23
Şekil 4.6.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının klorofil-b miktarları.....	24
Şekil 4.7.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının karotenoit miktarları.....	24
Şekil 4.8.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının protein miktarları.....	25
Şekil 4.9.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının fenolik bileşik miktarları.....	26
Şekil 4.10.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının hidrojen peroksit miktarları.....	26
Şekil 4.11.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Fe miktarları.....	27
Şekil 4.12.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Fe miktarları.....	28
Şekil 4.13.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının K miktarları.....	28
Şekil 4.14.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Mg miktarları.....	29
Şekil 4.15.	Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Ca miktarları.....	30

BÖLÜM 1

GİRİŞ

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 (Özberk vd., 1995). Bazı metallerin canlıların yaşamı ve insan sağlığına eser miktarda da olsa katkısı vardır. EPA'nın 1993 yılı 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, Civa, Nikel, Selenyum, Gümüş, Talyum ve Çinkodur. Bu metaller dünyanın birçok yerinde çevre koruma örgütleri tarafından öncelikli kirleticiler listesine alınmışlardır (Novotny, 1995).

Önemli çevre kirleticilerinden biri olan ağır metallerin bitkilerin vejetatif organlarını makroskobik, mikroskobik ve fizyolojik olarak etkilediği bilinmektedir. Bu olumsuz durumdan sadece bitkilerin vejetatif organları değil aynı zamanda generatif organları ve doğada aktif yaşamlarını sürdüren bütün canlılar etkilenmektedir. Yüzyıllar boyunca insanlar ağır metallerin etkilerini bilmeden takı, silah, su borusu v.b çeşitli amaçlar için kullanmışlardır. Sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren kömürlerin yakılmaya başlanması ile endüstri bölgelerinde ve her geçen gün artan trafik yoğunluğuna maruz kalan dünyamız ve Türkiye'de birçok kirleticiyle beraber ağır metallerin de çevredeki miktarlarının artması sonucunda ağır metal kirliliği aşırı boyutlara ulaşmıştır. Bu maddeler, sadece organizmalarda birikmekle kalmayıp, aynı zamanda gıda zincirlerini dolaşarak ekosistemlerde tehlikeli yoğunluklarda uzun süre kalabilirler. Ağır metallerin doğada yayınımları göz önüne alındığında, metallerin yayılmasına ve ekosistemde zarar vermesine daha çok insanın neden olduğu görüşü hakimdir. Sürekli ve kullanıma bağlı kirlenme, çevrede oldukça fazla ağır metal içeriğine ve yoğunluğuna neden olmaktadır. Bu yoğunluk neticesinde

doğada bulunan bitkiler olumsuz yönde etkilenmekte ve elde edilen ürünler sağlık açısından son derece tehlike arz etmektedir (Okçu vd., 2009).

Ağır metaller atomik yoğunluğu 5 g/cm³'ten büyük olan metal ve metaloitler grubu için kullanılan genel bir isimdir. Genellikle kirlilik ve toksisite problemleriyle ilişkili olan Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb ve Zn gibi elementler için kullanılır. Bu grup elementler için alternatif isim iz elementlerdir. Ancak yaygın bir şekilde kullanılmaz. Ağır metaller normal olarak, kayaların ve maden cevherlerinin bünyesinde bulunduğu için yaşayan organizmalarda, sularda, sedimentlerde ve toprakta bulunması doğaldır (Alloway ve Ayres, 1993).

Ağır metallerin toprakta birikmesinin sadece toprak verimliliği ve ekosistem fonksiyonları üzerinde değil aynı zamanda besin zinciri yoluyla havyan ve insan sağlığı üzerinde de önemli etkileri vardır. Bitki bünyesine ulaşan ağır metaller bitkilerin fizyolojik aktivitelerini engellemekte, verimliliklerini azaltmakta ve ölümlerine neden olmakta dolayısıyla ürün kalite ve miktarının azalmasına yol açmaktadırlar. Bitkilerin ağır metal toksisitesine karşı toleransları bitki türüne, element türüne, strese maruz kalma süresine ve strese maruz kalan doku veya organın yapısına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle ağır metalin tür ve miktarı, yararı, zararın şiddeti ve türü ayrıca zarar oluşum sürecinin bilinmesi bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından oldukça önemlidir (Öktüren Asri ve Sönmez, 2006).

Bitkiler buldukları ortamlardan bazı elementleri bünyelerinde biriktirme yeteneğine sahiptirler. Bazı ağır metaller bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için gereklidir. Bunlar; Mn, Zn, Cu, Mg, Mo ve Ni' dir. Bazı bitkiler ise biyolojik işlevi bilinmeyen ağır metalleri de biriktirmektedirler. Bunlar da; Cd, Cr, Pb, Co, Ag, Se ve Hg' dir (Raskin vd., 1994). Farklı bitki türleri bu metalleri birlikte ve ayrı olarak yüksek derişimler de biriktirme yeteneğine sahiptirler. Ayrıca bazı bitki türlerinin yüksek derişimdeki metal düzeylerine tolerans yetenekleri gelişmiştir (Baker ve Brooks, 1989).

1.1.Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Etmenler

1.1.1.Doğal Etmenler

Toprak ve doğal su kaynaklarının toksik metallere kirlenmesi sonucunda bu bölgelerde yaşayan organizma grupları önemli zararlar görmektedirler. Ağır metaller toprak, su ve havada organik ve inorganik materyallerle kimyasal bağlar kurarak, ligant denilen kompleks yapıları oluşturmaktadır (Salamons ve Förstner, 1995).

1.1.2.Tarımsal Etmenler

Ağır metaller tarımsal çalışmalarda özellikle tarım ilaçları yapımında kullanılmaktadır. Bunlar arasında bakır ve tarım zararlılarına karşı fungusit, kurşun ve arsenik ise meyvelerdeki böcek zararlılarına karşı geliştirilen ilaçlarda kullanılmaktadır. Bazı önemli ağır metaller de bitkiler için besin maddesi olarak tarımsal gübrelerin yapısında bulunmaktadır (Alloway ve Ayers, 1993).

1.1.3. Endüstriyel Etmenler

Ağır metallerin çevresel anlamda en fazla dağılımını sağlayan etmen endüstriyel faaliyetlerdir (Diels ve Mergeay, 1990).

1.1.4. Evsel Etmenler

Evlerde kullanılan özellikle temizlik ürünlerinin atık sularından da ağır metaller çevreye yayılmaktadır (Alloway ve Ayers, 1993).

1.2. Bakır

İlk kez Mısırlılar tarafından üretilen bakır, M.Ö. 3000 yılından itibaren Anadolu, Yunanistan ve Hindistan' da mekanik özellikleri alaşımlandırma yolu ile artırılarak kullanılmıştır. Doğada 200'den fazla bakır minareli bulunmakla beraber sadece 20 tanesi bakır cevheri olarak endüstriyel öneme sahiptir. Endüstride bakırın önemli rol oynamasının nedeni çok farklı özelliklere sahip olmasıdır. Bakırın en önemli özelliklerinin arasında yüksek elektrik ve ısı iletkenliği, aşınmaya ve korozyona

direnç, çekilebilme ve dövülebilme özellikleri sayılabilir. Ayrıca alaşımları çok çeşitli olup endüstride (otomotiv, basınçlı sistemler, borular, vanalar, elektrik santralleri ve elektrik - elektronik vb.) değişik amaçlı kullanılmaktadır. Atmosfere yayılan bakırın ancak % 1'i biyolojik kullanılabilir iyon halinde kalırken diğer kısım sedimente olarak çökler (Kahvecioğlu vd., 2004).

Tarımsal kesimlerde havadaki ortalama bakır konsantrasyonu 5 - 50 ng/m³ iken endüstriyel kirlenmemiş bölgelerdeki deniz suyundaki bakır konsantrasyonu 0.15 µg/L ve tatlı suda ise 1-20 µg/L'dir. Doğal suların pH değerine bağlı olarak çözünürlük sınırındaki azalma sonucu dibine çöker ve doğal yeraltı tatlı suların çökeleklerinde yaklaşık 16 – 5000 mg/kg (kuru ağırlık) arasında ve deniz dibinde ortalama 2 - 740 mg/kg (kuru ağırlık) bakır bulunabilir. Kirlenmemiş toprakta bakır konsantrasyonu ortalama 30 mg/kg (sınır değeri 2 - 250 mg/kg) seviyelerindedir. Bakır ve bileşikleri çevrede dolayısıyla yüzeysel sularda bulunabilirler. Sudaki bakır, pH ve karbonat konsantrasyonu ve diğer anyonlarla ilgilidir. Musluk suyunda bulunan bakır miktarı ham su kaynağından ve arıtılmış suda bulunan bakır miktarından fazla olabilir. Çünkü bakır tuzları dağıtım sistemlerindeki çamur kontrolü ve manganezin yükseltgenmesini katalizlemesi ve depolardaki bakteri büyümelerinin kontrolünde kullanılır (Dumiu,1975; Parada,1987).

Doğada yaygın bir şekilde bulunması, endüstriyel ve tarımsal alanda, insan ve hayvan hastalıklarının tedavisinde ve günlük yaşamda fazla kullanılan bir metal olması nedeniyle başta insanlar olmak üzere çeşitli hayvanlarda sık sık zehirlenmelere yol açar. Ancak bakır çeşitli canlı türlerinin dokularında iz element olarak bulunması bakımından büyük bir öneme sahiptir (Blumenthoi,1994; Langlands,1987).

İnsan metabolizmasında bakır esas elementlerden birisidir. Yetişkinlerin günde 2 mg bakıra ihtiyaç duyduğu tahmin edilmektedir. İnsan kanında ise litrede 0.8 mg Cu⁺² iyonu vardır (Jenkins,1989).

Bakırın bitkiler ve canlılar üzerindeki etkisi, kimyasal formuna ve canlının büyüklüğüne göre değişir. Küçük ve basit yapıları için zehir özelliği gösterirken büyük canlılar için temel yapı bileşenidir. Bu nedenle bakır ve bileşikleri fungusit, biosit, anti bakteriyel madde ve böcek zehiri olarak tarım zararlılarına ve yumuşakçalara karşı yaygın olarak kullanılır.

Bakır doğada pek çok sebze ve meyvede bulunur. Örneğin elmada ortalama 0.1-2.3 mg/kg bakır mevcutken, kuru erikte bu değer 3.7- 5.0 mg/kg'a çıkar, ay çekirdeğinde ise 14.3-19 mg/kg bakır bulunur. Anne sütü ortalama 200-400 µg/L bakır içerir ve bebek ağırlığı başına 50 µg bakır alır. Bakır eksikliğine bağlı olarak hayvanlarda ve insanlarda büyümede gecikme, solunum sisteminde enfeksiyonlar, kemik erimesi, anemi, saç ve deride renk kaybı gibi rahatsızlıklar kendini gösterirken, bakır bilezikler eklemlerin kireçlenmesine ve romatizmaya karşı kullanılır (WHO,1996).

1.2.1. Bitkilerin Bakır Alımı

Bakır bitkiler tarafından temelde Cu^{++} şeklinde alınır. Bitkiler yapay ve doğal organik bileşikler şeklinde bakırı da aldıkları gibi yaprakları aracılığı ile bakır tuzlarını ve komplekslerini de alırlar. Bakır, biyolojik sistemlerde genelde yükseltgenmiş Cu^{++} şeklinde bulunur. Toprak çözeltisinde Cu^{++} 'ın %98 'ine yakının düşük molekül ağırlığına sahip organik bileşik tarafından kompleks oluşturmuş şekilde bulunduğu rapor edilmiştir (Kochian, 1991). Toprakta hareketsiz olması nedeniyle kök üzerine bakırın büyük bölümü kontak değişim yoluyla alınır. Kök üzerine alınan bakır miktarında kontak değişimi payının araştırmalara dayanılarak %87 olduğu rapor edilmiştir (Tisdale vd., 1985).

Yaşlı organlardan genç organlara taşınmakla beraber bakırın bitki içerisinde hareketi azdır. Araştırmalar taşınmanın bitkinin bakır içeriği ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Loneragan, 1975). Örneğin yeteri kadar Cu içeren buğday bitkisinde yapraklardan taneye bakır kolaylıkla taşındığı halde bakır noksanlığı gösteren bitkilerde taşıma çok yavaş gerçekleşir. Çoğu bitki özsuğundan Cu kompleksleri şeklinde bulunur. Amino gruplarındaki azot atomlarına bakırın çok kolay bağlanması nedeniyle ksilem ve floem iletim dokuları içindeki aminoasitler Cu taşıyıcısı gibi görev yaparlar (Loneragan, 1981).

Değişik iyonların Cu^{++} alımı üzerine etki yaptığı saptanmıştır. Ortamda fazla miktarda bulunan Zn^{++} ve Cu^{++} karşılıklı olarak bitkiler tarafından birbirlerinin alınmalarını olumsuz etkilemektedir (Haldar ve Maldal, 1981). Bu olgu Zn^{++} ve Cu^{++}

kasyonlarının aynı taşıyıcılar tarafından alınmasına ve bitkide iç yöreye taşınmasına dayanılarak açıklanmıştır. Taban ve Alpaslan (1996) yaptıkları denemede toprağa artan miktarlarda uygulanan Zn'nin mısır bitkisinin bakır alımını azalttığı saptamışlardır. Azot uygulamasının da Cu⁺⁺ alımını azalttığı saptanmıştır. Azotun bitki büyümesini artırması ve yüksek miktardaki azota bağlı olarak yaşlı yapraklardan meristamik dokulara bakırın daha az taşınmasının buna neden olduğuna inanılmıştır (Gartrell, 1982). Benzer şekilde fosfor da bitkilerde Cu alımını azaltıcı etki yapar. Bu olgu, toprağa uygulanan fosforun bitki büyümesini artırması ve buna karşın bakır alımının artmaması şeklinde açıklanmıştır (Robson ve Reber, 1981).

1.2.2. Bakırın Bitkilerdeki Etkileri

Bitkilerde bakır toksisitesi, genel ağır metal toksisitesinde olduğu gibi küçük sararmış yapraklar ve yaprağın erken dökülmesi şeklinde görülmektedir. Büyüme engellenir, kök gelişimi inhibe olur. İnhibe olan kök gelişimi muhtemelen azalan ve besin alımını ile ilgili olabilir. Bakır toksisitesi iyi bilinmesine karşın ağaçlar üzerine etkileri ile ilgili az çalışma yapılmıştır. Heale ve Ormrod (1982) yaptıkları bir araştırmada dört farklı ağaç türünü iki farklı derişimde bakır çözeltisinin (4000-20.000 µg/l) etkisinde bırakılmışlardır. Kökler ve yapraklarda görülen semptomlar yukarıda bahsedilenlerle aynı olmuştur. 4000 µg/l'lik bakırın etkisinde iki yıllık *Pinus resinosa* solmuştur. Bitkinin ibrelerindeki Cu derişimi 16 µg/l iken köklerindeki Cu miktarı ise 3000 µg/l olduğu bulunmuştur. Bu metal miktarları köklerin kırmızı-kahverengi görünmesine neden olmuş lateral kökler önemli derecede cüceleşmiştir. 4000 µg/l Cu uygulanan *Lonicera tatarica* köklerindeki metal miktarı 279 µg/g bulunmuştur. Fakat bu bitki türü de bakırdan ciddi bir biçimde zarar görmüştür. Bitki fidelerinin ağırlığı kontrole göre %75 oranında azalmıştır. Burton (1986) *Picea sinchensis*'te benzer bakır derişimlerini denemiş ve sürgün ve kök gelişimini 5000 µg/l'lik Cu tarafından önemli derecede azaltıldığını bulmuştur.

