

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

***IN VIVO* OLARAK YETİŞTİRİLEN *LYCOPERSICUM ESCULENTUM*
MILL. CV. INVICTUS ÇEŞİDİNDE NİKEL (Ni), KADMIYUM (Cd),
BAKIR (Cu) AĞIR METAL UYGULAMALARININ GENOTOKSİK
VE ENZİMATİK DÜZEYDE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gülru YÜCEL

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 25/06/2013

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Cüneyt AKI

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

GÜLRU YÜCEL tarafından DOÇ. DR. CÜNEYT AKI yönetiminde hazırlanan “*IN VIVO OLARAK YETİŞTİRİLEN LYCOPERSICUM ESCULENTUM MILL. CV. INVICTUS ÇEŞİDİNDE NİKEL (Ni), KADMİYUM (Cd), BAKIR (Cu) AĞIR METAL UYGULAMALARININ GENOTOKSİK VE ENZİMATİK DÜZEYDE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI*” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Cüneyt AKI

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Sevil YALÇIN

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 25/06/2013

Doç. Dr. Zeki KARACA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Gülru YÜCEL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca bilimsel bilgi birikimiyle, hoşgörüsüyle, aydın görüşleriyle ve insani zenginliğiyle bana kattığı değerlerden dolayı ve hiçbir zaman esirgemediği yardımları için Sayın Danışmanım, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi, Doç. Dr. Cüneyt AKI'ya yürekten teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım süresince bana her zaman yardımcı olan, sabrını, bilgi birikimini hiçbir zaman esirgemeyen, doğruya yönlendirmeye çalışan ve her zaman hissettirdiği desteğinden dolayı Sayın Hocam, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Elemanı, Arş. Gör. Dr. Nurşen ÇÖRDÜK'e teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince bilgi paylaşımını, yardımını ve sabrını esirgemeyen arkadaşım Arş. Gör. Nihan AKINCI'ya teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince benden yardım ve desteğini esirgemeyen arkadaşlarım Sibel KALENDER'e ve Arş. Gör. Özlem KIPRAK'a ve Şebnem GÜNEŞ'e teşekkür ediyorum.

Üniversitemiz kimya bölümüne çalışmamda sağladıkları kimyasal madde desteğinden dolayı teşekkür ediyorum.

Her zaman bana güvenen, beni destekleyen, kendimi geliştirmem ve başarılı olmam için her türlü olanağı sağlayan, hayatta her zorluğun bir güzellik getirdiğini hiçbir zaman unutturmayan, fedakarlıklarını asla ödeyemeyeceğim saygıdeğer annem Türkan YÜCEL'e, babam Faruk YÜCEL'e ve ablam Cansu YÜCEL'e çok teşekkür ediyorum.

Gülru YÜCEL

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
μM	Mikromolar
BSA	Bovine Serum Albumin
$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Kadmiyum nitrat
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNAaz	Deoksiribonukleaz
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
G	Gram
HCl	Hidroklorik asit
Kg	Kilogram
mM	Milimolar
mg	Miligram
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Nikel klorür
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
POD	Peroksidaz
Ppm	Milyonda bir parçacık
RNAaz	Ribonukleaz
TUIK	Türkiye İstatistik Kurumu
Ni	Nikel
Cd	Kadmiyum
Cu	Bakır

ÖZET

IN VIVO OLARAK YETİŞTİRİLEN *LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL. CV. INVICTUS ÇEŞİDİNDE NİKEL (Ni), KADMİYUM (Cd), BAKIR (Cu) AĞIR METAL UYGULAMALARININ GENOTOKSİK VE ENZİMATİK DÜZEYDE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gülru YÜCEL

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Cüneyt AKI

25/06/2013, 67

Tamamlanan araştırmamızda, ekonomik ve tıbbi anlamda önemi olan, *in vivo* ortamda yetiştirilen on haftalık *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerine nikel (10, 20, 30, 40 ppm), kadmiyum (10, 20, 30, 40 ppm), bakır (12.5, 25, 50, 100 ppm) ağır metalleri farklı konsantrasyonlarda sulama suyu ile verilmiştir. Uygulamalar sonucunda bu ağır metallerin genotoksik etkileri kök ucu hücreleri testi, ile total protein ve peroksidaz [EC 1.11.1.7] aktivite değişimleri de spektrofotometrik yöntemler ile saptanmıştır. Fidelerin yaprak ekstraktlarından alınan homojenantlardan yapılan ölçümler sonucunda, total protein değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 ppm bakır uygulaması yapılan grupta %57'lik azalma, 10 ppm nikel uygulaması yapılan grupta ise %10,9'luk bir artış meydana geldiği saptanmıştır. Peroksidaz enzim değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 ppm bakır uygulaması yapılan grupta %536,03'lük artış, 10 ppm nikel uygulaması yapılan grupta ise %5,96'luk artış meydana geldiği saptanmıştır. Kök ucu hücre testi ile gerçekleştirilen genotoksik etkilerinin incelenmesi sonucunda ağır metal konsantrasyonu artışına bağlı olarak enine bölünme, anafazda kalgın ve düzensiz kromozom dağılımı, metafazda kalgın kromozom ve tabla kayması en sık gözlenen kromozomal anormallikler olarak belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: *Lycopersicum esculentum* Mill. *invictus*, kadmiyum, nikel bakır, peroksidaz, protein, genotoksisite

ABSTRACT

GENOTOXIC AND ENZYMATIC EFFECTS OF NICKEL (Ni), CADMIUM (Cd), COPPER (Cu) HEAVY METALS ON *IN VIVO* GROWTH *LYCOPERSICUM* *ESCULENTUM* MILL. CV. INVICTUS VARIETIES

Gülru YÜCEL

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biological Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Cüneyt AKI

25/06/2013, 67

In this research, different concentrations of cadmium, nickel, copper heavy metals applied on ten weeks old *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus seedlings which is economical and medical importance with irrigation water that is being growth under *in vivo* conditions. As a result of heavy metals applications, genotoxic effect of heavy metals measured by root tip cell test. Total protein and peroxidase [EC 1.11.1.7] enzyme activity were determined by spectrophotometrically. Changing of peroxidase activity levels in *L. esculentum* cv. invictus seedlings, after heavy metals applications were compared with control groups. Depending on applications of heavy metals, total protein decreased as %57 in 100 ppm of copper application and %10.9 increased in 10 ppm nickel application. The highest increase in peroxidase activity was measured as %563.03 in 100ppm copper application and lowest increase was measured as %5.96 in 10 ppm nickel application. As a result of genotoxicity analysis with root tip tests, most frequently chromosomal abnormalities were observed as transverse division, anaphase lagging and irregular distribution of chromosomes in anaphase, metaphase lagging chromosomes, metaphase plate shift.

Keywords: *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus, cadmium, nickel, copper, peroxidase, protein, genotoxicity.

İÇERİK	Sayfa
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT.....	vii
BÖLÜM 1 - GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2 - ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
2.1. Domates Hakkında Genel Bilgiler	6
2.1.1. Ekolojik istekleri.....	8
2.1.2. Domatesin içeriği ve faydaları	8
2.1.3. Dünyada ve ülkemizde domatesin ekonomisi.....	9
2.2. Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Faktörler	12
2.2.1. Doğal faktörler	12
2.2.2. Tarımsal faktörler.....	12
2.2.3. Endüstriyel faktörler	13
2.2.4. Evsel faktörler	14
2.3. Ağır Metallerin Bitkiler Tarafından Alınımı	14
2.4. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerindeki Etkileri.....	15
2.5. Ağır Metallerin Antioksidan Enzim Sistemleri ve Genotoksisite Üzerine Etkileri	20
BÖLÜM 3 - MATERYALVEYÖNTEM	29
3.1. Bitkisel Materyal.....	29
3.1.1. Kimyasallar	30
3.1.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri	30
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. <i>In vivo</i> yetiştiricilik	30
3.2.2. Ağır metal çözeltilerinin hazırlanması.....	31
3.2.3. Ağır metal çözeltilerinin uygulanması	32
3.2.4. Kök ucu eldesi	32
3.2.4.1. Kök uçlarının analizinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması.....	33

3.2.5. Protein ve enzim analiz yöntemi.....	33
3.2.5.1. Analizler için gerekli solüsyonlar	33
3.2.5.1.1. Sodyum asetat tamponunun hazırlanışı	33
3.2.5.1.2. Protein reagent brilliant blue G-250'nin hazırlanışı	34
3.2.5.1.3. 0,1 M pyrogallol ve 90 mM H ₂ O ₂ hazırlanışı.....	34
3.2.5.2. Bitki örneklerinin protein içeriklerinin spektrofotometrik ölçümü	36
3.2.5.3. Peroksidaz enzim aktivitesi analizi	37
BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	38
4.1. <i>In Vivo</i> Olarak Yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mil. cv. <i>invictus</i> Fidelerine Ağır Metal Uygulaması Sonucu Oluşan Total Protein Değişim Bulguları	38
4.1.1. Nikel'in protein miktarına etkisi.....	38
4.1.2. Kadmiyum'un protein miktarına etkisi.....	39
4.1.3. Bakır'ın protein miktarına etkisi	40
4.2. <i>In Vivo</i> Olarak Yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. <i>invictus</i> Fidelerin Ağır Metal Uygulamaları Sonucu Oluşan Peroksidaz Değişim Bulguları	42
4.2.1. Nikel'in peroksidaz aktivitesine etkisi	42
4.2.2. Kadmiyum'un peroksidaz aktivitesine etkisi.....	43
4.2.3. Bakır'ın domates bitkisinde peroksidaz aktivitesine etkisi	44
4.3. Uygulanan Ağır Metallerin <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. <i>invictus</i> Üzerinde Genotoksik Etkileri	45
4.4. Tartışma.....	49
BÖLÜM 5 - SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	57
Çizelgeler.....	I
Şekiller.....	II
Özgeçmiş.....	IV

BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Canlılar, yaşamları süresince birçok olumsuz çevre koşulları ile mücadele etmek zorundadırlar. Doğal stres faktörleri olarak bilinen sıcaklık, kuraklık, mineral eksikliği ve fazlalığı, böcekler, patojenler gibi faktörlerin yanı sıra, insanların neden olduğu ve özellikle son yüzyılda etkisini fazlası ile arttıran, genetik mekanizmaların değişiminde diğer tüm faktörlerin önüne geçen insan kaynaklı olarak bilinen stres faktörleri de bulunmaktadır. Çok hızlı bir şekilde etkilerini arttıran bu faktörler, adaptasyon için gereken zaman süresini de kısalttıkları için şimdiden birçok canlı türü yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalmıştır ve kalmaktadır. İnsan kaynaklı stres faktörlerinin sebep olduğu çevre kirliliği, özellikle son yıllarda oldukça artış gösteren endüstriyel faaliyetler sonucu birçok ülke için ciddi boyutlarda tehlike oluşturmaktadır.

Çevrenin endüstrileşme, kentleşme, hızlı nüfus artışı, sanayileşme, teknolojik gelişmeler, daha uygar yaşama düzeyi sağlama amacı, üretimin ve tüketimin sürekli artışı ile birlikte zarar görmesi ve bu zararın tehlikeli boyutlara ulaşması sonucu çevre kirliliği ortaya çıkmaktadır. Başka bir deyişle çevre kirliliği; tüm canlıların sağlığını olumsuz olarak etkileyen ve cansız çevrede maddi hasara sebep olan, niteliklerini bozan yabancı maddelerin su, hava ve toprağa karışması olayıdır. Su, hava ve toprak birbirleriyle etkileşim içinde olan ortamlardır ve bu ortamlardan herhangi birinde meydana gelen olumsuz bir durum diğer ortamları da olumsuz bir şekilde etkilemektedir (Çepel, 2003).

Çevre kirliliğine neden olan çeşitli faktörlerin başında ağır metaller gelmektedir. Ağır metal fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 gr/cm^3 ten daha yüksek olan metaller için kullanılır. Bu gruba kadmiyum, kobalt, nikel, bakır, kurşun, çinko olmak üzere altmıştan fazla metal dahildir. Antik çağlarda metallerin cevherleri işlenmeye başlanması ile birlikte insan faaliyetleri sonucu metaller doğal çevrimler dışında hidrosfere, pedosfere ve atmosfere yayılmaya başlamışlardır. Yüzyıllar boyunca ağır metallerin etkileri bilinmeksizin insanlar tarafından silah, takı vb. amaçlar için kullanılmışlardır.

Sanayileşmenin başlamasıyla birlikte ağır metal kirliliği endüstri bölgelerinde aşırı boyutlara ulaşmış ve ağır metallerin sebep olduğu ilk kirlilik Japonya'da ortaya çıkmıştır (Kahvecioğlu ve ark., 2004). Ayrıca Macaristan'da 2010 yılında alüminyum fabrikasına ait zehirli atıkların bulunduğu havuzun yıkılması sonucunda arsenik, kadmiyum, krom gibi ağır metallerin atık çamuru ile geniş bir alana yayılımı gerçekleşmiştir (Karaca ve Turgay, 2012).

Ülkemizde tuz üretiminin yaklaşık %70 ini karşılayan Tuz Gölü, uygulanan yanlış çevre politikalarından dolayı evsel ve kanalizasyon atıkları, sanayi kuruluşlarının atıkları, madencilik faaliyetlerinden kaynaklanan kirlenme sebebiyle gün geçtikçe olumsuz yönde etkilenmektedir (Kılıç ve Uyanık, 2001). Bu atıklar içerisinde bulunabilen önemli bir kirlenme grubu olan ağır metaller (kadmiyum, bakır, nikel, demir, kurşun, çinko, molibden, krom gibi) canlılarda birikerek kanserojen ve toksik etkiler göstermektedir. Bu nedenden dolayı konu önemli bir güncel sorun haline gelmiştir.

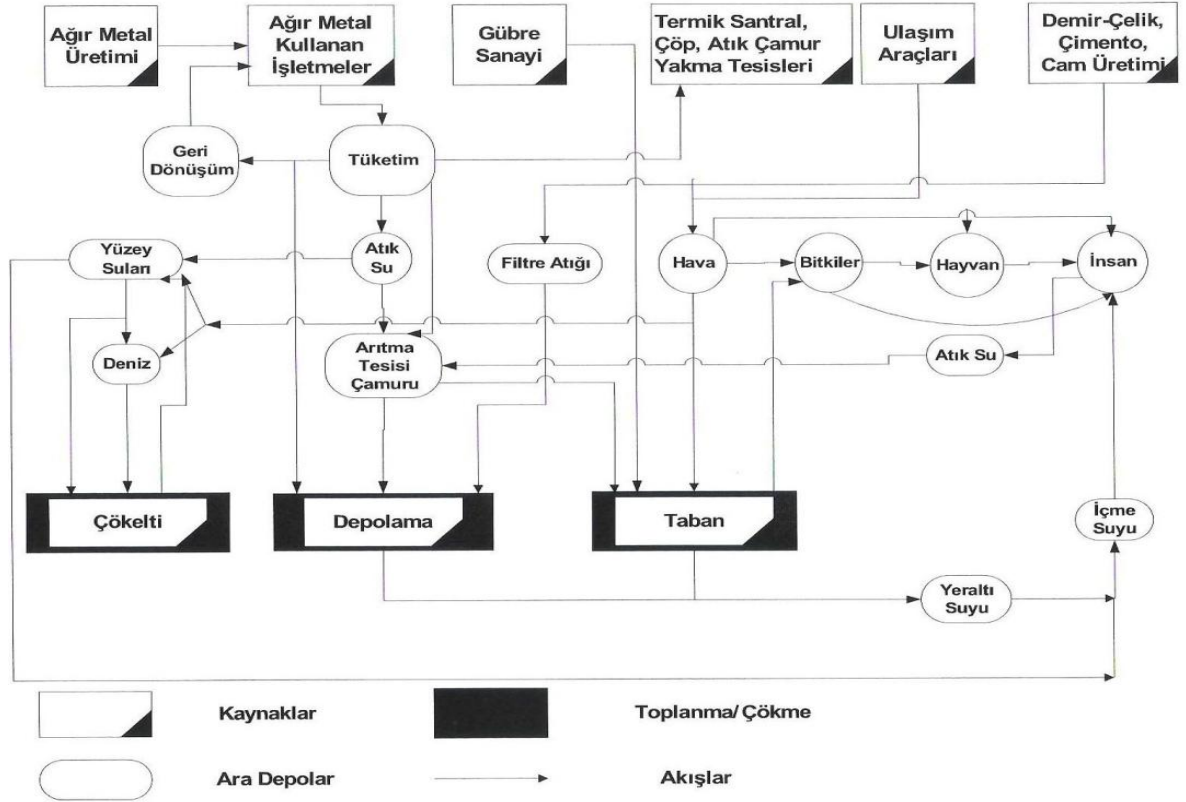
Ağır metallerin ekolojik sistemde yayılımları incelendiğinde doğal çevrimlerden çok insan kaynaklı etkiler nedeni ile çevreye salınımının söz konusu olduğu anlaşılmaktadır. Bu kirlenmelerin yanı sıra kazalar sonucu da ağır metallerin çevreye yayılımı önemli miktarlara ulaşabilmektedir. Yıllık olarak doğal çevrimler sonucu 18800 ton arsenik, 3600 ton civa, 33200 ton kurşun, 7600 ton kadmiyum, atmosfere atılmakta iken insan faaliyetleri sonucu deşarj edilen miktarlar incelendiğinde ise kadmiyum (8 kat), civa, kurşun, kalay (6 kat), nikel, krom, arsen (3 kat) daha fazladır (Alexandar, 2002). Aşağıdaki çizelgede çeşitli endüstriyel faaliyetler sonucu çevreye yayılımları gerçekleşen ağır metaller gösterilmiştir (Kahvecioğlu ve ark., 2004).