Wainwright ve Woolhouse (1977) çimler ve otsu bitkiler üzerine araştırmalar yapmışlardır. *Agrostis capillaris*'in tolerant olmayan genotipinin kök segmentlerinin büyümesi 64 µg/l Cu tarafından kontrole göre % 50-60 oranında azalmıştır. Kültürlerde kalsiyum varlığında büyümedeki azalma sadece % 30-40 arasında

olmuştur. Benzer sonuçlar *Chrysanthemum morifolium* üzerine yapılan araştırmalarda da bulunmuştur. Yaprak ve gövdelerin kuru ağırlıklarındaki azalmalar sadece %13 olmuş fakat köklerdeki azalmaların ise %45 olduğu bulunmuştur (Symeonidis vd., 1985). Düşük bakır derişimleri *Lolium perenne* fidelerinin kökü ve sürgün uzamasını etkilediği bulunmuştur. 14 gün boyunca 20 µg/l'lik Cu derişimlerin etkisinde bırakılan bitkilerde kök gelişimi %50 azalmıştır. Sürgün büyümesinde bakır tarafında geciktirilmiştir (Wong ve Bradshaw, 1982).

Genel olarak çoğu bitki türleri 15-25 µg/g'lık Cu derişimlerinden etkilenir (Becket ve Davis, 1977). Bazı bitki türleri yapraktaki 10 µg/g'lık Cu derişimlerinin yanıt vermelerine karşın *Picea sitchensis* gibi bitki türleri ibrelerindeki 88 µg/g'lık derişimlere dayanabilmişlerdir (Borton vd., 1983).

Damarlı bitkiler üzerine bakırın fizyolojik etkileri ile ilgili çalışmalar eksik denebilir. Yapılan çalışmalarda Cu iyonlarının fotosentezi ve respirasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir. Fotosentez bakıra oldukça duyarlıdır. Ancak fotosistem I'in fotosistem II'den duyarlı olduğu rapor edilmiştir. Yaprak hücrelerindeki klorofil miktarı da bakır tarafından azalmıştır. Fakat *Zea mays* fideleri 64 ile 64.000 µg/l'lik Cu etkisinde bırakılmış ve klorofil miktarı önemli derecede artmıştır. Azalan kök/sürgün oranını takiben C₄ bitkilerinin fotosentezinde anahtar bir enzim olan fosfoenolpirüvat karboksilaz (PEPC) aktivitesi 64 µg/l'lik Cu derişimlerinden önemli derece etkilenmiştir. Benzer olarak C₃ bitkilerinin fotosentezi ile ilgili enzim Ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz (RuBPC) arpa fidelerinde bakır tarafından inhibe edilmiştir (Stiborova vd., 1986). Bakır iyonlarının varlığında hücre permalitesi ve K⁺ sızıntısında bir artma olur. *Agrostis capillaris* 640-64.000 µg/l'lik Cu etkisinde bırakıldıklarında köklerinden K⁺ sızıntısı kontrole göre 9 ile 28 kat artış göstermiştir (Wainwright ve Woolhouse, 1977). Demir alınımı ve metabolizmasının da Cu tarafından etkilendiği rapor edilmiştir (Bujtas ve Ches, 1981).

Bakır fazlalığının genellikle in vitro olarak karbonhidrat ve azot metabolizmaları ile enzim aktivitelerini bozduğu bilinmektedir. Daha önce bahsedildiği gibi bakırın fotosentezi inhibe ettiği (PEPC ve RuBPC inhibisyonuyla) de belirtilmiştir (Stiborova vd., 1986). Gelişme ortamındaki yüksek Cu derişimlerinin (1000-10.000 µg/l) *Glycine max*'da azot metabolizmasını etkilediği bulunmuştur. Hem azot

fiksasyonu (asetilen azalması olarak ölçülmüş) hem de azot fiksasyonunda aktif olan leghemoglobin bakır tarafından azaltılmıştır. Azot fiksasyonuna zıt olarak NH₄ birikimi artmıştır. Nodüllerde gözlenmiş değişen aktivite bakırın indirekt etkilerinden olabilir. Ağır metalle kirlenmiş topraklarda genellikle azot fikse eden bitkiler kullanılır.

1.3. *Rosmarinus officinalis* L.

Rosmarinus officinalis L., Lamiaceae'ye ait bir türdür. 1-2 m. boyundaki bitki kışın yapraklarını dökmez. Kâfur ya da okaliptüs kokusunu andıran güçlü bir aromaya sahiptir. İlkbahar ve yaz aylarında açan çiçekleri, beyaz, açık mavi ve mavi renklidir. Yapraklarının tadı acımsı baharlıdır. Yapraklarından ve uçucu yağından yararlanır (<http://web.ogm.gov.tr>).

Biberiye; kumlu, balçıklı toprakları seven, ılıman iklim bitkisidir. Akdeniz'e kıyı ülkelerde ve ülkemizde de Marmara, Ege ve Güney Anadolu'da yabani olarak yetişmektedir. Aynı zamanda süs bitkisi olarak da yetiştirilir. Bahçede güneşi iyi alan hafif nemli bir yerde yetiştirmek mümkündür. Yaz, kış yeşil kalan bu bitkiye makilerde, kuru yamaçlarda rastlanabilir. Boyu 2 m'ye ulaşan bitki, sık dallıdır. Kökleri yaşlandıkça beyazdan kahverengiye dönüşür. İnce, uzun gövdesinin alt tarafı odunumsudur. Yaşlandıkça kabuk kabuk olup kalkmaya başlar. Sık dallara yapışık, sık ve karşılıklı çıkan yapraklar iğne uçlu yaprakları andırır. Boyları 3-4 cm ve genişlikleri 3-4 mm kadardır. Yaprakların üstleri parlak yeşil ve düzdür, altları ise beyaz tüylerle kaplıdır. Açık mavi, mavi ya da beyaz çiçekler yaprak diplerinden çıkarlar ve çoğunlukla bitkinin üst tarafında toplanırlar. Mart ayından temmuz ayına dek açarlar (<http://web.ogm.gov.tr>).

Biberiyenin, dünyanın birçok yerinde kültürü yapılmaktadır. Başta Türkiye olmak üzere özellikle Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde 1500-1700 m yüksekliklere kadar yetişme ortamı bulmuştur. Çok sayıda varyete ve forma sahiptir. Akdeniz havzası başta olmak üzere ılıman ve sıcak iklim bölgelerinde kültüre alınmıştır. Akdeniz ülkelerinde yabani olarak yetişir. Yayılış gösterdiği ülkeler Portekiz, Yugoslavya, Fransa, İspanya, Tunus, Fas, Cezayir ve İtalya'dır (<http://web.ogm.gov.tr>).



Şekil 1.1. *Rosmarinus officinalis* L. (<http://www.val-znanje.com/index.php/ljekovite-biljke/1086-ruzmarin-rosmarinus-officinalis-l>)

1.4. Çalışmanın Amacı

Türkiye'nin hızlı sanayileşmesi ve gerekse her geçen gün artan trafik yoğunluğuna maruz kalması diğer birçok kirleticiyle beraber ağır metallerin de çevredeki miktarlarını arttırmaktadır. Bu durum özellikle aktif hareket etme yeteneği olmayan bitkilerde başta ürün kaybı olmak üzere birçok olumsuzluğa neden olmaktadır.

Bakır, çeşitli alanlarda kullanılan bir materyal olduğu için bu elementin oluşturduğu kirliliğin pek çok kaynağı mevcuttur. Bakırın düşük konsantrasyonları dahi tarımsal ürünlere, sudaki organizmalara ve insan hayatı için zehirlilik etkisi oluşturmaktadır. Bakır gibi ağır metallerin proteinlerin ve enzimlerin katalitik ve yapısal bileşenleri olarak, normal bitki büyüme ve gelişmesi için kofaktör olarak gerekli olduğu

bilinmektedir. Ancak bu mikro besin elementinin fazlalığı ise bitkilerde toksik etki yapmaktadır.

Tıbbi ve aromatik bir bitki olan *R. officinalis* ile yapılan bu çalışmada; (1) bitkinin kullanılan kısımlarının başında gelen yapraklarda Cu birikimi, (2) Cu'nun bazı mikro ve makro besin elementi alınımına etkisi ile (3) Cu etkisi altında meydana gelebilecek bazı fizyolojik değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETLERİ

Koç vd. (2013) tarafından farklı konsantrasyonlarda kadmiyum uygulanan Kahramanmaraş-acı biber çeşidi bitkilerinin yaprak ve gövdelerinde, kadmiyum (Cd), kalsiyum (Ca), potasyum (K) ve magnezyum (Mg) minerallerinin miktar analizleri araştırılmıştır. 6-7 yapraklı fideler 48 saat aralıkla 4 gün süresince 20, 40, 80, 100 µM CdCl₂ uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, biberin bazı fizyolojik olaylarının kadmiyumdan etkilendiğini göstermiştir. Bu çalışmada uygulamanın süresine bağlı olarak yaprak ve sürgünlerde Cd birikimi ve diğer minerallerin içeriğinin değişebileceği tespit edilmiştir.

Muslu ve Ergün (2012), ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L. cv Dağdaş) fidelerine krom ve bakır ağır metalleri ile ayrıca bu ağır metallerle birlikte yüksek sıcaklık uygulamıştır. Sürgünlerdeki çözümlü proteinler SDS-PAGE tekniği ile belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık ve ağır metal stresi altında kontrol gruplarına oranla çözümlü protein miktarı önemli derecede azalmıştır. Ayrıca araştırma sonuçlarımıza göre genel olarak Cr uygulamaları, Cu uygulamalarına kıyasla daha toksik bir etki meydana getirmiştir.

Demir ve Düz (2008), Diyarbakır ilinde yayılış gösteren bazı yonca türlerinde gövde, yaprak ve meyvelerinde Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb ve Zn miktarlarını atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, çalışılan türlerin tüm organlarında ağır metal seviyeleri Fe > Mn > Zn > Cu > Ni şeklinde belirlenmiştir. Organlar karşılaştırıldığında yapraklardaki Fe, Mn, Zn, Cu ve Ni miktarlarının gövde ve meyveye göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Şekeroğlu vd. (2008), Türkiye’de yaygın olarak kullanılan ve ticareti yapılan tıbbi bitkileri kadmiyum ve bazı mikro besin elementi (bakır, demir, mangan ve çinko)

içerikleri yönünden incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, araştırmada ele alınan meyan balı, ihlamur çiçekleri ve ısırgan yaprağı örneklerinin hiçbirinde kadmiyum tespit edilememiş olup, incelenen diğer tıbbi bitki örneklerinde kadmiyum oranının 7 µg/kg ile 126 µg/kg arasında değişim gösterdiği, en yüksek kadmiyum içeriğinin ise papatyada olduğu tespit edilmiştir. Mikro besin elementleri içerisinde en yüksek değer 520 mg/kg demir içeriği ile zahter örneklerinde, en yüksek bakır, mangan ve çinko içeriklerinin ise sırasıyla kuşburnu meyvelerinde (24 mg/kg), İzmir kekiğinde (58 mg/kg) ve zahterde (50 mg/kg) olduğu bulunmuştur. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, Türkiye’de yaygın olarak bitkisel tedavide kullanılan tıbbi bitkilerin gerek kadmiyum gerekse mikro besin elementi içerikleri yönünden kritik seviyelerin altında olduğu sonucuna varılmıştır.

Özkutlu vd. (2007), son yıllarda baharatların ve tıbbi bitkilerin iz element ve ağır metal içerikleri üzerine çalışmaların yoğunlaştığını belirtmektedirler. Bu anlamda, Türkiye’de yaygın şekilde üretilen ve tüketilen bazı baharatların Cd, Fe, Cu, Mn ve Zn başta olmak üzere mineral madde konsantrasyonlarını tespit etmişlerdir. Çalışmada, kimyon (*Cuminum cyminum* L.), keten (*Linum usitatissimum* L.), anason (*Pimpinella anisum* L.), çemen (*Trigonella foenum-graceum* L.), kişniş (*Coriandrum sativum* L.), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.), haşhaş (*Papaver somniferum* L.) ve tarhın (*Artemisia dracunculus* L.) bitkilerinin baharat olarak kullanılan kısımları kimyasal analizlere tabi tutulmuştur. Araştırma sonuçlarına göre; haşhaş tohumlarında kadmiyuma rastlanmazken, incelenen örneklerde en yüksek kadmiyum oranı (128 mg/kg) keten tohumlarında ortaya çıkmıştır. En düşük kadmiyum konsantrasyonu (7 mg/kg) ise çemen tohumlarında tespit edilmiştir. Baharat örneklerindeki bakır konsantrasyonları 6 ila 17 mg/kg arasında değişmiş olup, en yüksek değer tarhında belirlenmiştir. Demir bakımından en yüksek değer (129 mg/kg) kimyon meyvelerinde, en düşük değer (29 mg/kg) ise haşhaş tohumlarında bulunmuştur. Mangan yönünden en zengin (42 mg/kg) baharatın tarhın, en fakirin (8 mg/kg) ise çemen olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada ele alınan örneklerin çinko içerikleri 11 ila 28 mg/kg arasında değişmiş olup, keten tohumları en yüksek çinko içeriğine sahip olmuştur. Çalışma kapsamında ele alınan baharatların iz element konsantrasyonu yönünden düşük değerlere sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Kırbağ Zengin (2007), fasulye fidelerinin pigment miktarları üzerine civa, bakır, kadmiyum ve kurşunun etkileri araştırılmıştır. Çalışmada bir haftalık fasulye fideleri kullanılmıştır. Fideler on gün süreyle Hoagland solüsyonuyla hazırlanmış civa, kadmiyum, bakır ve kursun klorürün farklı konsantrasyonlarında büyümeye bırakılmıştır. Yapraklarda yapılan pigment analizlerinde civa, bakır, kadmiyum ve kursunun klorofil a, klorofil b, pigment I ve pigment II miktarlarını azalttığı, buna karşılık karotenoid miktarını artırdığı tespit edilmiştir.

Uysal ve Katkat (2005), Bursa ve çevresinde yetiştirilen kiraz ağaçlarının Fe, Zn, Mn ve Cu ile beslenme durumlarını belirlemişlerdir. Yaprak örneklerinin analiz sonuçları her iki yılda da bakır ile beslenme sorunu olmadığını, yıllara göre bahçelerin % 58-83' ünde Fe, % 21-42'sinde Mn, % 88-92'sinde Zn'nun optimum değerlerin altına düştüğü ortaya konmuştur.

Sosse vd. (2004), bakırın hıyar bitkisinin karbonhidrat birikimi ve iyon içeriği üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bir başka çalışmada 0 ve 20 µg/g bakır uygulanmıştır. Genç yaprakların nişasta içeriğinin kontrole göre %155, olgun yaprakların ise %116 oranında arttığı saptanmıştır. Nişasta içeriğindeki bu artışın yüksek dozlardaki bakırın asimilat taşınmasını engellemesinden kaynaklandığı ifade edilmiştir. Bitkilerin potasyum ve magnezyum içeriklerinin hem genç hem de olgun yapraklarda kontrole göre %40 azaldığı ve bakırın kalsiyumun köklerden yapraklara taşınmasını azalttığı tespit edilmiştir.

Kırbağ Zengin ve Munzuroğlu (2004), fasulye fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* cv. Strike) sitokinin miktarları üzerine civa, bakır, kadmiyum ve kurşunun etkileri araştırılmıştır. Civanın stok solüsyonundan (HgCl₂) 0.02, 0.04, 0.06 mM, kadmiyumdan (CdCl₂.H₂O) 0.05, 0.06 ve 0.08 mM, bakırdan (CuCl₂) 0.1, 0.2 ve 0.3 mM, kurşundan (PbCl₂) ise 1.5, 2.0 ve 2.5 mM konsantrasyonları hazırlanmıştır. Sonuçlara göre, dört ağır metal fidelerin sitokinin seviyesinde önemli oranlarda azalışlar bulunmuştur. Sitokinin içeriğindeki azalışın ağır metalin çeşidi ve konsantrasyonu ile ilişkili olduğu görülmüştür. Fidelerin içsel sitokinin seviyesi üzerine en fazla toksik etkiyi civa göstermiştir. Bu metali sırayla kadmiyum, bakır ve kurşun izlemiştir.

Zengin ve Munzuroğlu (2004), klor tuzu halinde uygulanan bakır ve kurşunun fasulye fidelerinin kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Her iki ağır metalin de fidelerin kök, gövde ve yaprak büyümesini önemli oranda engellediği tespit edilmiştir. Ağır metal tuzunun konsantrasyonundaki artış ile kök, gövde ve yaprak büyümesinin azalma oranı arasında bir paralellik görölmüştür. Fidelerin ağır metale maruz kalma süresinin uzaması kök, gövde ve yaprak büyümesindeki azalmanın daha fazla olmasına yol açmıştır. Kök büyümesinin kurşun ve bakır stresine daha duyarlı olduğu, bunu gövde ve yaprak büyümesinintakip ettiği belirlenmiştir.

Seregin vd. (2003), mısır bitkisinin köklerdeki nikel toksitesini ve dağılımını araştırdıkları bir çalışmada, mısır bitkilerine nikelin 0, 15, 20, 25 ve 35 µM dozları uygulanmıştır. Gözlemler sonucunda dozlardaki artışla birlikte bitkinin kök ve sürgün boylarında % 40 ila % 60 arasında azalmalar olduğu belirlenmiştir.

Lin vd. (2003), bakır sülfatın farklı derişimlerinin *Helianthus annuus* L'de kök, hipokotil ve kotiledon tarafından birikimi ve metalin yaprak büyümesine etkileri araştırılmıştır. 10^{-5} M bakır çözeltisi kontrole kıyaslandığında sürgün büyümesini % 33 oranında azaltmıştır. Kök, hipokotil ve kotiledondaki bakır miktarları uygulanan bakır derişimleri ile orantılı olarak artmıştır. En yüksek Cu birikimi köklerde ölçölmüşken (%73), hipokotil, kotiledon ve yaprakta ise daha az Cu birikimi (%27) olmuştur.

MacFarlane ve Burchett (2002), *Avicennia marina* fideleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada 100 µg/g bakır uygulamasından, 400 µg/g bakır uygulamasına gidildikçe toplam biyo-küttelede azalma ve kök gelişiminde gerileme gözlendiğini kaydetmişler. Aynı çalışmada fide dokularında önemli oranda bakır birikimine, yaprak sayısının ve yaprak alanının azaldığına dikkat çekilmiştir.

Rai vd. (2002), *Euryale ferox* tohumlarında, toksik metallerin (Cr, Cd, Pb ve Cu) bioakümülyasyonu üzerine yapmış oldukları çalışmada tohumlardaki toksik metal içeriklerinin metallerin ortamdaki yoğunluklarıyla pozitif bir ilişki içerisinde olduğunu belirlemişlerdir.

Pandey ve Sharma (2002), lahana sebzesinin metabolizmasında ve gelişiminde ağır metallere kobalt, nikel ve kadmiyumun etkilerini inceledikleri bir çalışmada, kontrol bitkisinin gövde ve yaprak kuru ağırlığı 18.61 gr iken bu özelliğin, 500 µM dozunda kobaltta 16.68 gr'a, 500 µM nikelde 16.40 gr'a ve 500 µM kadmiyumda 13.33 grama kadar gerilediği belirlenmiştir. Metabolizma ile ilgili özelliklerin de olumsuz etkilendiği saptanmıştır.

Mal vd. (2002), bir submers makrofit olan *Eloдея canadensis* üzerine bakır etkileri araştırılmıştır. Tüm derişimlerde (1 ppm-10 ppm) bakır büyümeyi durdurmuş ya da azaltmıştır. Final makrofit biyoması kontrole göre istatistiksel olarak önemli derece azalmıştır. Düşük bakır derişimlerdeki sürgün uzunluğu istatistiksel olarak önemsiz derecede azalmışken, yüksek bakır derişimlerinde sürgün uzunluğu önemli derece azalmıştır.

Vinit-Dunand vd. (2002), bakırın *Cucumis sativus* L.'de genç yaprakların alanında bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Bakır ayrıca nişasta ve sikroz içeriğini de azaltmıştır. Olgun yapraklardaki fotosentezin azaldığını ve bu azalmanın yaprak alanının küçülmesinden dolayı olabileceğini kaydetmişlerdir.

Hameed vd. (2001), bakır ve kurşunun farklı dozlarının, domates ve ıspanak tohumlarının çimlenmesine etkisini inceledikleri bir çalışmada; bakırın domates tohumlarındaki çimlenme oranını kontroldeki % 100'den, 10 ve 50 ppm için % 5, 100 ppm için % 10 ve 150 ppm için % 40 kadar azalttığını belirlemişlerdir. Bakırın ıspanak tohumlarının çimlenme oranlarına etkisi ise kontrolde % 100, 10 ppm'de % 75'e, 50 ppm'de % 85'e ve 100 ppm'de % 80'ne geriletmişti. Kurşun domates tohumlarının çimlenme oranlarını ise kontrolden artan dozlara doğru gidildikçe sırasıyla, % 60'a, % 45'e, % 25'e ve % 10'na kadar azaltmıştır. Kurşunun ıspanak tohumlarının çimlenme oranlarına olumsuz etkisi de artan dozlara göre sırasıyla, % 75, % 50, % 45 ve % 40 şeklinde kaydedilmiştir.

Peralta vd. (2000), ağır metallere kadmiyum, krom, bakır, nikel ve çinkonun yonca tohumlarının çimlenmesi ve fidelerinin gelişmelerine etkileri incelenen bir çalışmada, yonca tohumları (Malone) ile çalışılmıştır. Denemede yonca tohumları, içerisinde farklı mikro ve makro elementler ile agar bulunan katı bir besin ortamına

eklenen kromun, bakır, nikel ve çinko ile muamele edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm metallerin kontrol ve 5 mg/l dozlarında çimlenme oranı % 100 iken; bu oran ağır metallerin 10 mg l-1 dozunda Cd için % 70, Cr için % 85, Ni için % 90'a gerilemiş, Cu ve Zn'da % 100 olarak korunmuştur. Ağır metallerin 20 mg l⁻¹ yükseltilmesi durumunda çimlenme oranını Cd için % 70, Cr, Cu ve Ni için % 80 ve Zn için % 96 olarak kaydedilmiştir. Dozun 40 mg/ l'ye çıkartılmasıyla çimlenme oranının Cd için % 55, Cr için % 45, Cu için % 60, Ni için % 75, Zn için ise % 96 şeklinde olduğu ortaya konulmuştur

Naqvi ve Rizvi (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, bir sucül makrofit olan *Alternanthera philoxeroides*'de bakır ve kromun biyolojik olarak birikimlerini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre her iki metalinde sürgünlere nazaran köklerde daha fazla biriktiği bulunmuştur. Makrofitteki metal miktarları ölçüldüğünde bakırın kromdan daha fazla biriktiği bulunmuştur. Bunun nedenin Cr'ye göre Cu'nun sudaki çözünürlüğünün daha fazla olmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür.

Rout vd. (2000), çim bitkisinin nikel ve krom metallerine karşı etkisi üzerinde toleransını belirlemek için bir çalışma yapmıştır. Araştırmacılar Cr ve Ni metallerinin iki dozunu (1.25 ve 2.5 mg/l) ve bu iki metalin karışımını (1.25 mg/l Cr x 1.25 mg/l Ni) kullanmışlar, sonuç olarak nikel ve krom içeren ortamlarda metal içermeyen ortamlara oranla tohum çimlenmesi ve bitki büyümesi özellikleri ile metal tolerans indeksi özelliğinin daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Chatterjee ve Chatterjee (2000), yüksek derişimlerdeki Cu *Brassica oleracea* L.var. *botrytis* cv. Maghi'de büyümeyi sınırlandırmış ve genç bitkilerin yapraklarının tepe noktalarında klorozis oluşturmuştur. Bu etkilerin zamanla yaprağın alt kısımlarına doğru ilerlediği görülmüştür. Bu septomların tipik demir eksikliği özelliğini taşıdığı bildirilmiştir.

Teisseire ve Guy (2000), bakırın *Lemna minor* da bazı antioksidant enzim aktivitelerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmalarında yüksek bakır derişimleri makrofitin frontlarındaki glutatyon S-transferaz ve glutatyon redüktaz enzimlerinin aktivitelerini inhibe ederken, düşük bakır derişimleri guajakul peroksidaz, katalaz ve

pyrogallol peroksidaz enzimlerini güçlü bir biçimde sitimüle etmiştir. Yüksek bakır derişimleri askorbat peroksidaz aktivitesini %40 inhibe ettiği bulunmuştur.

Rama Devi ve Prasad (1998), bakır dirençliliğinin mekanizmalarını araştırmak amacıyla köksüz submers makrofit olan *Ceratophyllum demersum*'daki Cu'nun oluşturduğu oksidatif stresi araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre 2 ve 4 µM Cu etkisinde 24 saat bırakılan makrofitlerde bakır alınımı klorofil içeriği azaltmıştır. Bakıra bağlı oluşan oksidatif stres sonucu lipit peroksidasyonu artmış ve membranlardan iyon sızıntıları meydana gelmiştir. Bakır ayrıca glutatyon ve diğer protein olmayan antioksidantların miktarını da değiştirmiştir. *C. Demersum*'daki bakır birikiminin oksidatif stresi tetiklediği ve dayanıklılık mekanizmalarının makrofitin antioksidasyon kapasitesine bağlı olduğunu göstermişlerdir.

Ewais (1997), *Cyperus difformis*, *Chenopodium ambrosioides* ve *Digitaria sanguinalis* gibi yabancı ot çeşitleri üzerine yaptığı bir çalışmada, kurşun, nikel ve kadmiyumun bitki gelişimi ile bitkilerde klorofil ve protein içeriklerine etkilerini incelemiştir. Araştırmada, kontrolden artan ağır metal dozlarına doğru gidildikçe kadmiyum, nikel ve kurşunun denemeye konu olan tüm türlerin bitki gelişimlerinde önemli düzeylerde azalmalar meydana getirdiği rapor edilmiş; ayrıca ağır metallerin klorofil ve pigment içeriğini de olumsuz etkilediği ortaya konmuştur.

Shah ve Dubey (1997), yaptıkları çalışmada toksik metallerden Cd'nin iki farklı pirinç (*Oryza sativa* L.) fidelerinde prolin birikimi ve ribonükleaz aktivitesine etkilerinin araştırmışlardır. Araştırmacılar 100 ve 500 µM Cd etkisinden fidelerden metal stresinden dolayı kontrol bitkilere kıyasla yüksek miktarda prolin biriktirdiklerini rapor etmişlerdir.

Mrozek (1980), farklı tuz düzeylerinde civa ve kadmiyum içeren çözeltilerde *Spartina alterniflora* tohumlarının çimlenmeleri test edilmiştir. Çalışmada, tohumlarda meydana gelen zararlanmalar ile metal konsantrasyonlarındaki artış arasında ilişkililer saptanmıştır. Çimlenme, çimlenmenin başlangıcından sonra bitkilerin yaşama süresi ve toplam performansı Hg ve Cd'un etkisiyle azalmıştır.

Brown ve Rattigan (1979), sulardaki zararlı alglerin ve yüksek yapılı su bitkilerinin kontrolü için çeşitli tipteki bakır tuzları kullanılmıştır. Sucul makrofitlerden *Elodea canadensis* üzerine bakır ve diğer metal iyonlarının etkileri araştırılmıştır. 24 saatlik bir uygulama sonucunda bitki sekmentlerinde ışık indüklü oksijen üretimi inhibe edilmiş, 28 günlük uygulama ise makrofitte fitotoksisiteye neden olmuştur. Bu araştırma bulgularına göre bakır sülfatın bir herbisit gibi kullanılabilceği sonucunu çıkartılmıştır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Bitki Materyali

Araştırmada kullanılan biberiye fideleri Hatay İli Dörtyol ilçesinden getirilmiştir. Kullanılan fideler üç hafta boyunca araştırma ortamına aklimatize edilmiştir. Kendi topraklarının bulunduğu kaplardaki fideler iklim dolabında (Snijders Scientific, Hollanda) 27 ± 1 °C’de, 16 saat aydınlık ($\sim 120 \mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$), 8 saat karanlık ortamda yetiştirilmiştir. Fideler ihtiyaçları durumunda sulanmıştır.

3.2. Bakır Çözeltisi

Araştırmada bakırın sülfat tuzu $[\text{Cu}(\text{SO}_4)_2]$ kullanılmıştır. Bu amaçla bakırın 0, 5, 50, 100 ve 500 ppm’lik derişimleri hazırlanmıştır. Çözeltilerin hazırlanmasında distile su kullanılmıştır.