Çizelge 1. Endüstri türüne göre ortama salınan ağır metaller (Kahvecioğlu ve ark., 2004)

Endüstri	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Kağıt Endüstrisi	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokimya	+	+	-	+	+	-	+	+
Klor-alkali Üretimi	+	+	-	+	+	-	+	+
Gübre Sanayi	+	+	+	+	+	+	-	+
Demir- Çelik Sanayi	+	+	+	+	+	+	+	+
Enerji Üretimi (Termik)	+	+	+	+	+	+	+	+

Ağır metaller, su kaynaklarına asit yağmurlarının ya da endüstriyel atıkların toprağın bileşiminde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünmüş olan ağır metallerin göl, ırmak ve yeraltı su kaynaklarına ulaşması ile geçmektedirler. Su kaynaklarına ulaşan ağır metaller seyrelir ve katı bileşik (kısmen karbonat, sülfür, sülfat) oluşturarak su tabanına çökerler ve bu bölgede birikirler. Ağır metaller atık suların içme sularına karışması ya da ağır metaller ile kontamine olmuş partiküllerin tozlaşması yolu ile insanlar ve hayvanlar üzerinde etkili olurlar (Kahvecioğlu ve ark., 2004).

Ağır metallerin doğaya yayılımları çeşitli sektörlerden farklı işlemler aracılığı ile gerçekleşmektedir (Kahvecioğlu ve ark., 2004). Şekil 1’de ağır metallerin doğaya yayılımları gösterilmiştir.



Şekil 1. Ağır metallerin doğaya yayılımları (Kahvecioğlu ve ark., 2004).

Ağır metallerin tümünün yüksek konsantrasyonları canlı sistemler üzerinde toksik etki göstermektedir. İstenmedikleri yerde bulunan metal ve metalloid türleri kirletici olarak görülmektedirler. Toprağın içerdiği metal konsantrasyonunun kökeni ne olursa olsun aşırı miktarda ağır metal (kadmiyum, krom, bakır, civa, kurşun, nikel, selenyum gibi) bulunması ürün veriminde ve toprak kalitesinde azalmalara böylelikle insanlar, hayvanlar, bitkiler ve ekosistem üzerinde de olumsuz etkiler ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Alüminyum, kobalt, mangan, molibden, uranyum gibi doğada fazla bulunmayan metal türleri kirletici sayılmaktadır (McIntyre, 2003).

Ağır metaller kurşun, kadmiyum, nikel, bakır, kobalt, mangan gibi genellikle karbonat, sülfür, oksit ve silikat mineralleri şeklinde doğada bulunmaktadır. Çok düşük miktarlarda bile zehir etkisi yaratabilen ağır metaller, kirlenmiş sularda katyon, tuz, kısmen

anyon ve metal şeklinde bulunmaktadır (Ceran, 2004).

Ağır metal kirliliğinin tüm canlılar üzerine ciddi olumsuz etkilerinin olduğu yapılan çeşitli bilimsel çalışmalar ile belirlenmiştir. Ağır metaller memelilerde solunum, beslenme ve deri yoluyla vücuda girip dokularda harabiyetlere sebep olmaktadır. Yapılan araştırmalarda ağır metallerle maruz kalan insanlarda ruhsal ve nörolojik etkilere bağlı rahatsızlıklar, kanser vakaları, sakatlıklar, felçler ortaya çıkabildiği ortaya konmuştur.

Mikro besin elementi olsun ya da olmasın ağır metallerin, suda, toprakta ve atmosferdeki konsantrasyonunun belli bir seviyenin üzerine çıkması, tüm canlılar için ciddi problemlere sebep olmaktadır (Benavides ve ark., 2005).

Ekosistemin primer üreticileri olan bitkilerin besin zincirinin en alt basamağında yer almaları, diğer canlıları da etkileyebilmeleri ve ekonomik öneme sahip olmalarından dolayı bu tehdit bitkiler üzerinde daha fazladır. Bitkinin transpirasyon, fotosentez, enzim aktivitesi, nükleik asit yapısı, klorofil biyosentezini ve bunlara ek olarak membranlarda hasar, hormon dengesinin bozulması gibi çoğu fizyolojik olayı etkilemektedir (Yıldız ve Aksu, 2005). Esansiyel olsun ya da olmasın aşırı şekilde biriktiklerinde bitkinin büyüme fonksiyonlarını değiştirebilirler. Örnek vermek gerekirse bakır bitkilerin gelişimi ve büyümesi için önemli bir mikro elementtir. Fotosentez ve besinlerin metabolizmada kullanılabilir hale gelmesi için gereklidir. Fakat bakır içeriğinin fazla olduğu ortamlarda kök hücrelerine zarar verdiği için kök uzamasını engeller, lipid peroksidasyonuna böylelikle membran parçalanmasına yol açmakta, klorozise (Keller ve Hammer, 2004) ve demir eksikliğine (Ouzounidou ve ark., 1998) neden olmaktadır. Ağır metal kaynaklı oluşan serbest radikallerin etkilerinin zararsız hale dönüştürülmesi antioksidan sistemi (peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz gibi enzimler) harekete geçirmektedir.

Son zamanlarda tarımsal alanlarda ağır metal birikimine bağlı olarak artan kontaminasyon sonucunda, ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri konusunda çalışmalarda artış gözlenmiştir. Tarımsal alanlarda karşılaşılan ağır metal sorunlarından kaçınabilmek ve ağır metal problemi yaşanan alanlarda tarımın sürdürülebilirliğini sağlamak için ağır metallerle karşı toleranslı bitkilerin belirlenmesinden önce ağır metallerin hücre içi mekanizmalarının ve bitki savunma sistemleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Bitkilerde aşırı ağır metale maruz kalma, birçok değişikliklere neden olmaktadır. Oluşan bu değişikliklerin sebep olduğu zararların bir kısmı gözle görülebilir (morfolojik) düzeyde iken, birçoğunun belirlenebilmesinde karmaşık biyokimyasal analizler kullanılmaktadır. Bitkilerin bu ağır metalleri dokularında biriktirdikleri göz önüne alınırsa,

ürün kaybının yanısıra tarım bitkilerinin tüketilebilir sağlıklı besin olma özellikleri de azalmaktadır.

Araştırmamızın amacı, farklı kaynaklardan tarım arazilerine karışabilme özelliğinde olan farklı ağır metallerin ekonomik ve tıbbi anlamda önemi olan ve *in vivo* olarak yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. türünün *invictus* çeşidi üzerindeki etkilerini belirlemek olmuştur. Bu amaçla, nikel, kadmiyum, bakır ağır metalleri farklı konsantrasyonlarda bitkinin sulama suyuna uygulanmıştır. Uygulamalar sonucunda öncelikle bitki savunma sisteminde ne tür değişikliklerin meydana geldiğinin ortaya konması için total protein ve peroksidaz [EC 1.11.1.7] analizleri yapılmış, sonra ise ağır metallerin genotoksik etkilerinin belirlenebilmesi için kök ucu hücreleri testi yöntemi uygulanmıştır. Analiz sonuçlarımıza göre, bitki savunma mekanizmasının ve genotoksisite düzeylerinin artan ağır metal konsantrasyonuna ve çeşidine bağlı olarak farklı düzeylerde etkilendiği saptanmıştır.

BÖLÜM 2**ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR****2.1. Domates Hakkında Genel Bilgiler**

Domates bitkisi dünya çapında büyük miktarlarda yetiştiriciliği yapılan *Solanaceae* familyasına dahildir. Aşağıda domates bitkisine (*Lycopersicum esculentum* Mill.) ait sistematik verilmiştir.

- **Alem** : Plantae
- **Bölüm** : Magnoliophyta
- **Sınıf** : Magnoliopsida
- **Takım** : Solanales
- **Aile** : Solanaceae
- **Cins** : Lycopersicum
- **Tür** : *Lycopersicum esculentum* Mill.

Philip Miller (1691-1771)-Acronym Mill. (Anonim, 2004).

Domates besin olarak yararlanılan bitkiler arasında oldukça önemli bir yere sahip olup dünyada en çok üretimi ve tüketimi gerçekleştirilen sebzeler arasında yer almaktadır. Anavatanı Orta ve Güney Amerika ya da Peru olarak bilinen domates önce Avrupa kıtasına getirilmiş ve sonrasında tüm dünyaya yayılmıştır (Kütevin ve Türkeş 1987; Küçüker, 1994). Peru da Maya uygarlığı zamanında adı "xtomatl" ya da "tomatl" olarak geçen domates, İspanyollar tarafından Avrupa'ya getirilmiş ve "tomatl" olarak tanıtılmıştır (Küçüker, 1994). Amerika'da ilk defa 1817 yılında domates tohumunun kataloglarda yer aldığı bilinmektedir (Kütevin ve Türkeş, 1987). Avrupada uzun süre zehirli olduğu düşünülen domates (Ekinci, 1972) daha sonra kültür bitkisi olarak kabul edilmiştir.

Domatesin yabani ve kültüre alınmış uzak akrabaları hala Peru'da, Galapagos adalarında (Rick 1973, Taylor 1986), Ekvator ve Bolivya'ya uzanan dar bir bölgede bulunabilmektedir (Oğuz 2010). Domates ve yabani akrabalarının ana vatanı Şekil 2'de harita üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 2. Domatesin ve yabancı akrabalarının ana vatanı (Oğuz, 2010).

Birinci Dünya Savaşı sırasında tanıdığımız domates bugün ülkemizde oldukça büyük boyutlarda kültürü yapılan ve tüketimi fazla olan bir bitkidir (Kütevin ve Türkeş 1987; Seçmen ve ark., 1998).

Ülkemizin iklim şartlarınının domates yetiştiriciliği için uygun oluşu, bu sebze yi işleyecek sanayinin 1970’li yıllardan itibaren hızla kurulmuş olması, domates sebzesine olan yönelmeyi hızlandırmıştır. Ülkemiz bu sebzenin üretiminde dünya ülkeleri arasında alt sıralardan üst sıralara çıkarak İtalya ve Amerika gibi üretim devletlerinin arasında yer almıştır (Güneysu, 2004).

Ülkemizde çoğunlukla Ege, Marmara ve Akdeniz bölgelerinde yetiştirilen bu sebze kuvvetli bir kök yapısına sahiptir, yer veya sırım çeşidi oluşlarına bağlı olarak farklı gövde gelişimi gösterirler ve yaprakları bileşik yaprak şeklindedir. Meyve şekli (koni, yuvarlak vs) ve bitki görüşünü (uzun yada cüce) bakımından farklılık gösteren varyetelerinin kültürü yapılmaktadır (Davis, 1978).

Domates bitkisi tek yıllık, glandular tüylü, dallanmış, dik gövdeli, 40-50 cm dir. Korolla sarı, 5 (-8) loblu, kaliks 5 (-8) loblu ve stamenler 5 (-8) adettir. Meyve rengi pembe, kırmızı veya sarı olmakla beraber çapı 10 cm kadar olabilmektedir (Davis, 1978; Seçmen ve ark., 1998).

Gövde ve yapraklarının üzeri domates kokusu veren ayrıca dokunulduğundan yeşile boyayan sıvı bulduran tüylerle kaplıdır. Domates üzümü (bakka) bir meyvedir genellikle iki gözlü olarak gelişir. Tohumları meyve içinde karpel loplarda, çimlenmesini engelleyici peltemsi sıvı içerisinde yer almaktadır. Tohumları uygun şartlarda korunduklarında çimlenmelerini 5-6 yıl muhafaza edebilirler (Güneysu, 2004). Ayrıca domatesin meyvelerinin dışında kırmızı-turuncu renkte eksokarp ve kalın çok sayıda tohum ihtiva eden mezokarp bulunmaktadır (Küçüker, 1994).

2.1.1. Ekolojik istekleri

Domates bitkileri toprak istekleri bakımından seçici değildir ve besin içeriğince zengin her toprakta yetişebilirler. Ağır killi topraklarda bitki gelişimi yavaştır fakat bitki yeni sürgünler, çiçekler ve meyveler verir bu sebeple gelişimi sürekli bürdandır dolay ağır killi topraklarda domates verimi yüksektir. Domates bitkisinin toprak pH değerinun 5.5-7 değeri arasında olması gerekmektedir. Su tutma kapasitesinin yüksek olduğu topraklarda bitki gelişimi ve verimi olumlu yönde etkilenir (Domates yetiştiriciliği <http://www.burdur-tarim.gov.tr/files/domates.pdf>).

Domates bitkileri en verimli gelişimlerini 15-28 °C sıcaklık aralığında gösterirler. Daha yüksek sıcaklıklarda (30 °C) bitki gelişimini sürdürür fakat polen çimlenmesini olumsuz yönde etkilediği için polen tüpü oluşumu gerçekleşmede yeterli düzeyde uzayamaz ve dölleme meydana gelmediği için çiçek dökülmesi gerçekleşir, verimde azalma ve partenokarpik küçük meyveler oluşumu gözlemlenir (Güneysu, 2004).

Domates bitkisi yüksek nemden hoşlanmaz, ılık ve sıcak iklim sebzesidir. Kök çevresinin düzenli olarak su alması bitkinin gelişimini ve verimini olumlu yönde etkiler. Aşırı sıcak ve nemli ortamlar bitkide çeşitli hastalıkların meydana çıkmasına sebep olur. Bitki büyüme döneminde yüksek nemin olumlu yönde etkisi vardır fakat meyve olgunlaşması döneminde bu etki olumsuz bir hal alır (Domates yetiştiriciliği, <http://www.burdur-tarim.gov.tr/files/domates.pdf>).

2.1.2. Domatesin içeriği ve faydaları

Domates taze olarak tüketilebildiği gibi domates suyu, konserve, ketçap, turşu, salça şeklinde de tüketilebilmektedir. İçeriğinde bulunan likopen ve karotenin (Bramley, 2000) yanısıra önemli bir vitamin C kaynağı teşkil etmektedir (Offord, 1998). Aşağıdaki çizelgede domates meyvesinin (100 g) kimyasal kompozisyonu verilmiştir (Ensminger ve ark., 1985).