3.3. Bakır Uygulaması

Araştırma ortamına aklimatize edilen biberiye bitkileri 20 gün boyunca bakırın 0, 5, 50, 100 ve 500 ppm’lik derişimlerin etkisinde dört tekrarlı olmak üzere yetiştirilmiştir.

3.4. Tartımlar

Bakır etkisinde yetiştirilen fideler hasat edildikten sonra yaprak ve gövdeler tartılarak taze ağırlıkları belirlenmiştir. Yaprak ve gövdelerin kuru ağırlıklarını belirlemek için ise örnekler 80 °C’de sabit tartıma kadar kurutulmuş ve kuru ağırlıkları hassas terazi kullanılarak belirlenmiştir.

3.5. Bakır ve Mineral Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Mineral madde derişimlerini belirlemek için yaş yakma metodu kullanılmıştır. Kurutularak öğütölmüş örnekler tartılıp 50 mL'lik erlene konmuştur. Üzerine 10 mL konsantre HNO₃ ilave edilmiştir. Erlenlerin ağzı balonla kapatılıp oda sıcaklığında birkaç gün bekletilmiştir. Erlenler daha sonra ısısı 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 element derişimleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi (Perkin Emler AA400) kullanılarak belirlenmiştir.

3.6. Fotosentetik Pigment Analizi

Yıkanmış taze biberiye yapraklarından 100 mg tartılmış ve 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.

3.7. Protein Analizi

Biberiye yapraklarının protein analizi Lowry vd. (1951)'ne göre yapılmıştır. 0,5 gram taze materyal 5 ml 0.1 M fosfor tamponunda (pH 7,4) homojenize edildikten sonra 12000 rpm'de 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 tanık için de uygulanmıştır. Standart olarak bovin serum albumin (BSA) kullanılmıştır.

3.8. Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi

Biberiye yapraklarının fenolik bileşik miktarları Ratkevicius vd. (2003)'ne göre belirlenmiştir. 0,5 gram taze yaprak tartılmış ve 5 ml 0,1 M fosfor tamponunda (pH 7) homojenize edilmiştir. Homojenizat 12000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Sonra süpernatanttan 50 µL alınarak son hacim 1 ml olacak şekilde % 3'lük sodyum karbonat ve 0,3 N Folin-Ciocalteu eklenerek oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra bu örnekler 765 nm'de okunmuştur. Standart olarak Gallik asit kullanılmıştır.

3.9. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarının Belirlenmesi

Biberiye yapraklarının hidrojen peroksit miktarları Sagisaka (1976)'ya göre yapılmıştır. Tartılan taze bitki yaprağı 5 ml 50 mM fosfat tamponunda (pH 7,8) homojenize edilmiştir. Homojenizat 10000 rpm'de santrifüje edilmiştir. Santrifüj edilen örnekten 1,6 ml alınmış üzerine 0,4 ml %50'lik trikloroasetik asit, 0,4 ml 10 mM ferro amonyum sülfat ve 0,2 ml 125 mM potasyum tiyosiyanat eklenmiş ve vortekslenmiştir. Bu örnekler 480 nm'de okunmuştur. Standart olarak H₂O₂ kullanılmıştır.

3.10. İstatistiksel Analiz

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

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. Morfolojik Gözlemler

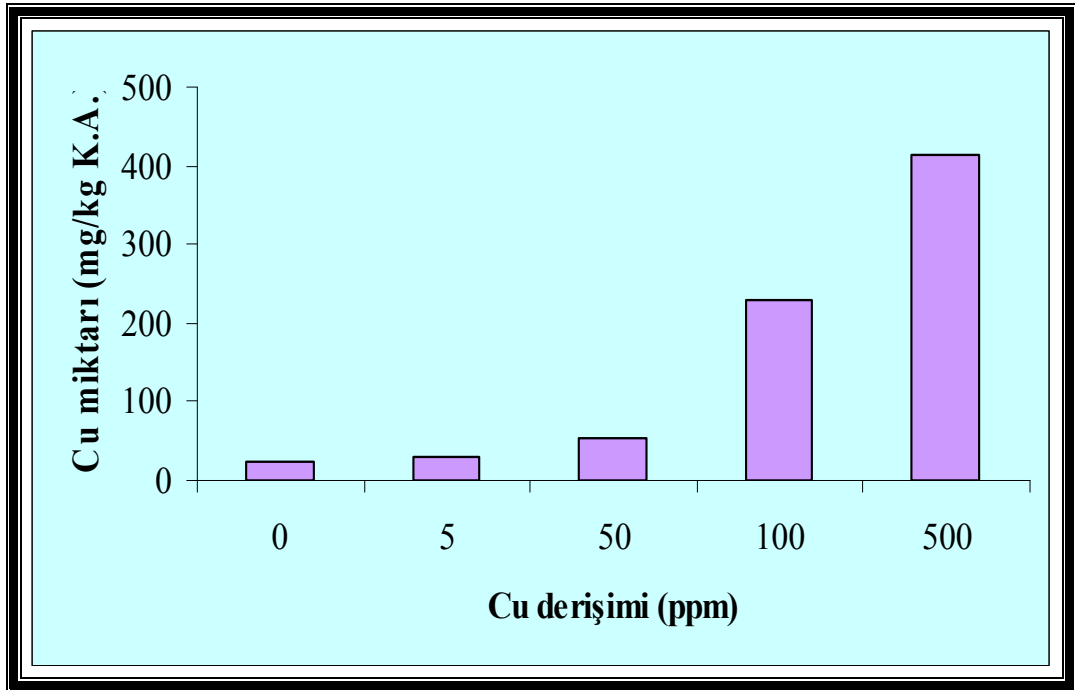
Deney ortamına üç hafta boyunca alıştıırılan biberiye bitkileri bakırın farklı derişimlerinin (5, 50, 100 ve 500 ppm) etkisinde 20 gün boyunca yetiştirildikten sonraki genel görünümüleri Şekil 4.1’de görölmektedir. Bakır uygulanmamış (kontrol) bitkilerde herhangi bir olumsuz semptom (büyümede azalma, sürgün oluşumu, kloroz vb.) meydana gelmemiştir. Bakırın 5 ppm’lik derişimi uygulanan bitkilerde de ciddi büyüme de gerilik görölmemiştir. Bakırın 50 ppm’lik derişiminde sürgün gelişiminde azalmalar gözlenmiştir; herhangi bir kloroz saptanmamıştır. Bakırın 100 ve özellikle 500 ppm’lik derişimlerinde yapılan kontrollerde dikkate değer sürgün gelişimi engellenmesi gözlenmiştir. Ayrıca yapraklarda kloroz oluşumu gözlenmiştir.



Şekil 4.1. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiyelerin deney sonu görünümü

4.2. Yaprakların Bakır Miktarları

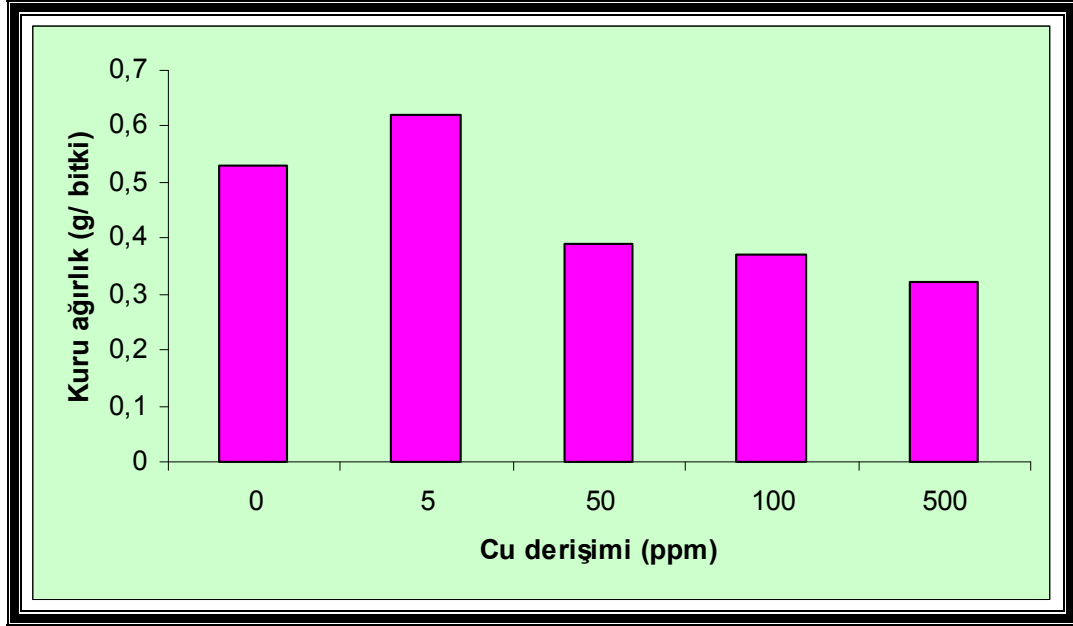
Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye bitkilerinin yapraklarının bakır birikimleri Şekil 4.2’de verilmiştir. Yaprakların bakır iğeriği uygulanan Cu derişimi ile birlikte artmıştır. Buna göre 5, 50, 100 ve 500 ppm’lik derişimlerdeki Cu miktarındaki bu artışlar sırasıyla 1.2 (%23), 2.1 (%113), 9.2 (%820) ve 16.5 (%1553) kat artış göstermiştir.



Şekil 4.2. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Cu miktarları.

4.3. Yaprakların Kuru Ağırlıkları

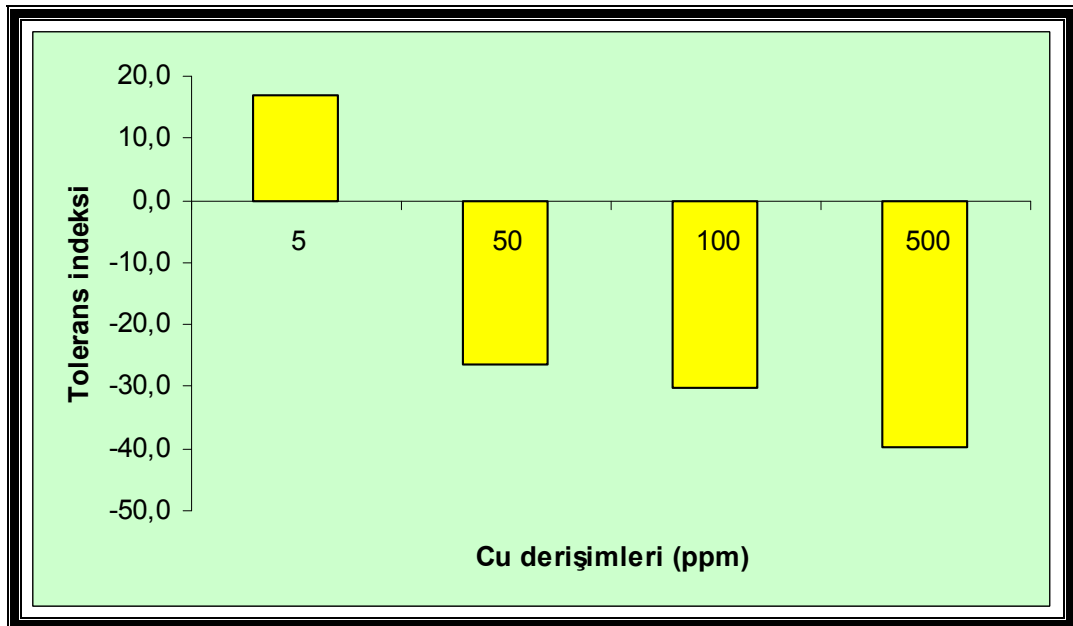
Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde 20 gün boyunca yetiştirilen biberiye bitkilerinin yapraklarının kuru ağırlıkları Şekil 4.3’de verilmiştir. Biberiye yapraklarının kuru ağırlığı 5 ppm’de kontrole göre artış göstermiştir. Bakırın 50, 100 ve 500 ppm’lik derişiminde ise kuru ağırlık miktarları uygulanan Cu derişimindeki artışla birlikte azalmıştır.



Şekil 4.3. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının kuru ağırlıkları

4.4. Biberiye Fidanlarının Bakıra Toleransları

Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye bitkilerinin yapraklarının tolerans indeksleri Şekil 4.4'de verilmiştir. Bakırın 5 ppm'lik derişiminde tolerans indeksinin pozitif olması (17), biberiyenin bu derişimde olumlu gelişim gösterdiğinin bir sebebi olabilir. Bakırın 50, 100 ve 500 ppm'lik derişiminde ise yaprakların tolerans indeksleri sırasıyla -26.4, -30.2 ve -39.6 olarak hesaplanmıştır.

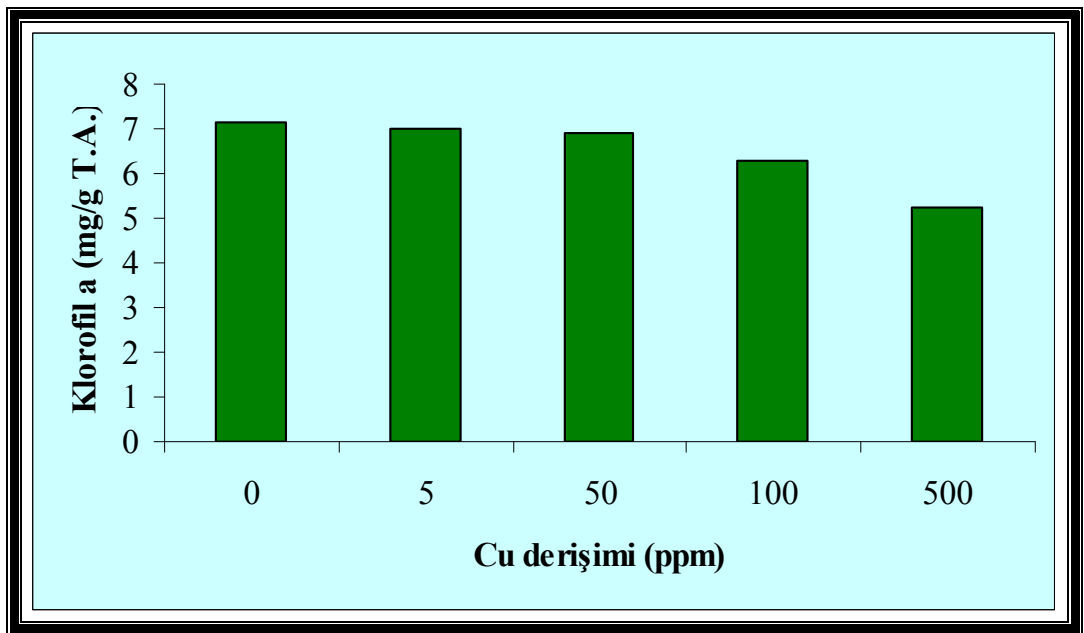


Şekil 4.4. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının tolerans indeksleri

4.5. Yaprakların Pigment Miktarları

4.5.1. Klorofil-a Miktarları

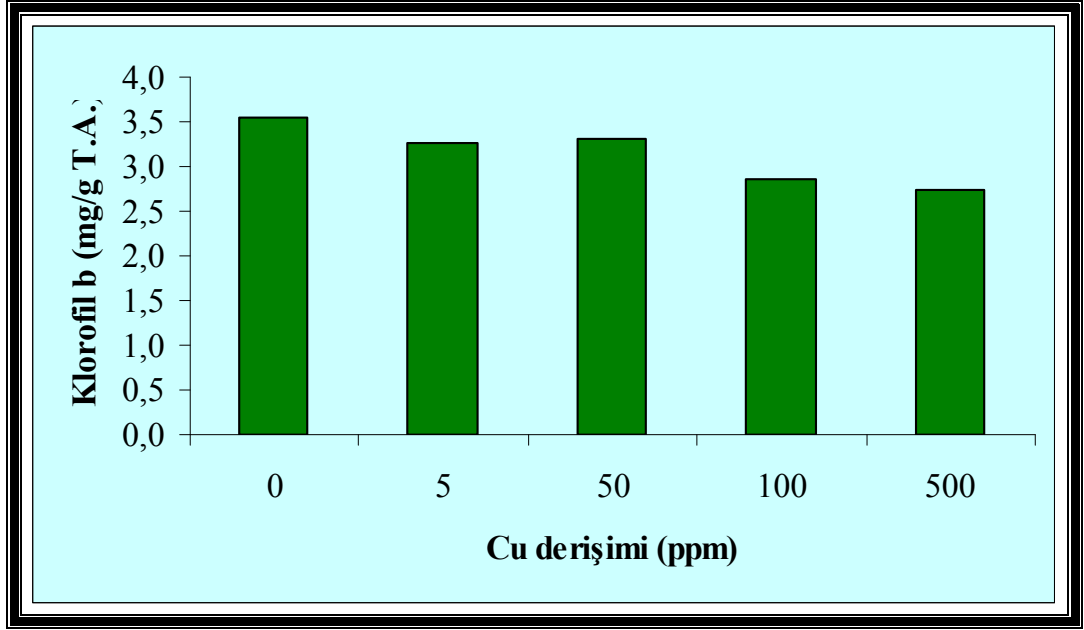
Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde 20 gün boyunca yetiştirilen biberiye yapraklarının klorofil-a miktarları Şekil 4.5’de verilmiştir. Uygulanan Cu derişimleri klorofil-a miktarlarında azalmaya neden olmuştur. Bu azalmalar bakırın 5, 50, 100 ve 500 ppm’lik derişiminde kontrole göre sırasıyla %2.8 ($p>0.05$), %4.2 ($p>0.05$), %12.5 ($p>0.05$) ve %26.4 ($p<0.05$) düzeyinde olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 4.5. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının klorofil-a miktarları.

4.5.2. Klorofil-b Miktarları

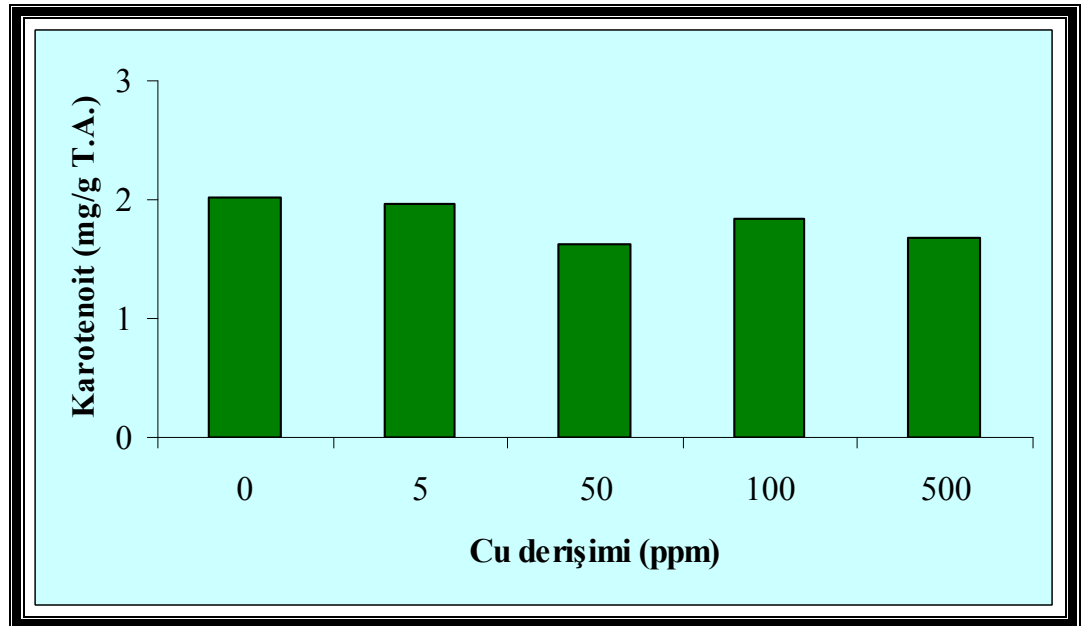
Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının klorofil-b miktarları Şekil 4.6’de verilmiştir. Klorofil-a miktarlarında olduğu gibi, uygulanan Cu derişimleri klorofil-b miktarlarında da azalmaya neden olmuştur. Bu azalmalar bakırın 5, 50, 100 ve 500 ppm’lik derişiminde kontrole göre sırasıyla %7.9 ($p>0.05$), %6.8 ($p>0.05$), %19.4 ve %22.8 ($p<0.05$) düzeyinde olduğu hesaplanmıştır.



Şekil 4.6. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının klorofil-b miktarları.

4.5.3. Karotenoid Miktarları

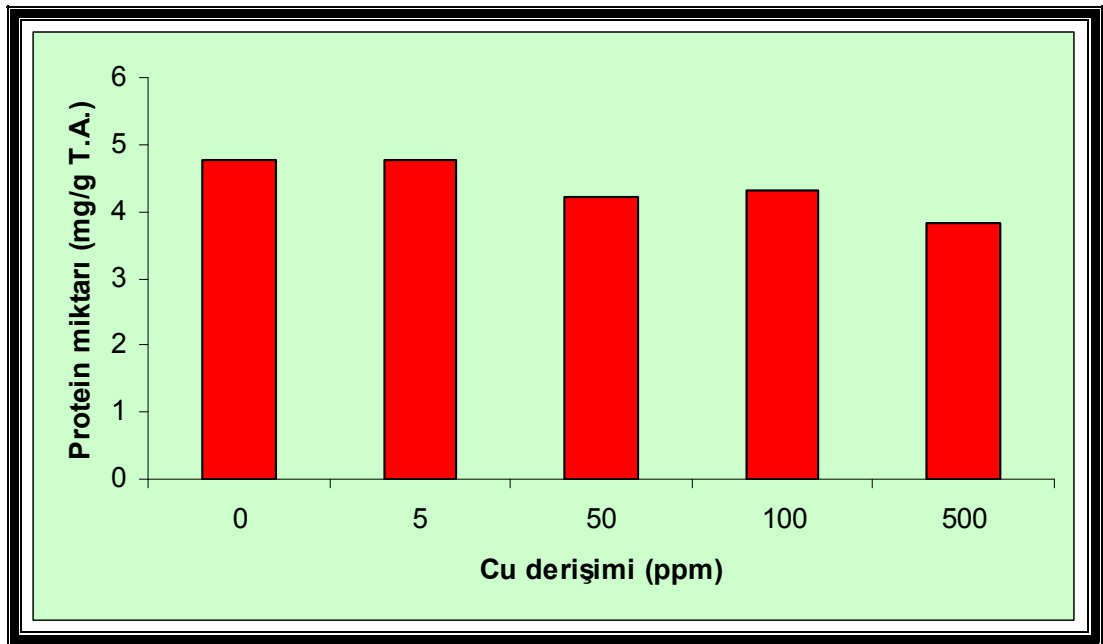
Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının karotenoid miktarları Şekil 4.7’de verilmiştir. Klorofil-a ve b’de bulunduğu gibi, karotenoid miktarlarında da azalmalar belirlenmiştir. Bu azalmalar da 5, 50, 100 ve 500 ppm’lik derişimlerde sırasıyla %3.0, %19.8, %8.9 ve %17.3 olmuştur.



Şekil 4.7. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının karotenoid miktarları.

4.6. Yaprakların Protein Miktarları

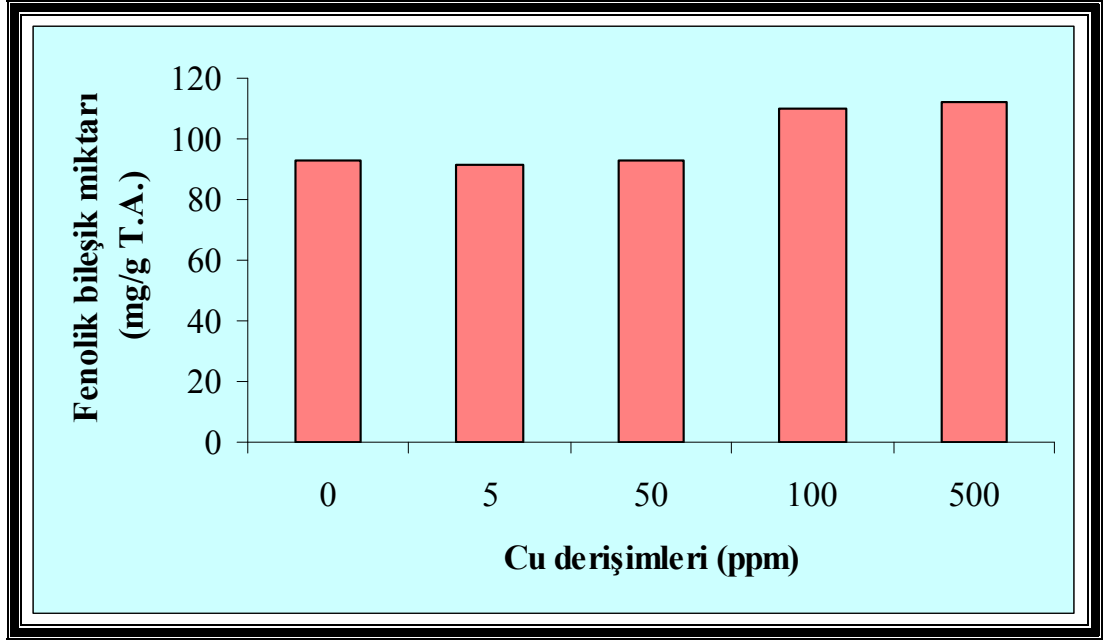
Bakırın derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının toplam protein miktarları Şekil 4.8’de verilmiştir. Bakırın 5 ppm’lik derişiminde biberiye yapraklarının protein içeriğinde kontrole göre bir değişim olmamıştır ($p>0.05$). Bakırın 50, 100 ve 500 ppm’lik derişimlerinde ise azalmalar belirlenmiştir. Bu azalmalar kontrole göre sırasıyla; %11.5 ($p<0.05$), %9.7($p<0.05$) ve %19.5 ($p<0.05$) düzeyinde olmuştur.



Şekil 4.8. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının protein miktarları.

4.7. Yaprakların Fenolik Bileşik Miktarları

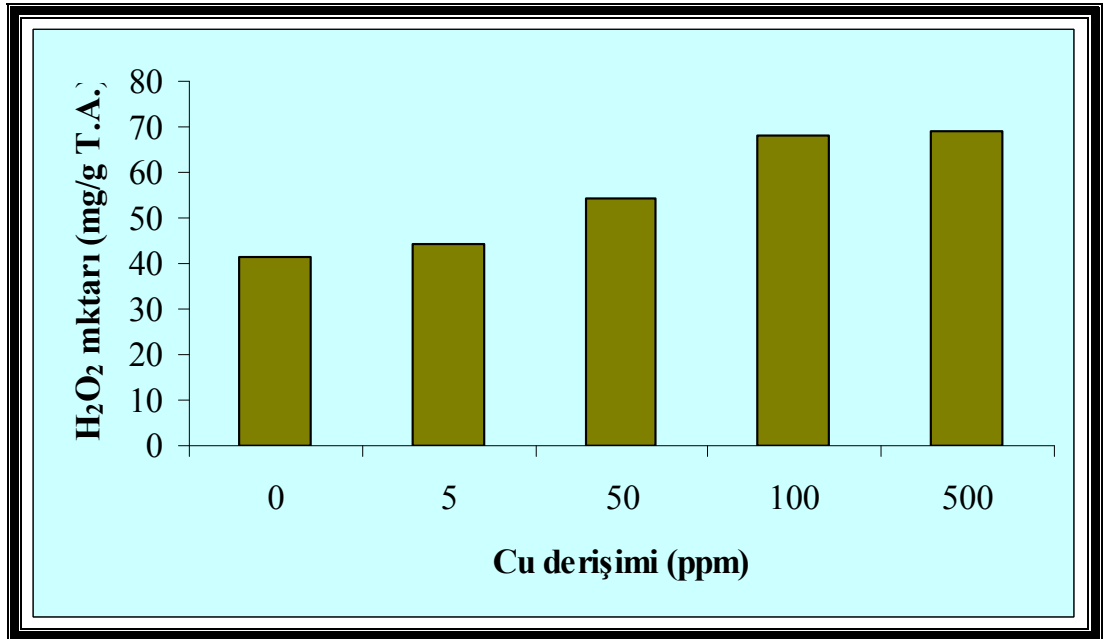
Bakırın 5 ve 50 ppm’lik derişimlerinde fenolik bileşik miktarlarında bir değişim olmamıştır (Şekil 4.9). Ancak 100 ve 500 ppm Cu derişimlerinde ise toplam fenolik bileşik miktarlarında artışlar belirlenmiştir. Bu artışlar 100 ve 500 ppm’lik derişimlerde kontrole göre sırasıyla; %18.5 ($p<0.05$) ve %20.8 ($p<0.05$) düzeyinde olmuştur.



Şekil 4.9. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının fenolik bileşik miktarları

4.8. Yaprakların Hidrojen Peroksit Miktarları

Bakırın etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarındaki hidrojen peroksit miktarlarında artan Cu derişimi ile birlikte artışlar belirlenmiştir (Şekil 4.10). Bu artışlar bakırın 5, 50 100 ve 500 ppm'lik derişimlerinde kontrole göre sırasıyla; %6.0 ($p>0.05$), %30.3 ($p<0.05$), %63.2 ($p<0.05$) ve %66.0 ($p<0.05$) düzeyinde olmuştur.