Çizelge 2. Domates meyvesinin (100 g) kimyasal kompozisyonu (Ensminger ve ark., 1985)

Moisture	95%
Food energy	22 kcal
Protein	1 g
Fats	0.2 g
Carbohydrates	4.7 g
Fiber	0.5 g
Calcium	13.0 mg
Phosphorus	27.0 mg
Sodium	3.0 mg
Magnesium	17.7 mg
Potassium	244.0 mg
Iron	0.50 mg
Zinc	0.20 mg
Copper	0.01 mg
Vitamin A	900.0 IU
Vitamin D	0
Vitamin E (α -Tocopherol)	0.40 mg
Vitamin C	23 mg
Thiamin	0.06 mg
Riboflavin	0.04 mg
Niacin	0.70 mg
Panthenic Acid	0.33 mg
Vit. B-6 (pyridoxine)	0.10 mg
Folacin (folic acid)	39.00 mcg
Biotin	4.00 mcg
Vitamin B-12	0

Domatesin içerdiği antioksidan seviyesi yüksek bileşenler son yıllarda domatese olan ilgiyi arttırmış böylelikle sağlık üzerine çoğu çalışmada ele alınmıştır. İnsanlarda koroner ve kalp hastalıklarını önlemesi ve kanser riskini azaltması gibi olumlu etkiler nedeni ile araştırmacıların dikkatini çekmekte, bunu sağlayan antioksidanları açısından incelenmektedir (Çapanoğlu ve Boyacıoğlu, 2010).

2.1.3. Dünyada ve ülkemizde domatesin ekonomisi

Domates dünyada kültür bitkileri içerisinde en çok üretimi yapılan sebzelerin başında gelmektedir. Yemeklerin renk kaynağı, çeşnisi, sofraların salatası, garnitürü olan domatesin daha birçok şekilde kullanımları mevcuttur. Bu sebeple domatesin tarımı günden güne değerlendirilmekte ve artmaktadır.

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nün en güncel verileri olan 2010 yılı verilerine bakıldığında; 2010 yılında dünya çapında 52,7 milyon hektar alanda yaş sebze üretimi gerçekleştirilmiştir. Söz konusu olan alanlarda yetiştirilen toplam yaş sebze 965 milyon ton olup, domates yaklaşık olarak 145,6 milyon tonluk üretimi ile dünyada en çok yetiştirilen yaş sebze ürünü olmuştur.

Aşağıdaki çizelgede Dünya yaş sebze ve meyve üretiminde ilk 10 ürün gösterilmiştir (<http://www.ibp.gov.tr/pg/sectorpdf/tarim/tazemeyvesebze.pdf>, s.1, Türkiye Cumhuriyeti-Ekonomi Bakanlığı, 2012).

Çizelge 3. Dünya yaş sebze ve meyve üretiminde ilk 10 ürün

Ürün adı	2009	2010	Değişim (%)
1.Domates	153.884.368	145.652.579	-3,16
2.Karpuz	98.265.472	89.153.514	- 9,27
3. Kuru soğan	72.033.629	74.220.950	3,04
4.Lahana	65.344.052	58.023.731	-11,20
5. Hıyar ve Komışon	60.693.007	57.556.880	-5,17
6. Patlıcan	43.064.343	41.829.973	-2,87
7. Havuç ve Şalgam	33.296.898	33.663.365	1,10
8. Biber	28.464.329	27.518.904	-3,32
9. Marul ve Hindiba	23.939.770	23.612.763	-1,37
10.Kabak	22.548.166	22.396.399	-0,67
Genel Toplam	1.013.014.041	965.751.346	-4,67

Dünyada toplam 4,3 milyon hektar alanda domates ekimi gerçekleştirilmektedir. Domates üretiminde dünyada önde gelen ülkeler sırasıyla Çin Halk Cumhuriyeti (41,8 milyon ton), Amerika Birleşik Devletleri (12,9 milyon ton), Hindistan (11,9 milyon ton), Türkiye (10 milyon ton) ve Mısır (8,5 milyon ton) olmakla birlikte hektara göre verimin en yüksek olduğu ülke ise Hollanda'dır. Ülkemizin domatesin küresel üretimden aldığı pay % 6,9 seviyesindedir (<http://www.ibp.gov.tr/pg/sectorpdf/tarim/tazemeyvesebze.pdf>, Türkiye Cumhuriyeti-Ekonomi Bakanlığı, 2012).

Türkiye'de ortalama 40 milyon yaş meyve ve sebze üretimi gerçekleştirilmektedir ve domates üretimi yaş meyve ve sebze üretiminin yaklaşık olarak ¼' ünü oluşturmaktadır. Ülkemiz Dünya'da domates üretiminde 3., ihracatta miktar olarak 6., değer olarakta 10. sırada yer alan önemli ülkeler arasındadır (FAO, 2009; TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), 2008). Aşağıdaki çizelgede ülkemiz yaş sebze ve meyve ihracatı gösterilmiştir (<http://www.ibp.gov.tr/pg/sectorpdf/tarim/tazemeyvesebze.pdf>, s.8, Türkiye Cumhuriyeti-Ekonomi Bakanlığı, 2012).

Çizelge 4. Ülkemiz yaş sebze ve meyve ihracatı

Ürünler	2010		2011		Değişim 11/10 %	
	Ton	Bin	Ton	Bin	Ton	Bin
Domates	574.279	476.867	576.26	432.553	0,4	-9,3
Limon	426.713	312.931	487.376	354.526	14,2	13,3
Mandalin	429.401	290.722	472.097	338.883	9,9	16,6
Portakal	212.832	143.474	361.672	259.205	69,9	80,7
Üzüm	237.860	203.925	239.933	175.551	0,9	-13,9
Kiraz	65.294	147.828	46.613	131.042	-28,8	-11,4
Greyfury	156.692	101.942	158.274	110.043	1,0	7,9
Biber	61.247	69.366	68.610	77.628	12,0	11,9
Nar	63.148	59.600	86.271	70.711	36,6	18,6
Hıyar	105.060	75.463	81.034	59.193	-22,9	-21,6

Ülkemizde üretilen domatesin yaklaşık %20'si işlenmekte ve kalan miktar taze tüketimde kullanılmaktadır. İşlenen miktarın %80'i salça, %15'i konserve domatesi eldesinde, kalan miktar domates suyu, ketçap gibi ürünlerin imalatında kullanılmaktadır (<http://forum.gidagundemi.com/domates-salcasi-ihracati-t26568.html>, Gıda Gündemi, 2013).

Türkiye'de 2001 Tarım Sayımı verilerinden elde edilen sonuçlara göre 282 bin işletmede domates üretimi sağlanmaktadır. İşletmelerin %7'si Marmara Bölgesinde, %14'ü Akdeniz Bölgesinde, %28'i Ege Bölgesinde bulunmaktadır. Her bölgede domates üretimi yapılmakla birlikte sanayinin yoğun olduğu yerler Ege ve Marmara Bölgeleridir. Bu bölgeler aynı zamanda salçalık domates üretiminde önemli bölgelerdir. Salçalık domates üretiminin olduğu Çanakkale, Bursa, Manisa, İzmir, Balıkesir illerindeki üretim 2008 yılında sanayi domatesi üretiminin %82'sini oluşturmaktadır. Aynı illerde sofralık üretimin payı %1 ile %6 arasında değiştiği ve Türkiye'nin sofralık üretiminin %18'inin bu illerden sağlandığı belirtilmiştir. (Keskin 2010).

Çanakkale'de yetiştirilen tarım ürünleri arasında en önemli yeri oransal olarak sebze, ekim sahası olarak hububat almaktadır. 2003 yılı itibarı ile 376.153 ton buğday, 456.220 ton domates, 74.397 ton elma, 40.210 ton şeftali, 43.352 ton üzüm, 47.409 ton zeytin, 33.462 ton ayçiçeği üretimde ilk sıraları almıştır (<http://www.canakkale.bel.tr/bpi.asp?caid=198&cid=561>). Verilerde görüldüğü gibi Çanakkale'de büyük ölçülerde üretimi yapılan sebzeler arasında domateste yer almaktadır.

Bu verilerin ışığında, araştırmamızda kullanılan domates Çanakkale için önemli bir kaynak olmak ile birlikte ülkemizde ve dünya çapında da zengin içeriği ve artan üretimi-tüketimi sebebi ile değerine değer katmaktadır. Bu nedenle, çeşitli bilimsel araştırmalarda kullanılan ve halen güncelliğini koruyarak keşfedilecek yönleri bulunan önemli ekonomik bir bitkidir.

2.2. Ağır Metal Kirliliğine Neden Olan Faktörler

Ağır metal kirliliğine sebep olan faktörleri 4 madde altında toplayabiliriz.

2.2.1. Doğal faktörler

Yağmur, rüzgar, sel gibi doğal olayların sonucu olarak kayalardan aşınan ağır metaller nehirlerle, derelere buradan da deniz, göl gibi su kaynaklarına taşınmaktadır. Toprak ve doğal su kaynaklarının ağır metallerle kirlenmesi ve birikimlerinin gerçekleşmesi ile ortamda yaşayan canlılara zararlı etkileri olmaktadır (Doğan, 2005).

2.2.2. Tarımsal faktörler

Ağır metaller tarımsal çalışmalarda bazı ilaçların yapımında kullanılmaktadır. Örneğin mangan, bakır ve çinko fungusit; kurşun ve arsenik ise insektisitler için kullanılmaktadır (Doğan, 2005). Tarımda kullanılan gübreler de çevreye önemli miktarlarda ağır metal bırakmaktadır. Bunların en önemlileri nikel, civa, arsenik, kadmiyum ve bakırdır. Bu ağır metallerin toprağa ulaşması daha çok fosforlu gübreler ve bunların hammaddeleri ile gerçekleşmektedir (Köleli ve Kantar, 2006).

Fosforlu gübre eldesinde kullanılan ham fosfat kayalarında bulunan kadmiyumun %78-80'ni gübre yapımı için kullanılan ürünlere geçmekte böylelikle bu ürünlerin kullanımı ile Cd fosfor içeren gübreler aracılığı ile toprağa ulaşmaktadır (Saltalı, 2004).

Aşağıdaki çizelgede topraktaki ağır metal sınırları gösterilmiştir. *pH değeri 7'den büyük ise çevre ve insan sağlığına özellikle yer altı suyuna zararlı olmadığı durumlarda bakanlık sınır değerleri % 50'e kadar arttırılabilir. ** Yem bitkileri yetiştirilen alanlarda çevre ve insan sağlığına zararlı olmadığı bilimsel çalışmalarla kanıtlandığı durumlarda bu sınır değerlerin aşılmasına izin verilebilir (Toprak Kirliliğinin Kontrolü Yönetmeliği Resmi gazete, 10.12. 2001 – 24609).

Çizelge 5. Topraktaki ağır metal sınırları (http://www.simbiyotek.com/TOPIAK_KIRLILIGININ_KONTROLU_YONETMELIGI.htm, Resmi gazete, 10.12. 2001 – 24609)

Ağır metal	mg/kg Fırın Kuru Toprak (pH 5-6)	mg/kg Fırın Kuru Toprak (pH>6)
Kurşun	50**	300**
Kadmiyum	1**	3**
Krom	100**	100**
Bakır*	50**	140**
Nikel*	30**	75**
Çinko*	150**	300**
Civa	1**	1.5**

Toprakta kadmiyum birikiminin diğer sebeplerinden bir diğeri de arıtma çamurlarıdır. Arıtma çamurlarının tarımsal alanlarda kullanımları sırasında içeriklerinde bulunan zararlı elementlere dikkat edilmesi gerekmektedir. Arıtma çamurunun toprakta kirliletilik yaratması için 10 mg/kg değerinin üstünde bulunması gerekmektedir (Özbek ve ark., 1995).

Topçuoğlu ve ark., (2003) domates bitkisinin sera denemelerinde toprağa artan miktarlarda arıtma çamuru uygulamışlar ve bitkinin nikel, kadmiyum, bakır, magnezyum, demir, çinko, potasyum, azot, fosfor ve kalsiyum içeriklerini analiz etmişlerdir. Arıtma çamurunun içeriğindeki farklılık bitkinin mineral içeriğine yansımış ve arıtma çamurunun tekrarlı uygulamalarında bitkide daha yüksek mineral içerikleri saptanmıştır. Fakat arıtma çamurunun ikinci yıl uygulamalarında bitkide toksik etki ve gelişimde duraksamalara neden olduğunu belirtmişlerdir. Kurşun ve kadmiyum gibi ağır metallerin insan sağlığı için saptanan sınır değerlerin üzerine çıktığı belirtilmiştir.

Bu sebeplerle toprağa uygulanan arıtma çamurlarının uygulama süresi ve düzeyleri hususlarına dikkat edilmesi gerekmektedir. Düşük düzeyleri bitki gelişimi için olumlu olabilirken, yüksek düzey uygulamaları ise fazla ağır metal içeriği ve fitotoksik etkilere sebep olabilmektedir.

2.2.3. Endüstriyel faktörler

Ağır metallerin çevreye yayılmasında termik santraller, çimento üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleri, demir çelik sanayi gibi endüstriyel faaliyetler etkili olmaktadır. Örnek vermek gerekirse endüstriyel olarak kadmiyum zehirlenmesi; elektrokimyasal kaplamalar, kaynak yapımı sırasında kullanılan alaşım bileşimleri, kadmiyumlu piller,

kadmiyum içeren boyalar ile olur. Ayrıca kadmiyum gümüş kaynaklarda ve sprey boyalarda da kullanılmaktadır (Nurettin ve ark., 2007). Kullanım alanları sayesinde yayılımları ve etkileride artmaktadır.

Endüstriyel faaliyetler sonucunda açığa çıkan atık sular yüksek konsantrasyonlarda ağır metal içerebilmektedir. Ağır metal içeren atık suların arıtma işlemi gerçekleştirilmeden baraj, göl, akarsu veya denizlere bırakılması ile ekolojik denge için tehdit unsuru olabilmektedirler.

Endüstriyel atık suların içme suyuna karışması, ağır metallerle kirlenmiş partiküllerin tozlaşması yoluyla insanlar, hayvanlar ve bitkiler üzerinde etkili olmaktadır. Su ve toprak kaynaklarında hızlı endüstrileşme, gübre kullanımı ve pestisit kullanımına bağlı olarak oluşan bu toksik metal kirliliği ekosistemde dengesizlikle sonuçlanmaktadır (Mencik, 2006).

2.2.4. Eysel faktörler

Ağır metal kirliliğine sebep olan doğal süreçlerin, endüstriyel faaliyetlerin, tarımsal faaliyetlerin dışında insan kaynaklı sebepleride mevcuttur. Örneğin; evsel atık sularda özellikle temizlik maddeleri ağır metal kirlenmesine sebep olan faktörler arasında yer almaktadır (Alloway ve Ayers, 1993).

Günümüzde civa hala evsel atık içinde bulunabilmektedir. Özellikle termometrelerde, pillerde, floresan lamba, civalı anahtarlarda bulunmaktadır (<http://www.santes.com.tr/content.php?cid=79>). Kadmiyum elektronik eşyalarda (akümülatör), bazı boyalarda, kadmiyum sabitleştirilmiş plastiklerde bulunabilmektedir. İnsan yaşamını etkileyen önemli kadmiyum kaynakları su boruları, kahve, çay, kömür yakılması, kabuklu deniz ürünleri ve sigara dumanıdır (Nurettin ve ark., 2007).

2.3. Ağır Metallerin Bitkiler Tarafından Alınımı

Bitkiler topraktaki ağır metalleri alabilmek için onları hareketli forma getirmektedirler. Bitkiler toprağa bağlı metallerin hareketini farklı yollarla gerçekleştirebilmektedirler. Örneğin metal şelatlayıcı moleküller topraktaki molekülü çözmek ve şelat yapmak için rizosfere salgılanabilirler (Doğan, 2005).

Toprak partiküllerine bağlı halde bulunan metallerin alınımı köklerden rizosfere salınan metal şelatlayıcı moleküller, plazma membranına bağlı metal redüktaz ve proton salınımıyla gerçekleşmektedir (Salt ve Rauser, 1995). Bitkinin türüne ve metal tipine bağlı olarak, metal iyonları kökler tarafından ya apoplast ya da simplast yolla alınmaktadır

(Terzi ve Yıldız, 2011). Metal iyonlarının çoğu enerji gerektiren bir işlemle genel ya da spesifik iyon taşıyıcıları veya kanalları aracılığı ile bitki hücrelerine girmektedir (Bubb ve Lester, 1991).

Metal iyonları kök içine girdiklerinde ya depolanır ya da sürgünlere gönderilirler. Filizlere metal taşınımı muhtemelen ksilemle olur fakat metaller floem yoluyla da filizlere dağıtılabilirler (Stephan ve Scholz, 1993). Metal iyonları ksilem borularına girmek için önce kaspari şeridini geçmeleri gerekmektedir. Hücre dışı taşınma bloke olduğunda hücre duvarı şeridini geçmek için intraselüler hareket etmeleri gerekmektedir. Ksilem hücre duvarı yüksek proton değişim kapasitesine sahiptir bu da metal iyonlarının hareketini önemli ölçüde azaltabilmektedir ve kadmiyum sitrat gibi metal şelat kompleksleri metal hareketlerini kolaylaştırmaktadır (Doğan, 2005).

2.4. Ağır Metallerin Bitkiler Üzerindeki Etkileri

Su, toprak ve havada iz miktarlarda bile canlılar için tehlikeli olabilmektedirler. Esansiyel olsun ya da olmasın ağır metallerin yüksek konsantrasyonlar da bulunması canlılar için toksik etki yaratmaktadır ve bu guruba bakır, nikel, kadmiyum gibi metaller de dahildir.

Suda ki çözünürlükleri oldukça düşük olmakla beraber çok az miktarlarda bile zehir etkisi yaratan ağır metaller, kirlenmiş sularda metal, tuz, katyon ve kısmen anyon şeklinde bulunurlar (Ceran, 2004).

Çevre kirlenmesinde ve bitkisel yaşamda önemli sorunlara yol açabilen ağır metaller biyolojik döngü içerisinde en önemli zararlarını bitkiler üzerinde göstermektedir. Tohum çimlenmesi, çıkışı, fide büyümesinde ve gelişiminde sorunlar, çiçek ve meyve üretiminde azalma, biyokütlede azalma, ürün kalitesinde bozulma, verimde azalma ağır metallerin sebep olduğu zararlardan bazılarıdır. Bu etkilerinin dışında fotosentetik aktivitede sorunlar oluşturması, klorofil miktarının azalması, enzim sistemlerinde bozulmalara yol açması, bitkiler için faydalı olan diğer elementlerin alınımı engellemesi, azot döngüsü ve bağlanmasını olumsuz etkilemesi gibi zararlı etkiler de yaratmaktadır (Pandey ve Sharma, 2002; Taboada-Castro ve ark., 2002; Belimov ve ark.,2003; Peralta-Videa ve ark., 2004).

Kadmiyum, bitkiler için gerekli bir element olmamak ile birlikte toprakta kirliliğe sebep olan yüksek toksisiteye sahip bir elementtir. Doğal yollarla ve insan faaliyetleri sonucu yılda yaklaşık 2500 ton kadmiyum çevreye karışmaktadır. Endüstriyel faaliyetlerin (stabilizatör olarak, nikel kadmiyum pilleri, boya ve plastiklerde) atıklarından gelen kadmiyum genellikle toprakta depolanmaktadır. Diğer ağır metallere kıyasla toksik etkisi

20-30 kat daha fazladır ve bitki kökleri tarafından kolaylıkla alınabilmektedir. Bitkinin minerallerce beslenmesi ve bitki-su ilişkisini etkilediği bilinmektedir (Serhatlı, 2008). Ayrıca kadmiyum toksisitesinin ana hedefi bitki fotosentetik gaz değişimi ile bitkinin pigmentleridir böylelikle bitkinin fotosentez organlarının aktivitelerinin ve yapısal organizasyonunun hasar görmesini uyarmaktadır (Adriana, 1986).

Kadmiyum bitkinin azot ve karbonhidrat metabolizmalarını etkilediği için fizyolojik değişikliklere sebep olmaktadır. Fotosentezi engellemekte, stomaların kapanmasına, transpirasyon ile su kaybının azalmasına, klorofil biyosentezinin bozulmasına sebep olmaktadır ayrıca proteinlerin –SH gruplarındaki enzimleri inaktive etmektedir (Sheoran ve ark., 1990). Kadmiyumun klorofil biyosentezinde yer alan protoklorofil redüktaz ile aminolevulinik asit sentezini engellemesi klorofil biyosentezinin bozulmasının en önemli nedenidir (Zengin ve Munzuroğlu 2005).

Ağır metallerin hücre ve organelleri üzerine olan etkisi ağır metalden ağır metale ve hücreden hücreye geçişebilmek ile birlikte ağır metalleri benzer olan metabolizma içinde görevi olan eser elementlerin yerine geçerek eser elementlerle gerçekleştirilen işlemleri durdurduğu belirtilmiştir. Örnek vermek gerekirse; kadmiyum elektron dizilimi benzeyen çinko yerine geçerek hücre içinde kofaktör, koenzim görevlerinde sorun oluşturabilir. Bahsedilen konu Şekil 3’te gösterilmiştir (Güner, 2008).



Şekil 3. Seçici iyon kanalından madde geçişi (Güner, 2008).

Nikel ise bitkiler için hidrogenaz, üreaz enzimlerinin yapısında ve aktivitesinde yer alan azot metabolizması için gerekli olan temel bir elementtir. Çok düşük miktarlarda bitkiler için yararlıdır. Fakat artan endüstriyel faaliyetler, kimyasal ilaçlar, mineral ve organik gübreler ekolojik çevrede birikerek artmakta ve sonucunda olumsuz etkiler yaratmaktadır (Brown ve ark., 1987; Molas, 1997; Zornoza ve ark., 1999). Nikelin olumsuz etkileri hücre zarı geçirgenliğini azaltması, fotosentez ve solunumu engellemesi, fotosentetik elektron taşınımını engellemesi, protein sentezini, klorofil ve azot düzeyini

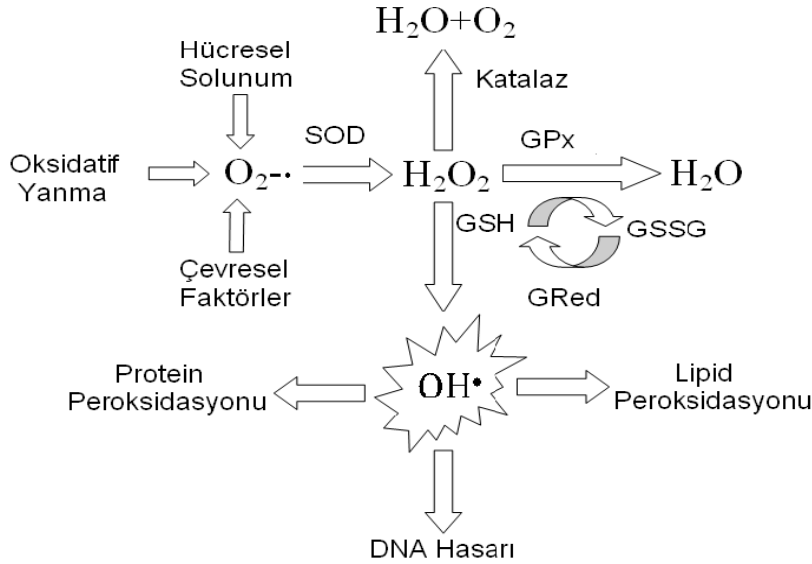
azaltması, hücrede peroksidaz ve üreaz aktivitesini düşürmesi, hücre su dengesini değiştirmesi gibi biyokimyasal ve fizyolojik olaylarda sorunlar oluşturmasından kaynaklanmaktadır (Brown ve ark., 1990; Pandolfini ve ark., 1992; Gajewska ve Skolodowska, 2005).

Bitki büyüme ve gelişimi için gerekli olan mikro besinlerden birisi de bakırdır. Fotosentez ve besinlerin kullanılabilir enerji haline dönüştürülmesinde gereklidir ve katalizör olarak işlevi vardır. Hem esansiyel hem de toksik bir elementtir. Fazlalığı kök hücrelerine zarar verir ve kökün uzamasını engeller, lipid peroksidasyonuna ve beraberinde membranların parçalanmasına yol açtığından klorozise (Keller ve Hammer, 2004), demir eksikliğine sebebiyet vermektedir (Ouzounidou ve ark., 1998).

Bakır membran proteinlerinin disülfidril gruplarına bağlanarak (Olson ve ark., 1978; Doncheva ve ark., 1996) ve reaktif oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunda artışa sebep olmakta ve membran permeabilitesini bozmaktadır. Pozitif yüklü metal iyonları, DNA (deoksiribonükleik asit) nın her iki zincirinde bulunan fosfat gruplarındaki negatif yüklü oksijen atomları ve bazların azot, oksijen gibi elektron donörü olan atomları ile reaksiyona girebileceği bildirilmiştir. Buna göre metaller DNA daki olası bölgelere direk ya da dolaylı bir şekilde bağlanabilmektedirler (Anastassopoulou, 2003). Metallerin DNA'ya bağlanması genellikle baz eşleşmesini gerçekleştiren hidrojen bağlarının kırılmasına ve çift zincirli yapının kararlılığının bozulmasına sebep olmaktadır, nükleik asitlerin konformasyonunda oluşan değişimlerde, metal iyonunun çeşidine bağlıdır (Theophanides, 1981; Yang ve Wang, 1996).

Ağır metaller gibi çeşitli kirleticilere maruz kalan bitkilerde oksidatif stres oluşmaktadır. Oksidatif stres, antioksidant savunması ile hücrelerdeki lipid peroksidasyonuna sebep olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak açıklanabilir (Şekil 4).

Ağır metallerin membran lipidlerini kapsayan biyomoleküllerde hasar oluşturarak oksidatif stresin oluşmasına neden olmaları hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin oluşumunu tetiklemektedir (Burzynski ve Klobus, 2004). Serbest radikaller süperoksit, nitrik oksit, hidroksil ve lipid peroksit gibi yapılardır ve en etkili serbest radikaller oksijenden oluşanlardır.



Şekil 4. Oksidatif stres (www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html, 2008; Aksoy, 2009).

Bitkiler oksidatif stres altında yaşamlarını sürdürebilmek için reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyon ve kontrolünü sağlayan antioksidanlara sahiptirler. Enzimatik olmayan ve enzimatik olan antioksidanlar olmak üzere iki gruptan oluşmaktadırlar. Enzimatik olmayan antioksidanlar; karetenoid, askorbik asit, tokoferoller (vitamin E), glutatyon ve fenolik bileşiklerdir. Enzimatik olan antioksidanlar ise; süperoksit dismutaz, peroksidazlar, katalazlardır (Büyük ve ark., 2012).

Son derece aktif ve birçok önemli hasara yol açan süperoksit radikali süperoksit dismutaz ile hidrojen peroksit'e çevrilir. Dokularda bulunan peroksidaz ve katalaz gibi enzimlerle süperoksitten daha az etkili olan hidrojen peroksit su ve oksijene çevrilerek zararsız hale getirilir (Dixit ve ark., 2001; Chaoui ve ark., 2004; Mercan, 2004).

Hidrojen peroksit çoğu metabolik yolun meydana getirdiği zararlı bir üründür. Meydana getirdiği zararı önleyebilmek için hızlı bir şekilde daha az zararlı olan diğer bir ürüne dönüştürülmesi gerekmektedir. Bitki dokusunda katalazın hidrojen peroksitin uzaklaştırılmasında önemli ölçüde rol aldığı düşünülmektedir (Patykowski ve Urbanek, 2003). Bununla birlikte hücrelerin tümünde bulunan peroksidazların aktivasyonu, hidrojen peroksitin yıkımında alternatif bir yoldur. Katalazın ağır stres koşullarından dolayı inaktive olması durumunda oluşan hidrojen peroksitin toksisitesi peroksidaz gibi antioksidan enzimlerle önlenmektedir. Peroksidazlar hidrojen peroksitin suya indirgenmesini ve elimine edilmesini sağlamak ile birlikte hidrojen peroksitin konsantrasyonunun düzenlenmesinde görev almaktadır. Böylelikle peroksidaz reaktif oksijen türlerinin

detoksifiye edilmesinde yer almaktadır (Koç ve ark., 2012).

Peroksidaz, hidrojen peroksit substratını kullanarak pekçok organik ve inorganik maddenin oksidasyonunu katalizleyen enzim grubudur. Çeşitli aromatik bileşikleri substrat olarak kullanarak metabolizmanın sonucunda meydana gelen hidrojen peroksiti etkisiz hale getirirler (Öztürk, 2002).

Peroksidaz aktivitesi pekçok araştırmacı tarafından stres işaretçisi olarak kullanılabilir. Çeşitli bitkilerde yapılan pek çok araştırmada bitkinin ağır metal alması sonucunda peroksidaz aktivitesinin hızlı bir şekilde artışa geçtiği belirtilmiştir (Chaoui ve ark., 2004). Maydonaz bitkisinde kadmiyum klorürün etkisi üzerine yapılan bir çalışmada 150 µM kadmiyum klorürün peroksidaz aktivitesini kontrol grubuna kıyasla iki katına çıkardığı tespit edilmiştir (Ulus, 2007).

Peroksidasyon sonucu meydana gelen malondialdehit gibi bileşikler, 4-hidroksi-nonenal gibi aldehitlerin aktiviteleri proteinlerle ve DNA ile çapraz bağlanarak moleküllerin faaliyetini değiştirmeleri şeklindedir (Griffiths ve ark., 2002). Lipid peroksidasyonunun etkisiyle membran akışkanlığı azalır, geçirimsiz olduğu (Ca⁺² gibi) maddelere karışı zayıflık oluşması, membran bağlı enzimlerin inaktivasyonu gibi durumlar oluşur (Doğan, 2005).

Reaktif oksijen (hidrojen peroksit gibi) türlerinin düşük konsantrasyonlarında ise sinyal molekülü görev yaparak savunma genlerini uyarır. Hidrojen peroksit gibi serbest radikallerin birikimi bitki dokusunda erken oluşan cevaplardan biri olarak kabul edilmekte ve büyük olasılıkla hipersentetif cevap ve sistemik kazanılmış direnci tetiklemede yer aldığı belirtilmektedir (Bolwell ve ark., 2002)

Ağır metal türü, konsantrasyonu ve uygulama sürelerine göre protein miktarında azalmalara sebep olabilmektedir. Protein miktarında azalma ağır metallerin proteinleri denatüre ederek enzimlerin inaktive olması, metallerin protein sülfidril gruplarına bağlanması ve bloke etmesi böylelikle proteinlerin normal formundaki bozulmalardan dolayı olabileceği rapor edilmiştir (Koç ve ark., 2012).

Pozitif yüklü ağır metaller enzimlerin aktif bölgelerinde bulunan ve enzimlerin aktivitelerinde önemli bir yeri olan sülfidril gruplarına bağlanarak enzim aktivitelerinin inhibisyonuna sebep olurlar. Aynı zamanda bazı ağır metaller enzimler için kofaktör olabilmektedir. Fakat yüksek dozlarda bulunan diğer ağır metaller kofaktör metallerin yerine geçerek enzimlerin aktivitelerini inhibe edebilmektedir (Ayhan, 2006). Rubisco'nun kofaktörü olan magnezyum yerine yüksek konsantrasyonlarda bulunan çinkonun geçtiği ve enzim aktivitesini inhibe ettiği saptanmıştır (Van Assche ve Clijsters, 1999).