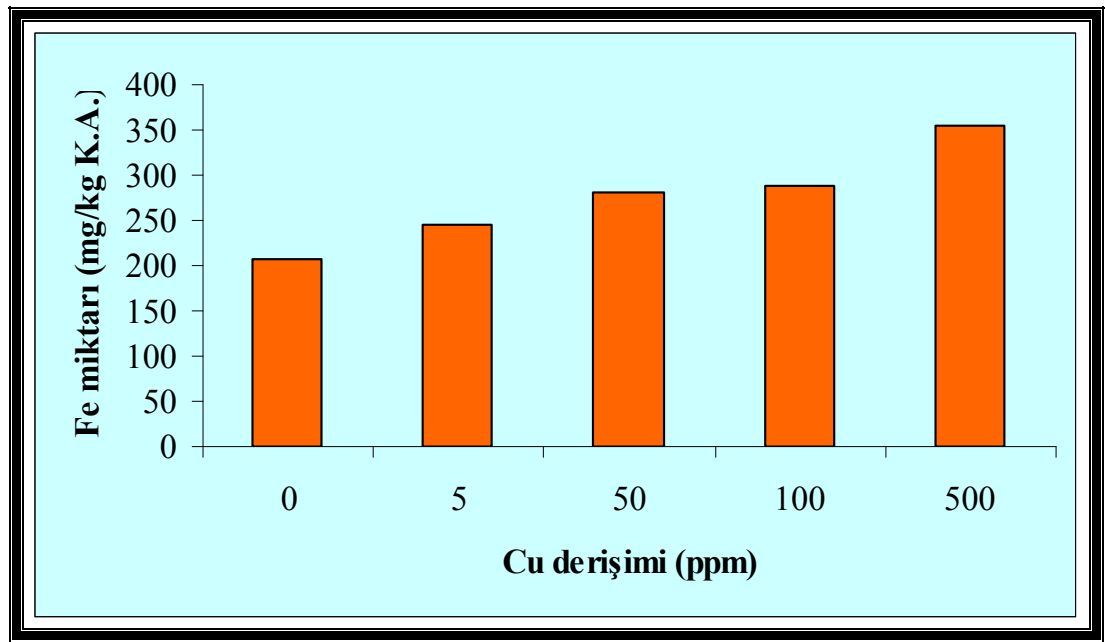


Şekil 4.10. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının hidrojen peroksit miktarları

4.9. Yaprakların Besin Elementi Miktarları

4.9.1. Demir Miktarları

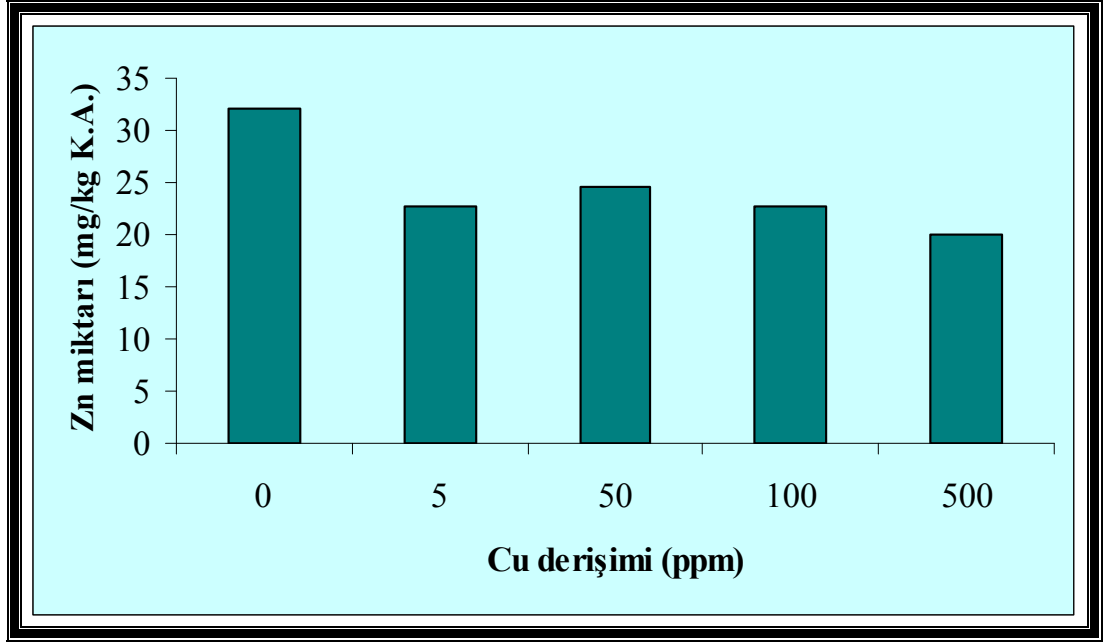
Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Fe miktarları Şekil 4.11’de verilmiştir. Yaprakların Fe içeriği uygulanan Cu derişimlerindeki artışla birlikte artmıştır. Bu artışlar 5, 50, 100 ve 500 ppm’lik derişimlerde sırasıyla; %19.4, %36.2, %39.8 ve %71.8 ($p<0.05$) olmuştur.



Şekil 4.11. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Fe miktarları

4.9.2. Çinko Miktarları

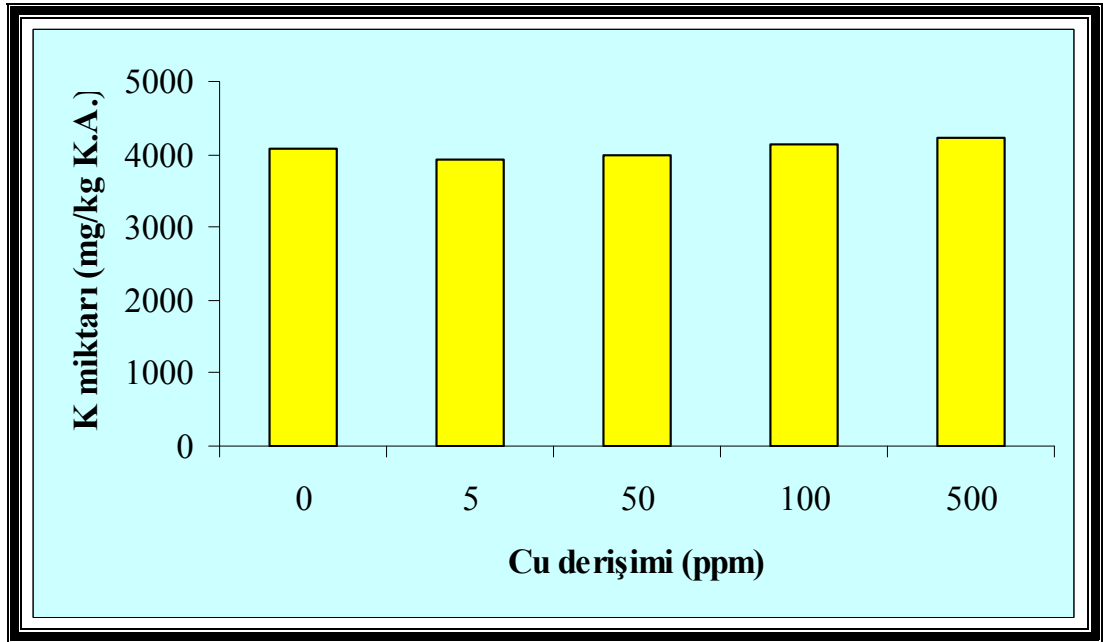
Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Zn miktarları Şekil 4.12’de verilmiştir. Demir içeriklerinin aksine, yaprakların Zn içeriği uygulanan Cu derişimleri tarafından azaltılmıştır. Bu azalmalar 5, 50, 100 ve 500 ppm’lik Cu derişimlerinde kontrole göre sırasıyla; %29.1, %22.9, %29.2 ve %37.5 ($p<0.05$) olmuştur.



Şekil 4.12. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Fe miktarları

4.9.3. Potasyum Miktarları

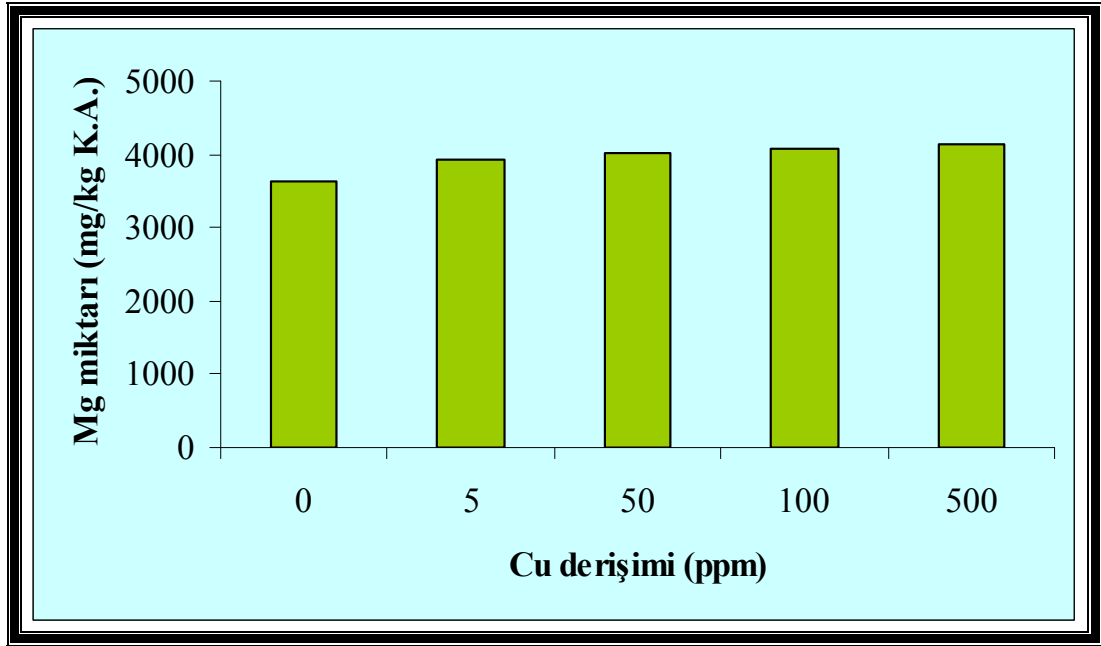
Bakır etkisinde biberiye yapraklarının K içeriğinde ciddi bir değişim olmamıştır (Şekil 4.13). Bakırın 5 ve 50 ppm’lik derişimlerinde kontrole göre sırasıyla; %3.8 ve %2.0 ($p>0.05$) azalmışken, 100 ve 500 ppm’lik derişimde ise %1.6 ve %3.7 ($p>0.05$) düzeyinde artış kaydedilmiştir.



Şekil 4.13. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının K miktarları

4.9.4. Magnezyum Miktarları

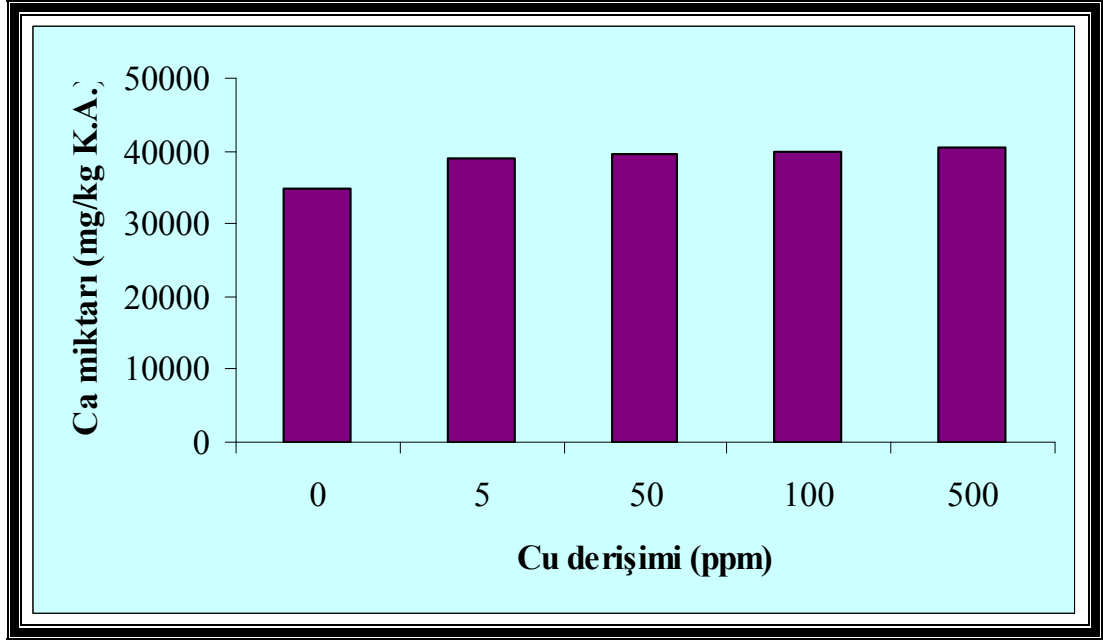
Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Mg miktarları Şekil 4.14'de verilmiştir. Yaprakların Mg içerikleri uygulanan Cu derişimlerindeki artışla birlikte artış göstermiştir. Bu artışlar 5, 50, 100 ve 500 ppm'lik derişimlerde sırasıyla; %7.9, %10.6, %12.0 ve %13.4 olmuştur.



Şekil 4.14. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Mg miktarları

4.9.5. Kalsiyum Miktarları

Yaprakların Ca içeriği de uygulanan Cu derişimlerindeki artışla birlikte artmıştır (Şekil 4.15). Bu artışlar 5, 50, 100 ve 500 ppm'lik derişimlerde sırasıyla; %11.9, %13.9, %14.7 ve %16.2 olmuştur.



Şekil 4.15. Farklı Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının Ca miktarları

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Mikro besin elementi olan Cu'nun bitki içindeki görevi hakkında oldukça fazla çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda Cu'nun bitki fizyolojisindeki rolü ayrıntılı olarak incelenmeye çalışılmıştır. Bakıra, hem işlevi daha tam olarak çözülememiş bileşiklerde hem de hayati önem taşıyan enzimlerin yapısında rastlanmıştır. Bakır, fotosentez, solunum, karbonhidrat parçalanması, azot kullanımı ve depolanması, hücre duvarı metabolizması gibi fizyolojik olaylarda önemli rol oynar. Ksilem damarlarının geçirimsizliğini düzenler. DNA ve RNA'nın üretimini kontrol eder. Eksikliği durumunda bitki üremesi engellenir. Bakırın, hastalıklara karşı, direnç mekanizmasında da rolü olduğu belirtilmiştir (Okçu vd., 2009).