Yapılan bazı çalışmalarda ağır metallerin DNA replikasyonunu engellediği, kromatid kırıklıklarına yol açtığı, inhibitör gibi görev yaparak hücre bölünmesi için gerekli olan protein sentezini engellediği ve böylelikle mitotik gecikmelere sebep olduğu belirtilmiştir. Ağır metal uygulamalarını doz ve zaman artışına bağlı olarak anomalilere ve mitotik indekste azalmalara sebep olduğu belirtilmiştir. Örneğin kadmiyumun DNA üzerinde oluşturduğu hasarlar, DNA sarmalında oluşan direk ya da dolaylı etkilerinden ileri geldiği belirtilmiştir. DNA proteininin çapraz bağlanması, DNA sarmalında kırılmalar, DNA'nın kendi onarma sisteminde sorunlara sebep olan oksidatif hasarlar meydana gelir (Serhatlı, 2008).

Ağır metallerin etkisiyle oluşabilen kromozom hatalarının çalışılmasında en çok kullanılan yöntemlerden biri en basit, eski ve ucuz olan bitki kök uçlarının incelenmesi yöntemidir. Kök ucu tekniği, bilhassa hatalara sebep olan çeşitli kimyasalların, ağır metallerin çalışılması için güvenilir ve uygun bir yöntemdir. Kadmiyum, nikel, bakır, alüminyum, çinko ve kurşun metal tuzlarının oluşturduğu sitogenetik etkilerin karşılaştırılarak incelenmesi için *Allium cepa* bitkisinin apikal meristem hücreleri üzerinde çalışma gerçekleştirilmiştir (Dovgaliuk ve ark., 2001).

Bitkilerin çeşitli fonksiyonlarını ve yapısını etkileyen ve ağır metalleride içeren bu stres faktörlerine karşı gösterdikleri toleranslar da farklılık göstermektedir. Bitkinin türü, stres faktörü, strese maruz kalma süresi ve maruz kalan doku ve organın yapısı bitki tarafından gösterilen toleransta etkili faktörlerdir. Bundan dolayı bitkilerin ağır metallere karşı nasıl tepkiler verdiğini ve nasıl savunma mekanizmaları geliştirdiğini saptamak önemlidir.

2.5. Ağır Metallerin Antioksidan Enzim Sistemleri ve Genotoksisite Üzerine Etkileri

Amirthalingam ve ark. (2013), *Vigna unguiculata* üzerine yaptıkları çalışmada kadmiyum klorürün 2, 4, 6, 8 ve 10 mM'dan (milimolar) oluşan farklı konsantrasyonlarında ki çözeltilerini 15 gün süre ile uygulamışlardır. Bu çalışmada uygulanan farklı konsantrasyonlardaki kadmiyum klorürün mitotik indekse etkisi ve genotoksik etkisini incelemeyi amaçlamışlardır. Kadmiyum klorürün artan konsantrasyonuna bağlı olarak mitotik indekste büyük azalmalara neden olduğunu ve komet testi ile genotoksik etkisinin arttığını tespit etmişlerdir. Kadmiyumun toksik etkisi altında reaktif oksijen türlerinin oluşumunda artış meydana geldiğini ve bu artışında DNA hasarına, kırıklıklara, fragment oluşumu, çeşitli aberasyonlar, mitoz bölünmeyi engelleme

ve mikronükleus oluşumuna sebep olduğunu saptamışlardır.

Kazemi (2012), 25 günlük yaşlı domates fideleri farklı konsantrasyonlarda nikel klorür ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0, 250 ve 500 μM (mikromolar) ve sodyum nitroprussit 0 ve 100 μM olacak şekilde 10 gün süre ile maruz bırakılmıştır. Nikel birikiminin gövde ve kök arasında kıyaslama yapıldığında kökte daha fazla biriktiği, kök ve gövde kuru ağırlığında aynı zamanda yaprakların klorofil II içeriğinde azalmalara sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Nikel uygulanmış bitkilerde antioksidant enzim aktivitelerini analiz etmişlerdir. Aynı zamanda nikel uygulanmış bitkilere nitrik oksit uygulaması gerçekleştirerek bitkideki nikel translokasyonunu, bitki gelişimi ve klorofil içeriğini incelemişlerdir. Ek olarak nikel uygulanmış bitki yapraklarında nitrik oksit uygulanmasının antioksidan enzim aktivitesini arttırdığını, lipid peroksidasyonunu, prolin ve hidrojen peroksit düzeylerini azalttığını belirtmişlerdir.

Koç ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada biber (*Capsicum annuum* L.) fidelerinde çinko klorürün farklı konsantrasyonlarının bitki yapraklarında hidrojen peroksit, peroksidaz aktivitesi ve total protein içeriğine etkisini incelemişlerdir. Bitkilere 48 saat aralıklarla 6 gün boyunca 1, 10 ve 50 μM çinko klorür uygulamalarını gerçekleştirmişler ve sonucunda bazı fizyolojik olayların çinkodan etkilendiğini belirlemişlerdir. Bitki protein içeriğinde azalmalar ve peroksidaz içeriğinde artışlar saptamışlardır.

Rave ve ark. (2012), gerçekleştirdikleri çalışmada kadmiyumun artan konsantrasyonlarının bitkinin vejetatif ve reproduktif gelişimini olumsuz yönde etkilediğini, sitokin içeriğini azalttığı, çiçeklenme ve meyve gelişimini inhibe ettiği ve oldukça zararlı olduğunu belirtmişlerdir.

Morsy ve ark. (2012), alçıtaş fabrikası civarında ve bu bölgeden yaklaşık 25 km uzaklıkta yaşayan *Zygophyllum* türlerinde topraktaki ağır metal konsantrasyonu ve bitkilerin büyümeleri, gelişmeleri üzerine ağır metallerin etkilerini analiz etmişlerdir. Ağır metal kirliliğinin olduğu bu çevrede her iki çeşit içinde sürgünlerde ağır metal konsantrasyonu ve lipid peroksidasyonunda artış gözlemlenmiştir. Bu koşullar altında her iki bitki için katalaz aktivitesi, askorbat oksidaz, guaiacol peroksidaz, süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz aktivitelerini saptamışlardır. Toprak kirliliği sonucu *Z. album* ve *Z. coccineum* türlerinde plasma membran toplam lipid, fosfolipid, glikolipid içeriklerini incelemişlerdir. Antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki artışın *Z. coccineum* türüne göre *Z. album* türünde (*Z. album* türünde daha fazla olan oksidatif stresi azaltmak için) daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. İki bitki türünde de topraktaki ağır metal kirliliğinden oluşan oksidatif stresle temizleme sistemlerinin üretimi aracılığıyla mücadele ettiklerini

bildirmişlerdir.

İşeri ve ark. (2011), *Lycopersicum esculentum* Mill. ve *Cucumis sativus* L. türlerinde bakır tarafından indüklenen oksidatif hasar ve antioksidant cevap üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. Yapılan çalışmada 7 gün aşırı dozda bakır sülfata maruz bıraktıktan sonra bitkilerin lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit düzeyleri, askorbat peroksidaz ve katalaz aktivitelerini belirlemişlerdir. Ek olarak iki bitki türünde de comet test yöntemiyle mikronukles sıklıkları ve kuyruk momentlerini ölçmüşler ve DNA hasarını değerlendirmişlerdir.

Pourrout ve ark. (2011), *Vicia faba* türünün kök hücrelerinde kurşunun (0; 1; 5; 10 ve 20 μM) farklı konsantrasyonlarının etkilerini analiz etmişlerdir. Kurşun tarafından uyarılan DNA kırıklarını comet testi ile kromozom aberasyonlarını mikronukleus testi ile analiz etmişler. Verilerinde DNA fragmantasyonun doza bağlı olarak indüklenmesi ve mikronukleus oluşumlarının uyarılması bu metalin genotoksik karakterini gösterdiğini belirtmişlerdir. Kurşunun DNA ile direk ilişkisini değerlendirmişler ve DNA kırıklıkları ile kurşunun DNA üzerinde direk etkisini bağdaştırmamışlardır. Kurşun genotoksitesisi ve oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştırmak için, *V. faba* türünün antioksidan vitamin E ve NADPH (nikotinamid adenin dinükleotit) oksidazların varlığında ve yokluğunda kurşuna maruz bırakmışlardır. Çalışmalar ışığında kurşun tarafından indüklenen kromozom aberasyonları, reaktif oksijen türleri ve DNA kırıklıkları arasındaki ilişkiyi analiz etmişlerdir.

Khadijeh ve ark. (2011), bezelye üzerinde kadmiyumun kök-gövde kuru ve taze ağırlığı, tohum çimlenmesi, protein içeriği ve peroksizdaz aktivitesini kapsayan bazı biyokimyasal ve fizyolojik süreçler üzerine etkisini analiz etmek için 5, 10, 20, 50 ve 100 μM kadmiyum klorürün farklı konsantrasyonlarını uygulamışlardır. Tohum çimlenmesi üzerinde kayda değer bir etki göstermezken, özellikle 50 ve 100 μM uygulamalarında büyüme oranını önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Kadmiyum uygulanmış bitkilerin yapraklarında klorozis ve solma gözlemlenmiştir. Özellikle kadmiyumun yüksek konsantrasyonlarında protein içeriğinde oldukça azalma gözlemlenmiştir. Kadmiyum klorürün düşük konsantrasyonları hem kök hem de sürgünlerde yüksek peroksizdaz aktivitesi ile sonuçlandığı yaptıkları çalışmada bildirilmiştir.

Rehman ve ark. (2011), yaptığı çalışmada 10 gün arayla 2 kez çiçelenme öncesi ve 2 kez çiçeklenme sonrasında oluşan 4 uygulama ile 10; 20; 30 ve 40 mg (miligram) kadmiyumu domates bitkilerine (*Lycopersicon esculentum*) uygulayarak üreme ve vejetatif evrelerini incelemişlerdir. Tüm dozlara karşı büyüme parametrelerinin duyarlı olduğunu,

bitki biyokütlesinde azalma, yaprak sayısı ve alanında azalma, total klorofil II içeriğinde artış saptamışlardır.

Sbartai ve ark. (2011), domates bitkisine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki çinkonun bitkide birikimi ve uyarılan cevabı değerlendirmişlerdir. Temel besin çözeltilisinde yetiştirilen domatese artan konsantrasyonlarda (0, 50, 100, 250 ve 500 μM) çinko sülfat 7 gün uygulanmıştır. Düşük konsantrasyonlarda (50 ve 100 μM) ve daha yüksek konsantrasyonlarda (250 ve 500 μM) çinkonun klorofil II miktarını etkilerini incelemişlerdir. Diğer yandan çinko uygulanması özellikle yüksek konsantrasyonları da enzimlerin (katalaz, askorbat peroksidaz, glutatyon S-Transferaz) aktivitesini nasıl etkilediğini saptamaya çalışmışlardır. Çinko uygulamalarının özellikle yüksek konsantrasyonlarda enzim faaliyetlerini indüklediğini belirtmişlerdir. Son olarak çinko birikimi yapraklara nazaran köklerde daha fazla biriktiğini belirtmişlerdir.

Akıncı ve Akıncı (2011), aşırı nikelin ıspanakta (*Spinacia oleracea*) çimlenme ve erken fide döneminde bazı büyüme parametrelerine etkilerini incelemişlerdir. Nikelin çimlenme aşamasında 0, 25, 50, 100, 200, 400 ve 800 mg L^{-1} ve erken fide döneminde 0, 2,5, 5, 10, 20, 40 ve 80 mg L^{-1} konsantrasyonlarını bitkilere uygulamışlardır. Nikel radikula hipokotil gelişimi, çimlenme ve su içeriği için çimlenme aşamasında 25 mg L^{-1} , erken fide aşamasında 2,5 mg L^{-1} konsantrasyonlarında uyarıcı, daha yüksek konsantrasyonlarda engelleyici etkisi olduğunu saptamışlardır. Gerçekleştirdikleri çalışmada nikelin fide aşamasına göre çimlenme aşamasında daha yüksek konsantrasyonlarda toksik etkisi olduğunu ve bu durum için tohum kabuğunun bariyer görevi yapmasının etkili olabileceğini belirtmişlerdir.

Nikelin 0, 100, 200, 400 ve 800 μmol artan dozlarına bağlı olarak turpta 48 saat sonunda çimlenmenin olumsuz yönde etkilendiği bildirilmiştir (Espan ve ark., 1997). Yulafta nikelin düşük dozlarının çimlenmeyi uyarıcı etkisinin olduğu fakat artan dozlarında geriletici etkisi olduğu rapor edilmiştir (Peralta ve ark., 2001).

Akıncı ve Çalışkan (2010), yaptıkları çalışmada nikelin 0, 25, 50, 75, 100, 200, 400, 800, 1600 ve 2000 mgL^{-1} dan oluşan farklı dozlarının biber, domates, patlıcan, kavun, karpuz, hıyar, kabak fasülye, bamya ve mısır tohumlarında çimlenme indeksi, çimlenme oranı, ortalama çimlenme süresi, yarı çimlenme süresine etkileri üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çimlenme kabiliyetlerine ve çimlenme sürelerine göre hangi dozlardan itibaren bitkiler için olumsuz etkiler yaratmaya başladıklarını saptamışlar. Nikel içeren ortamda domates ve karpuz diğer bitkilere göre daha toleranslı bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda egzoz gazının çevre kirliliğinin %60 ını oluşturduğu ve atmosfere zararlı gaz ve partikül halinde maddeler bıraktığı belirtilmiştir. Bu maddeler arasında nikel, kadmiyum, kurşun ve civa gibi ağır metallerinde olduğu bildirilmiştir (Bingöl ve ark., 2010).

Ağır metalleri de içine alan çevresel stresler oksidatif stresin ana nedenidir. Ağır metallerin bitkilerde birikimi ile hücre fonksiyonları ve bitki büyümesinde sorunlar oluşturmaktadır. Kim ve ark. (2010), kadmiyum, bakır ve çinko ağır metallerinin artan konsantrasyonlarını besin solüsyonu içerisinde yer elmalarına uygulamışlardır. Her metal için doza bağlı olarak metal içeriği arttığını ve bitki büyümesinin azaldığını, yapraklarda ve köklerde hidrojen peroksit oluşumunun metal dozu ile pozitif ilişkisi olduğunu saptamışlardır. Peroksidaz (POD) aktivitesini ve 13 POD geni analiz etmişler ve ağır metallere tepkide POD'ların ekspresyonlarının nasıl değişim gösterdiğini incelemişlerdir. Artan ağır metal konsantrasyonuna bağlı olarak hidrojen peroksit ile POD aracılı antioksidan savunma kapasitesi arasındaki ilişkiyi belirlemişlerdir.

Farklı bitki türleri için yapılan çalışmalarda ağır metal tarafından indüklenen oksidatif stresin artan antioksidan enzim aktivitesi ile azaltıldığı belirtilmiştir (Rucinska ve ark., 1999; Ciemense, 2001; Candan ve Tarhan, 2003; Zembala ve ark., 2010).

Artmış olan oksidatif savunma sisteminin farklı stres koşullarında toleransla bağlantılı olduğu rapor edilmiştir. Böylelikle bitkinin olumsuz çevre koşullarında normal bir şekilde perfonmasını devam ettirdiği belirtilmiştir (Mittler, 2002; Candan ve Tarhan, 2003; Zembala ve ark., 2010).

Ayup ve ark. (2009), tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada 10, 20, 30 ve 40 mg kadmiyum ve nikeli *Cichorium intybus* türüne uygulamışlar ve büyümeyi azalttıklarını tespit etmişlerdir. Klorofil II içeriği ve total bitki kuru ağırlığının kadmiyuma nikelden daha duyarlı olduğunu saptamışlardır.

Padureanu (2009), kurşun nitratın *Lycopersicum esculentum* Mill. hücre bölünmesi üzerine etkisini belirleyebilmek için %5, %1, %0.1'den oluşan 3 farklı konsantrasyonu 2 ve 4 saat uygulamıştır. Artan süre ve konsantrasyona bağlı olarak kromozomlara, bölünmeye ve mitotik indeks üzerine etkilerini incelemiştir

Ulus (2007), yaptığı çalışmada maydanoz (*Petro selinum hortense* Hoffm) bitkisini üç ay kontrollü ortamda yetiştirdikten sonra 75, 150 ve 300 µM kadmiyum klorürü 15 gün süre ile uygulamış ve katalaz, peroksidaz, askorbat peroksidaz enzim aktivitelerini tayin etmiştir. Ek olarak hidrojen peroksit, total klorofil, total fenolik madde, karetenoid, protein ve prolin miktarlarını saptamıştır.

Yayınlanan bazı çalışmalarda bakır ve kadmiyum stresinin bezelye, biber ve salatalıkta fosfolipid, glikolipid ve sterollerde azalmalara yol açtığını göstermiştir (Quartacci ve ark., 2000; Jemal ve ark., 2000; Janicka ve ark., 2008).

Yağ asitlerinin doygunluk derecesinde artma farklı çevre koşullarında plasma membranının tipik bir reaksiyonu olarak belirtilmiştir. Ek olarak membran lipidlerindeki bazı değişimler farklı çevresel streslere adaptif cevap olarak rapor edilmiştir (Devi ve Prasad, 1999; Mansour ve ark., 1994, 2002, 2003; Mansour ve Salama, 2004; Nouairi ve ark., 2006, Ben Ammar ve ark., 2007; Salama ve ark., 2007).

Zengin ve ark. (2006), civa klorür uyguladıkları ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fidelerinin prolin, klorofil ve toplam çözünebilir protein içeriklerini analiz etmişlerdir. 0,03, 0,05 ve 0,07 mM konsantrasyonlarında civa klorürde büyümeye bırakmışlar ve 17 gün sonra fidelerin toplam çözünebilir protein, prolin ve klorofil içeriklerini tespit etmişlerdir. Fidelerin yapraklarında, prolin içeriklerinde artma, klorofil (a+b) ve protein miktarında azalmalar saptamışlardır.

Kösesakal (2005), çinkonun farklı konsantrasyonlarının domatesin çimlenmesi ve büyümesi üzerine etkisini araştırmıştır. Çinko içermeyen Hoagland solüsyonu ve 1, 3, 5 ve 7 mM çinko klorür içeren Hoagland solüsyonlarına maruz bırakılan tohumları çimlenme ve gelişme aşamalarında gözlemlenmişlerdir. Düşük konsantrasyonu (1mM), çimlenmeyi teşvik ederken artan konsantrasyonlarının (3, 5 ve 7 mM) çimlenmeyi inhibe ettiğini bildirmiştir. Tohum çimlenmesi üzerine çinko eksikliğinin belirgin bir etkisi olmadığını fakat kök ve hipokotil büyümesinde ise hem çinko eksikliği hemde 3; 5; 7 mM çinko klorür varlığında inhibe söz konusu olduğunu bildirmiştir. Bilhassa çinko eksikliği ve fazlalığının (3, 5 ve 7 mM çinko klorür) olduğu koşullarda peroksidaz aktivitesinde artış gözlemlenmiştir.

Chaffai ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada mısır fidelerini hidroponik besin solüsyonunda yetiştirmiş ve 100 µM bakır sülfat ile kadmiyum nitrat uygulamışlardır. Bakır ve kadmiyumun lipid kompozisyonu ve bitki büyüme parametreleri üzerinde etkilerini çalışmışlardır. Çalışma sonucunda bakırın bitki taze ve kuru ağırlığının ayrıca su içeriğinin azalmasında kadmiyuma göre daha etkili olduğunu saptamışlardır. Bakırla kadmiyum karşılaştırıldığında, kadmiyumun daha hareketli (translokasyon) olduğu saptanmıştır.

Demir, mangan, molibden, nikel, bakır ve çinko bitkilerde büyüme ve metabolik işlevler için gerekli mikrobeyinlerdir. Kadmiyum, krom, kurşun ve civa gibi ağır metaller

ise gerekli değildir ve oldukça toksik etkileri vardı. Ağır metaller solunum, fotosentez, gibi fizyolojik prosesleri, mineral beslenme ve bitki su ilişkisini etkiler (Vangronsveld ve Clijsters, 1994; Zornoza ve ark., 2002).

Hücrel membran hasarları özellikle plazma membran hasarı bitkilerde ağır metal toksisitesinin birincil olaylarından birisidir (Harwood 1995; Janicka ve ark., 2008). Ağır metallerin hücrel membranların yapılarını bozmaları doymamış yağ asitlerinin küçük hidrokarbon fragmentlerine dönüşmesi (malodialdehit gibi) ile sonuçlanır (Tappel, 1973; Kappus, 1985).

Demir ve bakır gibi geçiş metalleri serbest radikaller aracılığı ile lipid peroksidasyonu reaksiyonlarının çoğunun başlamasında rol alır (Doğan, 2005).

Ağır metaller hücre içinde biriktikleri zaman detoksifiye edilmeleri gerekmektedir. Detoksifiye edilmeleri metale bağlı olan şelatlanma, sınırlama ve çöktürme şeklinde olabilir (Thurman, 1981).

Kurşuna maruz bırakılan *Brassica juncea* türünün köklerinde fitoşelatinlerin üretildiği, fitoşelatinlerin kurşunun detoksifiye edilmesiyle ilgili olabileceği belirtilmiştir (Salt ve Rauser, 1995).

Birçok araştırmacı tarafından ağır metallerin DNA üzerindeki etkilerini incelemek için rastgele arttırılmış polimorfik DNA tekniği kullanılmıştır (Atienzar ve ark., 2001; Liu ve ark., 2009). Gerçekleştirilen çalışmalar kapsamında ağır metal konsantrasyonunun artışına paralel bir şekilde PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ürünlerindeki polimorfizm oranının arttığı tespit edilmiştir.

Ewais (1997), kadmiyum, nikel ve kurşunun otsu bitkiler üzerinde protein ve klorofil içerikleri ile büyüme üzerindeki etkisi ile ilgili araştırma gerçekleştirmiştir. Araştırma kapsamında her üç metalinde dozlarının artışına paralel olarak sürgün hacmi, kök uzunluğu ve bitki ağırlığı üzerine olumsuz etkiler yarattığını saptanmıştır. Klorofil ve pigment miktarları üzerinde en olumsuz etkiyi nikelin gösterdiğini belirtmiştir.

Doğan (2005), *Ceratophyllum demersum* L. türünde kadmiyum klorür, sodyum klorür ve kombinasyonlarının fizyolojik ve morfolojik etkileri üzerine çalışma gerçekleştirmiştir. Çalışma kapsamında sodyum klorür (0, 20, 40 ve 80 Mm) ve kadmiyum (0, 0,01, 0,1 ve 1 mg L⁻¹) ile kombinasyonlarının (0; 0,01+20, 0,1+40 ve 1+80 mg L⁻¹) etkisine 96 saat maruz bırakılan *C. demersum* L. türünde meydana gelen morfolojik ve fizyolojik değişimler incelemiştir. Makrofitin makro ve mikro nutrient derişimlerinin kadmiyum ve sodyum klorürden etkilendiği gözlemiştir. Sodyum klorür, kadmiyum ve kadmiyum+sodyum klorür uygulamalarının düşük konsantrasyonlarında

önemli ölçüde morfolojik değişikliklere sebep olmadığını, yüksek konsantrasyonlarda ise kısmi doku yumuşaması ve yapraklarda dökülmeler meydana geldiğini saptamıştır. Özellikle yüksek konsantrasyonlarında toplam çözülebilir karbonhidrat ve glikoz miktarlarında azalmalara neden olduğunu ayrıca aminoasitlerden sistein ve prolin miktarlarında artışlar olduğunu belirtmiştir. Bu artışın sodyum klorür ve kadmiyum toksisitesine yanıtta etkili olduğunu belirtmiştir. Kadmiyum klorür ve sodyum klorür stres faktörlerinden kaynaklanan, membranlarda oksidatif hasar ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunda artış olduğunu tespit etmiştir.

Nepovim ve ark. (2004), turpta ağır metal toksisitesi (0,1 mM ve 0,5 mM) ile birlikte çeşiti enzimlerde oluşan değişiklikler üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarında 0,5 mM kadmiyum, nikel ve kurşun uygulamalarında peroksidaz aktivitelerinin azaldığını saptamışlardır.

Quariti ve ark. (1997), tarafından yapılan çalışmada, 0-50 mM kadmiyum klorür içeren besin çözeltilerini 7 gün süre ile domates ve fasülye bitkilerine uygulamışlardır. Çalışmalarında kadmiyumun sürgün ve kök kuru ağırlık üzerinde baskılayıcı etkilerinin olduğunu gözlemlenmiş ayrıca bitkilerin kök ve yapraklarında nitrat redüktaz aktivitesinde azalmalar kaydedilmiştir.

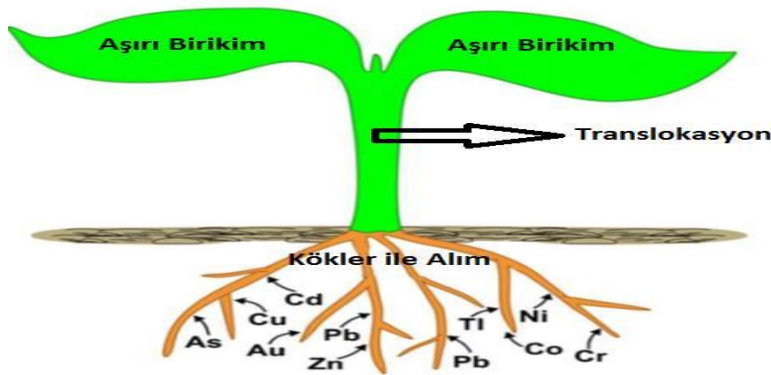
Yüksek konsantrasyonda kadmiyumun bitkilerde birikimi bitki büyüme ve gelişimini enzim aktivitelerini indirgeme (Van Assche ve ark., 1990; Quarili ve ark.,1997), fotsentezde sorunların oluşması (Vassilev ve Yordanov, 1997), stomaların kapanması (Barcelo ve Poschenrieder, 1990) ve besin alımının engellenmesi (Sanita di Toppi ve Gabbrielli, 1999) gibi çeşitli yollarla müdahale etmektedir.

Palacios ve ark. (1998), domates bitki besinleri, kök, gövde ve meyve kuru ağırlığı üzerine nikelin etkilerini araştırmıştır. Yapılan çalışmada bitkiler 5, 15, 30 mg L⁻¹ nikel içeren ortamlarda büyütülerek, farklı büyüme aşamalarında kök, gövde, meyve ve dallanmaları analiz edilmiştir. Besin ortamında nikel varlığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bitki gelişimini nikel varlığının etkilediği ve kuru ağırlıkta oldukça azalma gerçekleştiğini belirtilmişlerdir. Bu indirgenmenin gerekli mineral elementlerde dengesiz ve bozukluklardan dolayı olduğu, bu besinlerin absorpsiyon ve birikiminde azalmalar olduğunu, nikel alımının potasyum alımı ile pozitif, sodyum alımı ile negatif etkileşimi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmada yüksek dozlarda nikel alımı magnezyum, demir, mangan, bakır, çinko gibi divalent katyonların alımını oldukça azalttığını gözlemlenmiştir.

Lemna minör türü kadmiyum ve kurşuna maruz bırakılmış, katalaz ile proteaz aktivitelerinin azaldığı, peroksidaz aktivitesinde ve protein miktarında değişiklikler olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca prolin miktarında artış ve klorofil II pigment içeriğinde azalma saptanmıştır. Proteaz ve katalaz enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanan metal iyonlarının enzim aktivitesini engellediği belirtilmiştir (Mohan ve Hosetti, 1997).

Çinko toksisitesinin bitkilerde hücre bölünmesine zarar vererek meristematik kök hücrelerinin çekirdeğinin hasarlı olmasına neden olduğu bildirilmiştir (Bobak, 1985).

Ağır metal kirliliği insan sağlığı ve çevre üzerine birçok olumsuz etkisi olan çevre sorunudur. Toksik elementlerin uzaklaştırılması için fiziksel remediasyon teknolojileri kullanılmaktadır. Çevreyi tahrip edici bu yöntem alternatif olarak bitkilerin ağır metallerin uzaklaştırılmasında bitkilerin kullanıldığı, çevre dostu ve ucuz olan fitoremediasyon tekniği görülmektedir. Bazı bitkiler potansiyel ağır metal detoksifikasyonu sahiptir ve metal stresi altında canlılıklarını sürdürebilmektedirler. Metal hiperakümülatörü olan bu bitkiler, gövde dokularında yüksek konsantrasyonlarda metal iyonlarını biriktirmekte ve detoksifiye edebilmektedir. Moleküler genetik teknolojileri bitkilerde ağır metal toleransı ve birikimi ile ilgili mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Metallerin alınımı, taşınımı ve içsel alıkonma ile ilgili bitkilerin modifiye edilmesi için genetik mühendisliğinin kullanılması fitoremediasyon tekniğinin etkinliğinin artması için yeni yollar açmaktadır. Metal taşıyıcıları metal şelatlayıcılar, metalotiyonein ve fitoşelatin genleri metal alınımı ve içsel alıkonma kapasitesinin artırılması için bitkilere transfer edilmektedir (Terzi ve Yıldız, 2011). Aşağıdaki şekilde metallerin bitkiler tarafından alınımı gösterilmiştir (Rascio ve Navari- Izzo, 2011).



Şekil 5. Bitkilerde ağır metal birikimi (Rascio ve Navari- Izzo, 2011).

BÖLÜM 3**MATERYAL VE YÖNTEM****3.1. Bitkisel Materyal**

Araştırmamızda bitkisel materyal olarak *Solanaceae* familyasından *Lycopersicum esculentum* Mill. türünün, invictus çeşidi kullanılmıştır (Şekil 6). Çeşide ait olan özellikler Çizelge 6’da verilmiştir. Araştırmada kullanılan sertifikalı domates tohumları Toros Tarım Ticari firmasından temin edilmiştir.



Şekil 6. *Lycopersicum esculentum* Mill. invictus (<http://tektarim.com.tr/?sayfa=urunayrinti&tur=tohumlar&kategori=domates&icerik=domates&no=275>).

Çizelge 6. *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* özellikleri (Özbay ve ark., 2012)

Gözlemler	Invictus
Habitus	Büyük
Yetiştirme Şekli	Yatık
Büyüme Özelliği	Bodur
Erkencilik	Orta Erkenci
Dilimlilik	Dilimsiz
Meyve Şekli	Yuvarlak
Lokus Sayısı	4-5
Çekirdek Evi Doluluğu	Dolu
Tohum Oluşumu	İyi
Çatlama	Yok
Yeşil Omuz	Yok
Sap Çukuru Genişliği	Orta
Çiçek Burnu Çürüklüğü	Yok

3.1.1. Kimyasallar

Araştırmamızda kullanılan ağır metaller Fakültemiz Kimya Bölümünden temin edilmiştir. Ağır metallerin yanı sıra sodyum asetat, pyrogallol, hidrojen peroksit, ortofosforik asit, brillant-blue G-250, bovine-serum albümin (BSA), etil alkol, asetik asit (Glasiyel) (Sigma 27225), asetoorsein, bakır klorür, nikel klorür, kadmiyum nitrat kimyasalları kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri

Porselen havan, mikropipet, ependorf tüpü, mikropipet ucu, kurutma kağıdı, lam, lamel, beher, quart spektrofotometre küveti, viyol, cam şişe.

3.2. Yöntem

3.2.1. *In vivo* yetiştiricilik

L. esculentum Mill cv. *invictus* varyetesine ait tohumlar 42'lik viyollere (7,5x5,5 cm) her bir viyole 2 tohum gelecek şekilde ekilerek bitki yetiştirme odasında kontrollü koşullar altında (16/8 fotoperiyot, 25±2°C, 28.000 lüks) 10 hafta boyunca fidelerin büyümeleri gerçekleştirilmiştir. Denemeler tesadüf parselleri deseni uyarınca her tekrarda 84 bitki olacak şekilde 3 tekrarlı kurulmuştur. Bitkiler düzenli olarak iki günde bir eşit miktarda saf su ile sulanmıştır.