Bitkiler için gerekli olan Cu'nun, eksikliğinde olduğu gibi fazlalığında da bitki zarar görebilir. Tam olarak kanıtlanmamasına rağmen, eksikliğinden kaynaklanan olaylarda, aslında bakırın dolaylı rolü vardır. Bazı fizyolojik olaylarda dolaylı etkisinin olması, bitkilerin ihtiyaç duyduğu ve bulunmasından fayda görecekları bakır miktarının belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Bitki türlerinin farklı miktarlarda ihtiyaç göstermelerine karşın, bakır, oldukça zehirli bir metaldir. Bakır toksisitesinin bazı etkilerini doku hasarı, köklerde bozulma ve bitki renginde koyulaşma olarak sayabiliriz. Diğer etkiler ise, membran geçirimsizliğinde bozulma sonucunda kök hücrelerinde iyon kaybı, DNA'nın hasar görmesi sonucu fotosentez işleminin bozulmasıdır (Çingı, 2007).

Bakır, çeşitli alanlarda kullanılan bir materyal olduğu için bu elementin oluşturduğu kirliliğin pek çok kaynağı mevcuttur. Bu elementin proseslerde veya paketlemelerde kullanılması ürünleri kirlitebilir ve çevreye zarar verebilir (Nuhoğlu vd., 2002). Bakırın düşük derişimleri dahi tarımsal ürünlere, sudaki organizmalara ve insan hayatı için toksik etki oluşturmaktadır. Bakır gerekli ağır metaller proteinlerin ve enzimlerin katalitik ve yapısal bileşenleri olarak, normal bitki büyüme ve gelişmesi için kofaktör olarak gerekli olduğu bilinmektedir (Vural, 1993).

Bu çalışmada; biberiye yaprakların bakır içeriği uygulanan Cu derişimi ile birlikte artmıştır. Kontrole göre 5, 50, 100 ve 500 ppm'lik derişimlerdeki Cu miktarındaki bu artışlar sırasıyla; 1.2 %23, %113, %820 ve %1553 düzeyinde olmuştur. Bu sonuçlara göre biberiye bitkisinin yüksek derişimde Cu biriktirebildiği söylenebilir. Bir de genelde bitkilerde metal birikiminin kök>gövde>yapraklarda şeklinde yoğunlaştığı bilindiğinden, bu bitkinin ciddi bir Cu akümülatörü olduğu söylenebilir.

Ağır metallerin bitkilerde besin elementi alınımı ve taşınmasına etkisinin olduğu bilinmektedir. Kurşun etkisinde yetiştirilen *Amaranthus* cinsine ait türlerde Fe içeriğinin arttığı bildirmişlerdir (Kibria vd., 2009). Bunun aksine, Pb etkisinde yetiştirilen kanola bitkilerinde ise Fe içeriğinin azaldığı bildirilmiştir (Azhar vd., 2011). Çalışmamızda biberiye yapraklarının Fe içeriğinde uygulanan Cu ile birlikte artışlar saptanmıştır. Demir içeriklerinin aksine, yaprakların Zn içerikleri uygulanan Cu derişimleri tarafından azaltılmıştır. Benzer olarak, yapılan bir çalışmada yonca bitkilerinin Zn içeriği de uygulanan kurşun ile birlikte azalmıştır (Lopez vd., 2007).

Bitkilerin K içeriği ağır metal uygulamalarında farklılıklar gösterdiği yapılan çalışmalarla ortaya çıkartılmıştır. Azhar vd. (2011), çalışmalarda ağır metal uygulamasının kök ve sürgünlerde K derişimi azalttığını rapor etmiştir. Kibria vd. (2009) ise *Amaranthus oleracea*'de kurşun uygulamasının K içeriğini önemli düzeyde artırdığını belirlemişlerdir. Tarafımızdan yapılan çalışmada, biberiye yapraklarının K içeriği, Cu uygulamalarından farklı şekilde etkilenmiştir. Bakırın 5 ve 50 ppm'lik derişimlerinde kontrole göre azalırken, 100 ve 500 ppm'lik derişimde ise artış göstermiştir.

Yaprakların Mg ve Ca içeriği de uygulanan Cu derişimlerindeki artışla birlikte artmıştır. Huang ve Cuningham (1996), ağır metal uygulamasının mısır bitkilerinde Mg içeriğini azattığını belirlemiş, Chatterjee vd. (2004) ise pirinç bitkilerinde önemli bir etkisinin olmadığını kaydetmişlerdir. Ayrıca ağır metallerin Ca alınımı üzerine etkilediği de bir çok araştırmacı tarafından belirlenmiştir (Garland ve Wilkins 1981; Kim vd., 2002). Elde edilen verilere göre, Cu toksisitesinin biberiyede besin elementi düzensizliklerine yol açtığı söylenebilir. Besin elementinin miktarlarındaki düzensizliklerin nedenlerinden biri, elementler arasındaki alınım ve taşınım ile ilgili rekabet olabilir. Daha detaylı yapılacak çalışmalarla bunun olası nedenleri ortaya çıkartılabilir.

Toksik metallerin varlığında ve bitki metabolizması için gerekli olan ağır metallerin özellikle fazlalığında büyüme ve gelişmenin olumsuz etkilendiği bilinmektedir. Özellikle yüksek Cu derişimlerinin bitkilerde birçok fizyolojik soruna neden olduğu, böylece bitkide morfolojik değişime neden olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada biberiye yapraklarının kuru ağırlıklarında özellikle yüksek Cu derişimlerinin etkisinde azalmalar belirlenmiştir. Sürgün gelişimin de yüksek Cu derişiminde azalması, bu metalin aşırı Cu toksisitesinden olumsuz yönde etkilendiğini gösterebilir. Bununla beraber, yüksek Cu derişimlerinde kloroz gibi semptomların olması da bu düşüncemizi desteklemektedir. Ayrıca, bakıra tolerans indekslerinin de 50, 100 ve 500 ppm'lik derişimlerde negatif bulunmuştur. Biberiye bitkilerinde oluşan bu semptomların, bazı besin elementlerinin alınımı ve taşınımının Cu tarafından etkilenmesinden ve/veya bitkideki fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda meydana gelen değişikler nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Ancak, daha detaylı yapılacak çalışmalarla Cu'nun bu bitkide neden olduğu toksisite semptomlarının nedenleri ortaya çıkarılabilir.

Klorofiller ağır metal toksisitesine hassastırlar. Ağır metallerin klorofil sentezini inhibe ettiği ve sonuç olarak klorofil miktarlarında azalmalara neden olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Miranda ve Ilangovan, 1996; Mohan ve Hosetti, 1997; Doğan ve Demirors Saygıdeğer, 2009). *Ceratophyllum*, *Hydrilla* ve *Wolffia*'da klorofil-a ve klorofil-b miktarlarının artan kadmiyum derişimleriyle birlikte azaldığı kaydedilmiştir. *Ceratophyllum* ile yapılan başka bir araştırmada 0.5 ve 1 mM Cd etkisinde klorofil-a miktarlarındaki azalmalar kontrole göre sırasıyla % 2.7 'lik derişimlerde sırasıyla %30.1 ve %39.3 düzeyinde azalmıştır (Dhir vd., 2004). Çalışmamızda bakır etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının fotosentetik pigment miktarlarında da artan Cd derişimi ile birlikte azalmaların olduğu saptanmıştır. Ağır metal toksisitesinde klorofil miktarlarındaki bu azalmaların nedeni (a) δ -aminolevulinik asit dehidrataz (Padmaja vd., 1990) ve klorofil biyosentezi ile ilişkili olan protoklorofillid redüktaz gibi enzimlerin inhibisyonu (Van Assche ve Clijsters, 1990), (b) Zn yetersizliği sonucunda karbonik anhidraz enziminin inhibisyonu (Van Assche ve Clijsters, 1990) ve (c) klorofil molekülünün tetrapireol halkasındaki Mg'nin yerine başka ağır metal bağlanması (Küpper vd., 1996) ile klorofil

biyosentezini inhibisyonu ve dolayısıyla da klorofil miktarlarında azalmaya neden olmuş olabilir.

Oksijenli hücre metabolizmasının kaçınılmaz ürünlerinden biri de reaktif oksijen türlerinin üretimidir. Ağır metaller gibi stres faktörlerinin bitkilerde süperoksit radikal, alkoksil radikal, hidrojen peroksit ve hidroksil radikaller gibi ROT'ları katalizledikleri bilinmektedir (Scandalios, 2002). Yapılan çalışmada Cu derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye yapraklarının hidrojen peroksit miktarlarında artan Cu derişimi ile birlikte artışlar belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, biberiyede özellikle yüksek derişimlerdeki Cu'nun oksidatif strese neden olduğu elde edilen verilere göre söylenebilir. Oksidatif streste oluşan bu reaktif oksijen türleri de membranlar ve fotosentetik pigmentler, proteinler, DNA ve lipidler gibi makromoleküllerde hasarlanmaya neden olurlar (Hernandez vd., 1993; Fadzilla vd., 1997; Gueta-Dahan vd, 1997). Bitkiler bu tür reaktif oksijen türleri tarafından başlatılmış hasarın tamiri ve hafifletilmesi için kompleks antioksidan sistemler geliştirmişlerdir. Bu sistemin esas bileşenlerini süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, peroksidazlar ve glutatyon-askorbat döngüsünün enzimleri olan askorbat peroksidaz, dehidroaskorbat redüktaz, monodehidroaskorbat redüktaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimatik antioksidanlar ile askorbat, glutatyon, α -tokoferol, fenolik bileşikler ve karotenoidler gibi enzimatik olmayan antioksidanları içerdiği bilinmektedir (Foyer vd., 1994; Noctor ve Foyer, 1998; Hodges ve Forney, 2000).

Fenolik bileşikler biyotik ve abiyotik stres faktörlerine cevapta rol oynarlar (Ruiz ve Romero, 2001). Bakırın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen biberiye bitkisinin yapraklarında uygunanan Cu derişimi ile birlikte artışlar belirlenmiştir. Ağır metal etkisinde yetiştirilen birçok bitkide de fenolik bileşik miktarlarında artışlar belirlenmiştir. Örneğin *Pinus nigra*'da (Giertych vd., 1999), tütünde (Edreva ve Apostolova, 1989), mısırdaki (Baccouch vd., 1998) ve *Acer saccharum*'da (Zobel ve Clarke, 1999) *Ceratophyllum demersum*'da (Doğan ve Demirörs Saygıdeğer, 2009) fenolik bileşiklerin miktarlarında artışlar olduğu rapor edilmiştir. Öncel vd. (2000) Cd etkisinde fenoliklerin akümülyasyonunu metalin toksisitesine bağlamıştır. Craft ve Audia (1962) ise, Cd toksisitesinin dokularda meydana gelen hasarlanmadan dolayı olduğunu belirtmişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre fenolik bileşik miktarları

artmıştır. Bunun nedeninin hidrojen peroksit miktarlarındaki artışa da bakarak reaktif oksijen türlerinin tetiklediği oksidatif strese bir cevap olabilir.

Sonuç olarak bu çalışmanın bulguları, özellikle yüksek derişimlerde uygulanan bakırın biberiye bitkilerinde morfolojik ve fizyolojik değişimlere neden olduğunu göstermektedir. Bitkilerin ağır metalleri çevrelerinden kökleri vasıtasıyla alarak akümüle ettikleri bilinmektedir. Beslenme zinciri boyunca da bu metaller insana kadar ulaşabilmektedir. Özellikle beslenme amacıyla tüketilen gıdalar ile tıbbi ve aromatik bitkilerde ağır metallerin yüksek derişimlerde bulunması insan sağlığı açısından bazı olumsuzlukları da beraberinde getirebilir. Yaptığımız çalışmada tıbbi ve aromatik bitkilerden olan biberiyenin yapraklarında yüksek derişimlerde Cu biriktirdiği belirlenmiştir. İnsanların bu bitkiyi birçok amaç için tüketiyor olması nedeniyle, özellikle ağır metallerle kirlenmiş alanlardan toplanan bu ve benzeri bitkilerin insan sağlığı için istenmeyen sonuçlara yol açabileceği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

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

Azhar, N., Ashraf, M., Hussain M., Arshad, M. (2011). Influence of lead on growth and nutrient accumulation in canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *J. Environ. Biol.* 32, 659-666.

Baccouch, S., Chaoui, A., El-Ferjani, E. (1998). Nickel Toxicity: Effects on Growth and Metabolism of Maize. *J. Plant Nutr.* 21, 577-588.

Baker, A.J.M. ve Brooks, R.R. (1989). Terrestrial higher plants which hyper-accumulate metallic elements, A Review of Their Distribution, Ecology and Phytochemistry. *Biorecovery*, 1, 81-126.

Beckett, P.H.T., Davis, R.D. (1977). Upper critical levels of toxic elements in plants. *New Phytol.*, 79: 95-106.

Blumenthoi, S. (1994). Inhibition of Na-f-Glucose Contrasport in Kidney Corticel Cells by Cadmium and Copper:Protection by Zinc. *Tox. And App. Pharm.* 129, 77-187.

Brown, B.T. and Rattigan, B.M. (1979). Toxicity of Soluble Copper and Other Metal Ions to *Elodea canadensis*. *Environmental pollution* 20, 303-314.

Bujtas, C., Cseh, E. (1981). Effect of heavy metals and chelating agents on potassium uptake of cereal roots. *Plant Soil* 63, 97-100.

Burton, K.W., Morgan, E., Roig, A. (1983). The influence of heavy metals upon the growth of sitka spruce in South Wales forests. 2. Greenhouse experiments. *Plant Soil* 78, 271-282.

Burton, K.W., Morgan, E. and Roig, A. (1986). Interactive effects of cadmium, copper and nickel on the growth of sitka spruce and studies of metal uptake from nutrient solutions. *New Phytol* 103: 549-557.

Chatterjee J., Chatterjee. C. (2000). Phytotoxicity of Cobalt, Chromium and Copper in Cauliflower. *Environmental Pollution* 109: 69-74.

Chatterjee, C., Dube, B.K., Sinha, P., Srivastava, P. (2004). Detrimental effects of lead phytotoxicity on growth, yield, and metabolism of rice. *Commun Soil Sci Plant Anal* 35, 255-265.

Craft, C.C., Audia, W.V. (1962). Phenolic Substances Associated with Wound-Barrier Formation in Vegetables. *Bot. Gaz.*, 123, 211-219.

Çingil, F. (2007). Eser elementler. (erişim adresi: www.firochromis.com, erişim tarihi: 12.04.2007).

Demir, R., Düz, Z. (2008). Diyarbakır il sınırları içerisinde yayılış gösteren bazı yonca türlerinde ağır metal düzeylerinin belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi Dergisi* 10, 148-153.

Dhir, B., Sharmila, P., Saradhi, P.P. (2004). Hydrophytes Lack Potential to Exhibit Cadmium Stress Induced Enhancement in Lipid Peroxidation and Accumulation of Proline. *Aquatic Toxicology* 66, 141-147.

Diels, G.E. ve Mergeay, M.N. (1990). DNA-probe mediated detection of resistance bacteria from soil highly by heavy metals. *Appl. Env. Mic.*, 56, 1485-1491.