Araştırma materyali olarak kullanılan *in vivo* koşullarda yetiştirilmiş domates fidelerine ait fotoğraflar Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7. *In vivo* koşullarda yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. fideleri.

3.2.2. Ağır metal çözeltilerinin hazırlanması

Araştırmamızda kullanılan ağır metaller kayıklar içerisinde alınarak tartıma hazır hale getirilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Ağır metaller.

Nikel klorür ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi 500 mL/1 g olacak şekilde stok çözelti halinde hazırlanmıştır. 10, 20, 30 ve 40 ppm'lik dört farklı çözelti 1000'er ml olacak şekilde saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Bakır klorür (CuCl_2) çözeltisi için 500 mL/1.25 g olacak şekilde stok çözelti hazırlanmıştır. 12,5, 25, 50 ve 100 ppm'lik dört farklı çözelti 1000'er ml olacak şekilde saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Kadmiyum nitrat (CdNO_3) $_2$.4H $_2$ O çözeltisi için 500 mL/1 g olacak şekilde stok çözelti hazırlanmıştır. 10, 20, 30 ve 40 ppm'lik dört farklı çözelti 1000'er ml olacak şekilde saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2.3. Ağır metal çözeltilerinin uygulanması

Bitkilere ağır metal uygulaması her grupta 10 bitki olacak şekilde üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Böylelikle her bir ağır metal çeşidine ait dört farklı konsantrasyon uygulaması (Çizelge 7) sırasında kontrol grubu da dahil olmak üzere her bir seride 50 bitki kullanılmıştır. 10 haftalık fideler sabah saatlerinde üçer gün ara ile üç defa farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan ağır metal çözeltileri ile sulanmıştır.

Çizelge 7. Araştırma kapsamında kullanılan ağır metaller

Ağır Metaller	Uygulanan Dozlar			
CuCl_2	12.5 ppm	25 ppm	50 ppm	100 ppm
$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10 ppm	20 ppm	30ppm	40 ppm
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10 ppm	20 ppm	30 ppm	40 ppm

3.2.4. Kök ucu eldesi

Ağır metal çözeltisi uygulanmış tüm fidelerin kök uçları zedelenmeyecek şekilde alınıp saf su içerisinde bekletilerek topraktan ve perlitten arındırılmıştır.

- Alınan kök uçları ön işlem amacıyla 8-hidroksikinolin içinde 3-4 saat oda sıcaklığında ağzı açık bir şekilde bekletilir.
- Kök uçları fiksasyon için 3:1 oranında alkol-glasiyal asetik asit içeren fiksatif içerisine konular ve incelenecek preparatlar hazırlanıncaya kadar buzdolabında bekletilir (+4 °C).
- Fikse edilmiş kök uçları 1N HCl (hidroklorür) içerisinde 60 °C de masere edilir ve ardından saf suda arındırılır.
- Bitki kök uçlarının lam üzerinde daha koyu boyanmış kısımlarından yaklaşık 2 mm kesilir. Üzerine asetoorsein damlatılarak lamel kapatılır. Kök ucu ezilerek hücrelerin tek bir tabaka halinde dağılması sağlanır ve mikroskopta analiz edilir.

3.2.4.1. Kök uçlarının analizinde kullanılan çözeltilerin hazırlanması**8- hidroksikinolin:**

200 ml sıcak saf su içerisinde 0.058 g 8-hidroksikinolin eritilir.

Renkli bir şişe içerisinde serin bir yerde saklanarak uzun süre kullanılabilir.

Farmer Fiksativ:

3 kısım %96 lık etil alkol: 1 kısım glasiyal asetik asit.

1 N HCl:

9 ml distile su: 1 ml HCl

Asetoorsein:

55 mL saf su ile 45 ml glasiyal asetik asit karıştırılarak % 45' lik asetik asit hazırlanır.

100 mL % 45' lik asetik asit bir cam balona konur ve bu cam balon bir su banyosuna yerleştirilir. 10 dk ısıtılır ve % 45' lik asetik asit sıcaklığının kaynayan suyun derecesine gelmesi sağlanır. Kabarıp taşmayı önlemek için asit büyük bir balonda ısıtılmalıdır.

1 g toz orsein alınır ve kaynayan asit içerisine yavaşça konur. Bir taraftan da bir cam çubuk yardımı ile karıştırılır. 10 dk ısıtmaya devam edilir ve karıştırılır. Boya soğutulur ve başka bir kaba yavaşça aktarılır. Dibe çöken tortunun boyaya karışmamasına dikkat edilir. İstenirse 2 damla ferrik asetat damlatılabilir.

12 saat bekletilir ve boya süzülür. Boya koyu renkli bir şişe içerisinde buzdolabında saklanır.

3.2.5. Protein ve enzim analiz yöntemi

Protein analizi (1976) Bradford yöntemine göre gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.1. Analizler için gerekli solüsyonlar**3.2.5.1.1. Sodyum asetat tamponunun hazırlanışı**

- 250 ml saf su içerisine 1,774 g Na_2HPO_4 eklenir ve manyetik karıştırıcıda çözününceye kadar karıştırılır.
- Ardından pH 6,2 – 6,5 arasında ayarlanır.
- Sodyum asetat tamponu 1 hafta kadar +4 C°'de saklanabilir.

3.2.5.1.2. Protein reagent brilliant blue G-250'nin hazırlanışı

- 50 mg G-250 tartılır, üzerine 25 ml %95'lik etanol manyetik karıştırıcıda oldukça yavaş bir şekilde eklenir, daha sonra üzerine 50 ml orto-fosforik asit eklenir.
- Son hacim saf su ile 500 ml'ye tamamlanır.
- Çalışılacak kadar miktar filtre kağıdından süzülür ve kullanılır. Kalan miktar koyu renkli bir şişe içerisinde muhafaza edilir.

3.2.5.1.3. 0,1 M pyrogallol ve 90 mM H₂O₂ hazırlanışı

- 1,26 g Pyrogallol tartılır ve 100 ml saf su içerisinde çözünür.
- 91 ml su içerisine 9 ml hidrojen peroksit hazırlanarak hazırlanır.

Yaprak ekstratlarının homojenizasyonu;

1. Uygulama yapılmış her bir örnek grubundan sağlıklı ve genç yapraklar alınarak hassas terazide 0,5 gr yaprak tartımı gerçekleştirilir.
2. İçerisinde buz bulunan geniş bir kap içerisinde bulunan soğuk havan içerisinde 5 ml soğuk 0,05 (pH 6,5) sodyum asetat tamponu eklenerek tartımı yapılmış olan yapraklar havan içerisinde yaklaşık 50 saniye ezilir.
3. Büyük partiküller kurutma kağıdı yardımıyla süzülür.
4. Homojenat mikropipet yardımı ile alınarak her bir örnek grubu için 3 tüp olmak üzere önceden etiketlenmiş ependorf tüplerine aktarılır
5. Ependorf tüpleri soğutmalı santrifüje yerleştirilerek 4 °C 13000 rpm 15 dk santrifüj edilir.
6. Tüpler santrifüjden alındıktan sonra hemen kullanılmayacaksa -20 °C'de saklanabilir. Şekil 9'da homojenizasyon sonrası muhafaza edilen örnekler gösterilmiştir.



Şekil 9. Homojenatlar.

Protein standardının hazırlanması;

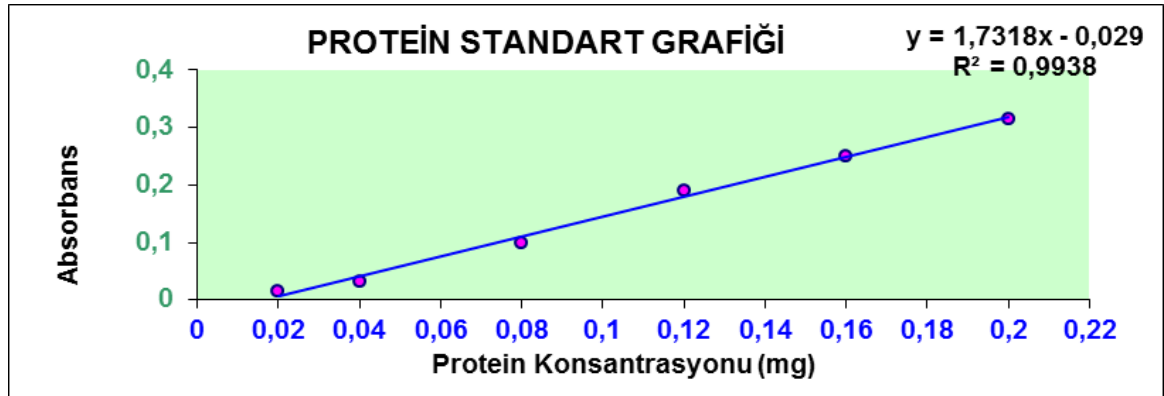
Kullanılan protein standartları BSA stok solüsyonundan hazırlanır. 2 mg/ml' lik stok ampul BSA' den 0,02 mg/ml, 0,04 mg/ml, 0,08 mg/ml, 0,12 mg/ml, 0,16 mg/ml ve 0,20 mg/ml konsantrasyonlar alınarak deney tüplerine aktarılır ve son hacim 1000 μ l' ye tamamlanır. Absorbanslara bağlı olarak standart grafik hazırlanır (Şekil 10) ve eğim formülünden örnek protein konsantrasyonları hesaplanır.

1 ml (1000 μ l) 'de 2 mg protein (BSA) var ise;

- 0 μ l BSA + 1000 μ l sodyum asetat tamponu \rightarrow KÖR
- 10 μ l BSA + 990 μ l sodyum asetat tamponu \rightarrow 0,02 mg BSA
- 20 μ l BSA + 980 μ l sodyum asetat tamponu \rightarrow 0,04 mg BSA
- 40 μ l BSA + 960 μ l sodyum asetat tamponu \rightarrow 0,08 mg BSA
- 60 μ l BSA + 940 μ l sodyum asetat tamponu \rightarrow 0,12 mg BSA
- 80 μ l BSA + 920 μ l sodyum asetat tamponu \rightarrow 0,16 mg BSA
- 100 μ l BSA + 900 μ l sodyum asetat tamponu \rightarrow 0,20 mg BSA vardır.

Çizelge 8. Protein standart verileri

Protein Konsantrasyonu	Absorbans
0,02 mg protein	0,015
0,04 mg protein	0,032
0,08 mg protein	0,098
0,12 mg protein	0,191
0,16 mg protein	0,250
0,20 mg protein	0,314



Şekil 10. Protein standart grafiği ve denklemi.

Toplam 1000 µl' lik stoklardan 100 µl alınarak yeni tüplere aktarılır ve her deney tüpüne Protein Reagent Brilliant Blue G-250'den 5'er ml eklenir. 10 dakika sonra spektrofotometrede 595nm dalga boyunda ölçümlere başlanır.

Öncelikle blank (kör) tüp konularak spektrofotometrede sıfırlama işlemi gerçekleştirilir ve sonra standartların ölçümüne geçilir. Kademeli bir şekilde artan, doğrusal artış grafiğinin olduğu görülmelidir (Şekil 10).

3.2.5.2. Bitki örneklerinin protein içeriklerinin spektrofotometrik ölçümü

Absorbans ölçümleri 595 nm dalga boyunda alınmıştır. Öncelikle kör ile sıfırlama işlemi yapılarak örneklerin protein içerikleri köre karşı okunmuştur. Bitki örneklerinin 100 µl'si için 5 mL Brilliant Blue G-250 eklenir. Oda sıcaklığında 10 ile 60 dakika arasında spektrofotometrik ölçümler yapılabilir.

Okunan absorbans değerleri standart grafikten elde edilen eğim formülüne göre hesaplanarak seyreltme katsayıları da düzenlenerek bitki örneklerinin total protein miktarları mg/mL olarak hesaplanır.

3.2.5.3. Peroksidaz enzim aktivitesi analizi

Ölçümlere geçmeden önce 2 adet kör hazırlanarak 300 nm dalga boyunda sıfırlama işlemi yapılmıştır.

Ölçümler kuartz küvette gerçekleştirilmiştir. Küvetlere 650 µl sodyum asetat tamponu, 200 µl pyrogallol (bu değer her zaman sabittir), 50 µl bitki örneği konmuştur. Kinetik reaksiyonu başlatmak için ise son olarak 100 µl hidrojen peroksit karışıma eklenmiştir.

Peroksidaz kinetik reaksiyonunun analizi için spektrofotometrede 120 saniye ölçüm yapılmıştır. Ölçüm sırasında reaksiyon hızına bağlı olarak 10 ile 15 saniye arasında absorbans değerleri alınmıştır. Araştırmamızda 15 saniye aralıklar ile 9 ölçüm alınmıştır. Elde edilen absorbans değerleri arasındaki en büyük fark belirlenerek gerekli seyreltmeler ile çevrimler yapılmıştır ve mg protein düzeyine çevrilerek µmol/mgprot/dk enzim birimi olarak verilmiştir.

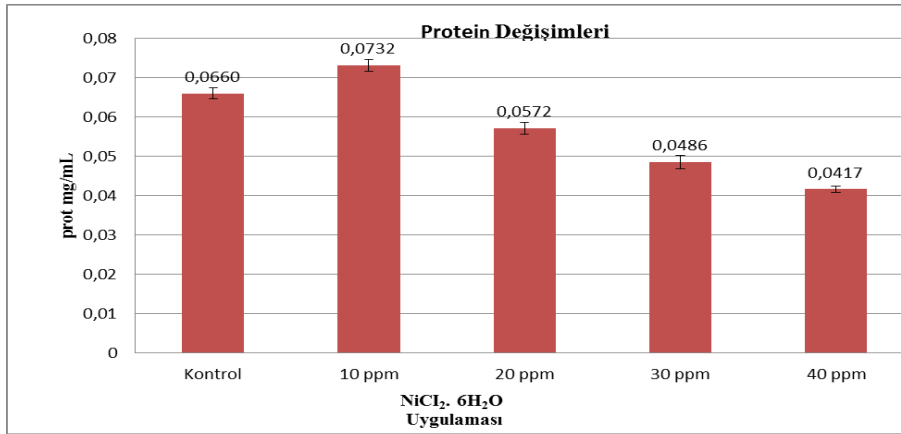
BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. *In Vivo* Olarak Yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* Fidelerine Ağır Metal Uygulaması Sonucu Oluşan Total Protein Değişim Bulguları

4.1.1. Nikel'in protein miktarına etkisi

Dört farklı konsantrasyonda uygulanan nikel çözeltisinin protein miktarına etkisi kontrol grubu ile karşılaştırılarak incelendiğinde, en düşük konsantrasyon olan 10 ppm'lik uygulama grubu dışında, artan nikel konsantrasyonlarına bağlı olarak protein miktarında azalmalar saptanmıştır. Şekil'11 de nikel klorürün uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait protein değişim bulguları verilmiştir. Çizelge'9 da nikel klorürün uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait protein ortalama değeri ve standart sapmaları verilmiştir.



Şekil 11. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerinde nikel uygulamaları sonucu oluşan protein değişimi.

Çizelge 9. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerinde nikel uygulamaları sonucu oluşan protein ortalama değer ve standart sapmaları

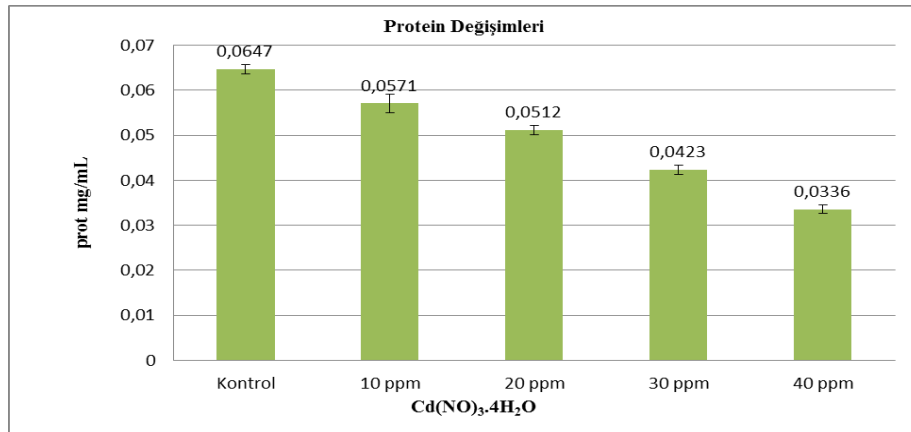
NiCl ₂ .6H ₂ O Uygulaması	Ortalama Değer± Standart Sapma
Kontrol	0,0660± 0,001
10 ppm	0,0732± 0,001
20 ppm	0,0572±0,002
30 ppm	0,0486±0,002
40 ppm	0,0417±0,001

In vivo yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus fidelerinde $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinin;

- 10 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarında %10,9 artış saptanmıştır.
- 20 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarında %13,3 azalma saptanmıştır.
- 30 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarı %26,3 azalma saptanmıştır.
- 40 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarında %36,8 azalma saptanmıştır.