Dogan, M., Demirors Saygıdeğer S. (2009). Kadmiyumun *Ceratophyllum demersum* L. Üzerindeki bazı fizyolojik etkileri. *Ekoloji*, 71, 57-64.

Dumiu, G. (1975). Kirli Su El Kitabı, Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara

Edreva, A., Apostolova, E. (1989). Manganese Toxicity in Tobacco. A Biochemical Investigation. *Agrochimica*, 33, 441-451.

Ewais, E.A. (1997). Effect of Cadmium, Nickel and Lead on Growth, Chlorophyll Content and Proteins of Weeds. *Biologia Plantarum* 39(3), 403- 410.

Fadzilla, N.M., Robert, P., Finch R.P. and Burdon, R.H. (1997). Salinity, Oxidative Stress and Antioxidant Response in Shoot Cultures of Rice. *J. Exp. Bot.* 48, 325-331.

Foyer, C.H., Lelandais, M., Kunert, K.J. (1994). Photooxidative Stress in Plants. *Physiol. Plant.* 92, 696-717.

Garland, C., Wilkins, D. (1981). Effect of calcium on the uptake and toxicity of lead in *Hordeum vulgare* L. and *Festuca ovina* L. *New Phytol.* 87, 581-593.

Gartrell, J. W. (1981). Distribution and Correction of Copper Deficiency in Crops and Pastures, P. 313-350. In: Copper in Soils and Plants. Loneragan, J. F. (Ed.) Academic Pres, Sydney, Australia.

Giertych, M.J., Karolewski, P., DE Temmerman, L.O. (1999). Foliage Age and Pollution Alter Content of Phenolic Compounds and Chemical Elements in *Pinus nigra* Needles. *Water Air Soil Pollut.*, 110:363-377.

Gueta-Dahan, Y., Yaniv, Z., Zilinskas, A., Ben-Hayyim, G. (1997). Salt and Oxidative Stress: Similar and Specific Effects Responses and Their Relation to Salt Tolerance in *Citrus*. *Planta*, 203, 460-469.

Hameed, N., Siddiqui, Z.S., Ahmed, S. (2001). Effects of Copper and Lead on Germination, Accumulation and Phenolic Contents of *Spinacea oleracea* and *Lycopersicum esculentum*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(7), 809- 811.

Heale, E.L., Ormrod, D.P. (1982). Effects of Nickel and Copper on *Acer rubrum*, *Cornus stolonifera*, *Lonicera tatarica* and *Pinus resinosa* Canad. *J. Bot* 60, 2674-81.

Hernandez, L.E., Carpena-Ruiz, R., Garate, A. (1996). Alterations in the Mineral Nutrition of Pea Seedlings Exposed to Cadmium. *J. Plant Nutr.* 19, 1581-1598.

Hodges, D.M., Forney, C.F. (2000). The Effect of Ethylene, Depressed Oxygen and Elevated Carbon Dioxide on Antioxidant Profiles of Senescing Spinach Leaves. *Journal of Experimental Botany* 51: 645-655.

<http://www.val-znanje.com/index.php/ljekovite-biljke/1086-ruzmarin-rosmarinus-officinalis-l>

<http://web.ogm.gov.tr>

Huang, J.W., Cunningham, S.D. (1996). Lead phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. *New Phytol* 134, 75-84

Jenkins, K.S. (1989). Effect of Copper Leading of Prenuminant Calves or Intracellular disirubition of hepatic copper,zinc,iron and molybdenum. *J.Dairy Sci.* 72, 2346-2350.

Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S. (2004). Metallerin Çevresel Etkileri- I , İTÜ Metalurji Mühendisliği.

Kibria, M.G., Islam, M.S., Osman, K.T. (2009). Effects of lead on growth and mineral nutrition of *Amaranthus gangeticus* L. and *Amaranthus oleracea* L. *Soil and Environment* 28, 1-6.

Kim, Y.Y., Yang, Y.Y., Lee, Y. (2002). Pb and Cd uptake in rice roots. *Physiol Plantarum* 116, 368-372.

Kochian, L. V. (1991). Mechanisms of Micronutrient Uptake and Tranlocation in Plants P. 229-296 In: Mikronutrients in Agriculture , SSSA Series, No: 4. Madison, W.I., U.S.A.

Koç, E., Ergün, N., Üstün, A.S, Öncel, I. (2013). Kahramanmaraş- Acı Biber (*Capsicum annuum* L.) Fidelerinde Mineral İçerik üzerine Kadmiyumun, Etkisi *Journal of Anatolian Natural Sciences*, 4(2), 14-18.

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

Lin, J., Jiang, W., Liu D. (2003). Accumulation of Copper by Roots , Hypocotyls, Cotyledons and Leaves of Sunflower (*Helianthus annus* L.). *Bioresource Technology*, 86: 151-155.

Loneragan, J. F. (1975). The availability and Adsorption of Trace Elements in Soil Plant Systems and Their Relation to Movement and Concertrations of Trace Elements in Plants. P. 109-134. In: Trace Elements in Soil-Plant Animal Systems Nicholas, D.J. and Egan, A.R (Eds.) Akademic Pres, London .

Loneragan, J. F. (1981). Distribution and Movement of Copper in Plants. P.165-188 In: Copper in Soils and Plants. Loneragan,J.F., Robson, A.D. and Graham, R.D. (Eds.) Akademic Pres, London.

Lopez, M.L., Peralta-Videa, J.R., Benitez, T., Duarte-Gardea, M., Gardea-Torresdey, J.L. (2007). Effects of lead, EDTA, and IAA on nutrient uptake by alfalfa plants. *J. Plant Nutr.* 30(8), 1247-1261.

Macfarlane, G. R., Burchett, M.D. (2002). Toxicity, Growth and Accumulation Relationships of Copper, Lead and Zinc in Grey Mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Marine Environmental Research* 54, 65-84.

Mal, T.K., Adorjan, P., Corbett, A.L. (2002). Effect of Copper on Growth of an Aquatic Macrophyte, *Elodea canadensis*. *Environmental pollution* 120: 307-311.

Miranda, M.G., Ilangovan, K. (1996). Uptake of Lead by *Lemna gibba* L. Influence on Specific Growth Rate and Basic Biochemical Changes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56, 1000-1007.

Mohan, B.S., Hosetti, B.B. (1997). Potential Phytotoxicity of Lead and Cadmium to *Lemna minor* Grown in Sewage Stabilization Ponds. *Environ. Pollution*, 9, 233-238.

Mrozek, E. (1980). Effect of Mercury and Cadmium on Germination of *Spartina alterniflora* Loisel Seeds at Various Salinities. *Elsevier Science* 20(4),367-377.

Naqvi, S.M., Rizvi S.A. (2000). Accumulation of Chromium and Copper in Three Different Soils and Bioaccumulation in an Aquatic Plant, *Alternanthera philoxeroides*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65: 55-61.

Noctor, G., Foyer, C.H. (1998). Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49, 249-279.

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.

Nuhoğlu, Y., Malkoç E., Gürses A., Canpolat N. (2002). Removal of Cu(II) from aqueous solution by *Ulothrix zonata*. *Bioresource Technology* 85, 331-333.

Okçu, M. Tozlu, E. Kumlay, A.M., Pehlivan, M. (2009). Ağır Metallerin Bitkiler Üzerine Etkileri. *Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Alınları Dergisi*. ISSN:1307-3311.

Oncel, I., Keles, Y., Ustün, A.S. (2000). Interactive Effects of Temperature and Heavy Metal Stress on the Growth and Some Biochemical Compounds in Wheat Seedlings. *Environmental Pollution*, 107, 315-320.

Ozkutlu, F., Kara, S.M., Sekeroglu, N. (2007). Determination of mineral and trace elements in some spices cultivated in Turkey. International Symposium on Medicinal and Nutraceutical Plants, 19-23 March 2007, Macon GA, USA. *Acta Horticulturae* 756, 321-328.

Özberk, H., Kaya, Z., Gök, M. ve Kaplan, H. (1995). Toprak bilimi. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No:73, Adana, pp.816.

Padmaja, K., Parsad, D.D.K., Parsad, A.R.K. (1990). Inhibition of Chlorophyll Synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. Seedlings by Cadmium Acetate. *Photosynthetica* 24: 399-404.

Pandey, N., Sharma, C.P. (2002). Effect of Heavy Metals Co^{+2} , Ni^{+2} and Cd^{+2} on Growth and Metabolism of Cabbage. *Plant Science* 163: 753-758.

Pandey, N., Sharma, C.P. (2002). Effect of Heavy Metals Co_2 , Ni_2 and Cd_2 on Growth and Metabolism of Cabbage. *Plant Science* 163: 753-758.

Peralta, J.L., Gardea-Torresdey, K.J., Tiemann, E., Gomez, S., Arteaga, E., Rascon, and J.G. Parsons. (2000). Study of The Effects of Heavy Metals on Seed Germination And Plant Growth on Alfalfa Plant (*Medicago sativa*) Grown in Solid Media. Proceedings of the 2000 Conference on Hazardous Waste Research.

Rai, U.N., tripathi, R.D., Vajpayee, P. (2002). Bioaccumulation of Toxic Metals (Cr, Cd, Pb and Cu) by Seeds of *Euryale Ferox* Salisb. (Makhana). *Chemosphere* 4,267-272.

Rai, U.N., Tripathi, R.D., Vajpayee, P. (2002). Bioaccumulation of Toxic Metals (Cr, Cd, Pb and Cu) by Seeds of *Euryale Ferox* Salisb. (Makhana). *Chemosphere* 46, 267- 272.

Rama Devi, S., Prasad, M.N.V. (1998). Copper toxicity in *Ceratohyllum demersum* L. (Coontail), a Free Floating Macrophyte: Repsonse of Antioxidant Enzymes and Antioxidants. *Plant Science*, 138, 157-165.

Robson, A. D., Reuter, D. J. (1981). Diagnosis of Copper Deficiency and Toxicity P. 313- 350 In: Copper in Soils and Plants. Loneragan, J.F. (Ed.) Academic Pres, Sydney, Australia.

Rout, G.R., Samantary, S., Das, P. (2000). Effects of Chromium and Nikel on Germination and Growth in Tolerant and Non-Tolerant Populations of Echinochloa colona. *Chemosphere* 40, 855-859.

Ruiz, J.M., Romero, L. (2001). Bioactivity of the Phenolic Compounds in Higher Plants. In: Rahman A. (Ed.), Studies in Natural Products Chemistry. Vol. 25(F). Elsevier Science, pp. 651-681.

Salamons, W., ave Förstner, U. (1995). Heavy Metals Problems and Solutions, (P., Moder Eds.), Springer Verlag, 412.

Scandalios, J.G., (2002). The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences*, 27, 483-486.

Seregin, I.V., Kozhevnikova, A.D., Kazyumina, E.M., Ivanov, V.B. (2003). Nickel Toxicity and Distribution in Maize Roots. *Russian Journal of Plant Physiology* 50(5), 711-717.

Shah, K., Dubey, R.S. (1998). Effect of Cadmium on Proline Accumulation and Ribonuclease Activity in Rice Seedlings: Role of Proline as a Possible Enzyme Protectant. *Biologia Plantarum*. 40, 121-130.

Stiborova , M., Hromadkova , R., Leblova , S. (1986). Effect of ions of heavy metals on the photosynthesis characteristics of maize (*Zea mays*. L.), *Biologica* (Bratislava). 41,1221.

Symeonidis, L., Mcneilly, T. and Bradshaw, A.D. (1985). Differential tolerance of three cultivars of *Agrostis capillaris* L. to cadmium, copper, lead, nickel and zinc. *New Phytologist*, 101, 309-315.

Şekeroglu, N., Ozkutlu F., Kara S.M., Ozguven, M. (2008). Determining of cadmium and micronutrients in medicinal plants from Turkey. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88,86-90.

Taban S., Alpaslan, M. (1996). Mısır Bitkisinin Çinko, Demir, Bakır, Mangan ve Klorofil Kapsamı Üzerine Çinko Gübrelemesinin Etkisi. *Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 2, 69-73.

Teisseire, H., Guy, V. (2002). Copper-Induced Changes in Antioxidant Enzymes Activities in Fronds of Duckweed (*Lemna minor*). *Plant Science* 153, 65-72.

Tisdale, S.L., Nelson, W.L., Beaton, J. D. (1985). Soil Fertility and Fertilizers. P. 1-754 Macmillan Publishing Company, New York.

Uysal, E., Katkat, A. (2005). Bursa ve çevresinde yetiştirilen kiraz ağaçlarının demir, çinko, mangan ve bakır ile beslenme durumları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Dergisi*, 19(2), 47-59.

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

Vinit-Dunand, F., Epron, D., Alaoui- Sosse, D., Badot, P-M. (2002). Effect of Copper on Growth and on photosynthesis of Mature and Expanding Leaves in Cucumber Plants. *Plant Science* 163, 53-58.

Vural, H. (1993). Ağır Metal İyonlarının Gıdalarda Oluşturduğu Kirlilikler. *Ekoloji* 8, 3-8.

Wainwright, S.J., Woolhouse, H.W. (1977). Some physiological aspects of copper and zinc tolerance in *Agrostis tenuis* Sibth: Cell elongation and membrane damage. *J. Exp. Bot.* 28: 1029-1036

WHO (1996). Ammonia, Environmental Health Criteria, No.54, Geneva.

Wong, M.H., Bradshaw A.D. (1982). A comparison of the toxicity of heavy metals using root elongation of rye grass, *Lolium perenne*. *New Phytol.* 91, 255-261.

Zengin, F. K., Munzuroğlu, Ö. (2004). Effects of lead (Pb⁺⁺) and copper (Cu⁺⁺) on the growth of root,shoot and leaf of bean (*Phaseolus vulgaris L.*) seedlings. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 17(3), 1-10.

Zengin, F.K, Munzuroğlu, Ö. (2004). Fasulye Fidelerinin Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Kurşun (Pb⁺⁺) ve Bakır (Cu⁺⁺)'ın Etkileri, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*,17(3), 1-10.

Zengin, F.K. (2007). Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris L. cv. Strike*) Pigment İçeriği Üzerine Bazı Ağır Metallerin Etkileri, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10, 6-12.

Zengin, F.K., Munzuroğlu, Ö. (2004). Fidelerindeki (*Phaseolus vulgaris cv. Strike*) Sitokinin İçeriği Üzerine Ağır Metallerin (Hg⁺⁺, Cd⁺⁺, Cu⁺⁺ ve Pb⁺⁺) Etkileri., *Doğu Anadolu Araştırmaları (Research of Eastern Anatolia Region)*, 2(2), 48-54.

Zobel, A.M., Clarke, P.A. (1999). Production of Phenolics in Seedlings of *Acer saccharum* and *Acer platanoides* in Response to UV-A Irradiation and Heavy Metals. *Allelopathy J.*, 6, 21-34.