4.1.2. Kadmiyum'un protein miktarına etkisi

Kontrol grubu ile kadmiyum çözeltisinin uygulanan farklı konsantrasyonlarındaki protein miktarları kıyaslandığında tüm uygulama gruplarının protein miktarlarında artan doza bağlı olarak belirgin ve kademeli bir şekilde azalma saptanmıştır. En yüksek protein içeriği kontrol grubunda gözlemlenirken, en düşük protein içeriği 40 ppm olan en yüksek kadmiyum konsantrasyonunun uygulandığı bitkilerde saptanmıştır. Şekil'12 de kadmiyum nitratın uygulanan farklı konsantrasyonlara ait protein değişim bulguları verilmiştir. Çizelge 10'da kadmiyum nitratın uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait protein ortalama değeri ve standart sapmaları verilmiştir.



Şekil 12. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus fidelerinde kadmiyum uygulamaları sonucu oluşan protein değişimi

Çizelge 10. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus fidelerinde kadmiyum uygulamaları sonucu oluşan protein ortalama değer ve standart sapmaları.

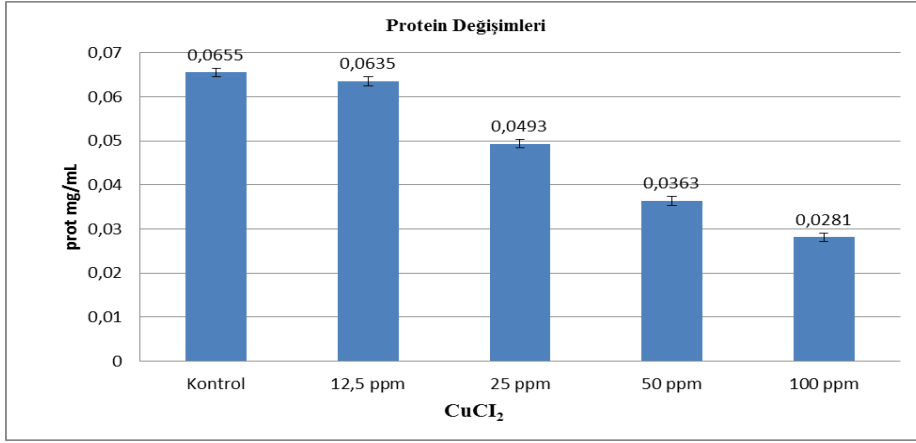
Cd(NO₃). 4H₂O Uygulaması	Ortalama Değer± Standart Sapma
Kontrol	0,0647±0,001
10 ppm	0,0571±0,002
20 ppm	0,0512±0,001
30 ppm	0,0423±0,001
40 ppm	0,0336±0,001

In vivo yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv invictus fidelerine Cd(NO₃). 4H₂O çözeltisinin;

- 10 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %11,7 azalma saptanmıştır.
- 20 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %20,8 azalma saptanmıştır.
- 30 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %34,6 azalma saptanmıştır.
- 40 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarında %48 azalma saptanmıştır.

4.1.3. Bakır'ın protein miktarına etkisi

Bakırın farklı konsantrasyonlarının uygulandığı bitki grupları ile kontrol grubu bitkileri karşılaştırıldığında ilk uygulama grubu olan 12,5 ppm ile kontrol grubunun protein miktarları birbirine yakın bulunmuştur. Bakır çözeltisinin artan diğer konsantrasyonlarında protein miktarları için önemli miktarlarda azalmalar saptanmıştır. En yüksek protein miktarı kontrol grubunda, en düşük protein miktarı ise 100 ppm olan en yüksek bakır çözeltisinin uygulandığı bitki grubu için saptanmıştır. Şekil'13 de bakır klorürün uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait protein değişim bulguları verilmiştir.Çizelge'11 de bakır klorürün uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait protein ortalama değeri ve standart sapmaları verilmiştir.



Şekil 13. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. invictus fidelerinde bakır uygulamaları sonucu oluşan protein değişimi.

Çizelge 11. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv invictus fidelerinde bakır uygulamaları sonucu oluşan protein ortalama değer ve standart sapmaları

CuCl ₂ Uygulaması	Ortalama Değer± Standart Sapma
Kontrol	0,0655±0,001
12,5 ppm	0,0635±0,001
25 ppm	0,0493±0,001
50 ppm	0,0363±0,001
100 ppm	0,0281±0,001

In vivo yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus fidelerine CuCl₂ çözeltilsinin;

- 12,5 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %3 azalma saptanmıştır.
- 25 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %24,7 azalma saptanmıştır.
- 50 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %44,5 azalma saptanmıştır.
- 100 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu total protein miktarında %57 azalma saptanmıştır.

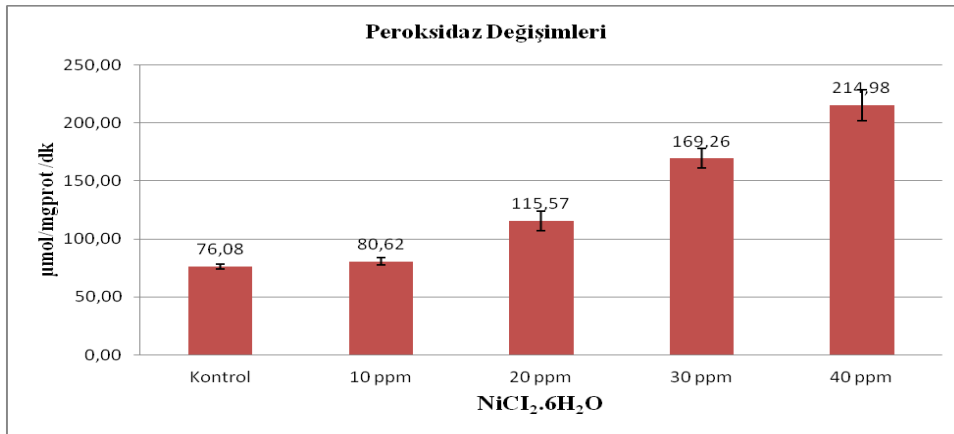
4.2. *In Vivo* Olarak Yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* Fidelerin Ağır Metal Uygulamaları Sonucu Oluşan Peroksidaz Değişim Bulguları

4.2.1. Nikel'in peroksidaz aktivitesine etkisi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında nikel çözeltisi uygulanan bitki grubunun tamamı için kademeli bir peroksidaz aktivitesi artışı belirlenmiştir. Şekil 14'de nikel klorürün uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait peroksidaz değişim bulguları verilmiştir. Çizelge'12 de nikel klorürün uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait peroksidaz ortalama değeri ve standart sapmaları verilmiştir.

In vivo yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerinde $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinin;

- 10 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu peroksidaz aktivitesinde %5,96 artış gözlemlenmemiştir.
- 20 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu bitki peroksidaz aktivitesi %51,9 olarak artış göstermiştir.
- 30 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu peroksidaz aktivitesi %112,4 artış göstermiştir.
- 40 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu peroksidaz aktivitesi %182,5 artış göstermiştir.



Şekil 14. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerinde nikel uygulamalarının peroksidaz artışına etkileri.

Çizelge 12. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. invictus fidelerinde nikel uygulamaları sonucu peroksidaz ortalama değer ve standart sapmaları

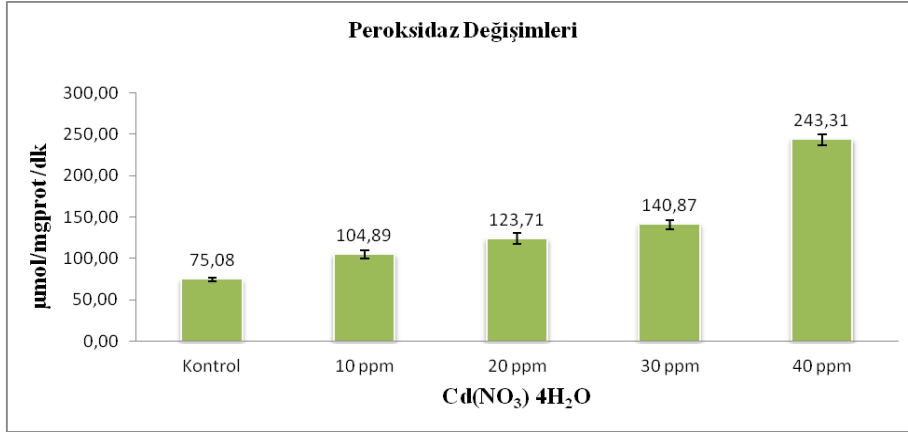
NiCl₂. 6H₂O Uygulaması	Ortalama Değer± Standart Sapma
Kontrol	76,08±2,238
10 ppm	80,62±3,096
20 ppm	115,57±8,544
30 ppm	169,26±8,438
40 ppm	214,98±13,408

4.2.2. Kadmiyum'un peroksidaz aktivitesine etkisi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artan konsantrasyonların tamamında peroksidaz aktivitesinde kademeli bir şekilde dozun artışına bağlı artış saptanmıştır. En yüksek peroksidaz aktivitesi en yüksek konsantrasyon olan 40 ppm kadmiyum çözeltisinin uygulandığı bitki grubunda gözlemlenmiştir. Şekil 15'de kadmiyum nitratın uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait peroksidaz değişim bulguları verilmiştir. Çizelge'13 de kadmiyum nitratın uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait peroksidaz ortalama değeri ve standart sapmaları verilmiştir.

In vivo yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus fidelerinde Cd(NO₃). 4H₂O çözeltisinin;

- 10 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu bitki peroksidaz aktivitesi %39,7 artış göstermiştir.
- 20 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu bitki peroksidaz aktivitesi %64,7 artış göstermiştir.
- 30 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu bitki peroksidaz aktivitesi % 87,6 artış göstermiştir.
- 40 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu peroksidaz aktivitesi %224,06 artış göstermiştir.



Şekil 15. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus fidelerinde Cd(NO₃)₂·4H₂O uygulamalarının peroksidaz artışına etkileri.

Çizelge 13. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. invictus fidelerinde Cd(NO₃)₂·4H₂O uygulamaları sonucu peroksidaz ortalama değer ve standart sapmaları.

Cd (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O Uygulaması	Ortalama Değer±Standart Sapma
Kontrol	75,08±2,208
10 ppm	104,89±4,753
20 ppm	123,71±6,585
30 ppm	140,87±5,574
40 ppm	243,31±6,676

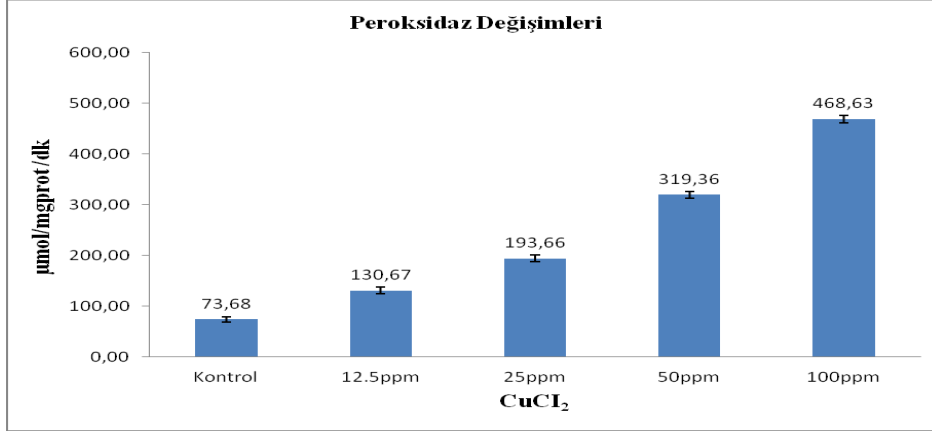
4.2.3. Bakır'ın domates bitkisinde peroksidaz aktivitesine etkisi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bakır klorürü çözeltisinin ilk konsantrasyonunda itibaren peroksidaz aktivitesini önemli ölçüde uyardığı saptanmıştır. Şekil 16'da bakır klorürün uygulanan farklı konsantrasyonlara ait peroksidaz değişim bulguları verilmiştir. Çizelge 14'de bakır klorürün uygulanan farklı konsantrasyonlarına ait peroksidaz ortalama değeri ve standart sapmaları verilmiştir.

In vivo yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. invictus fidelerinde CuCl₂ çözeltisinin;

- 12,5 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu bitki peroksidaz aktivitesi %77,3 artış göstermiştir.
- 25 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu bitki peroksidaz aktivitesi %162,8 artış göstermiştir.

- 50 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu bitki peroksidaz aktivitesi %333,4 artış göstermiştir.
- 100 ppm konsantrasyonunda uygulanması sonucu bitki peroksidaz aktivitesi %536,03 artış göstermiştir.



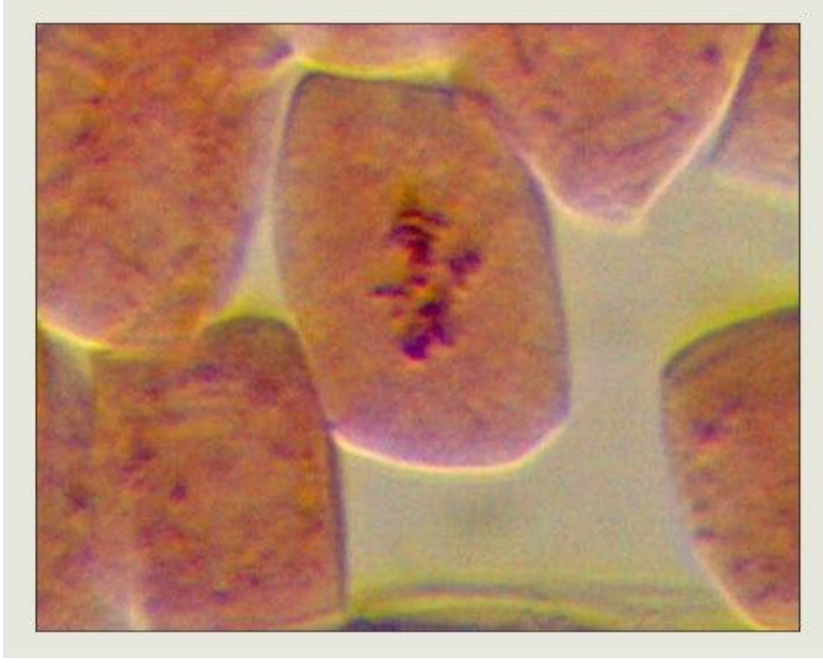
Şekil 16. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerinde bakır klorür uygulamalarının peroksidaz artışına etkileri.

Çizelge 14. *In vivo* yetiştirilen *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerinde CuCl₂ uygulamaları sonucu peroksidaz ortalama değer ve standart sapmaları.

CuCl ₂ Uygulaması	Ortalama Değer±Standart Sapma
Kontrol	73,68±4,895
12,5 ppm	130,67±7,018
25 ppm	193,66±6,828
50 ppm	319,36±6,817
100 ppm	468,63±7,776

4.3. Uygulanan Ağır Metallerin *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* Üzerinde Genotoksik Etkileri

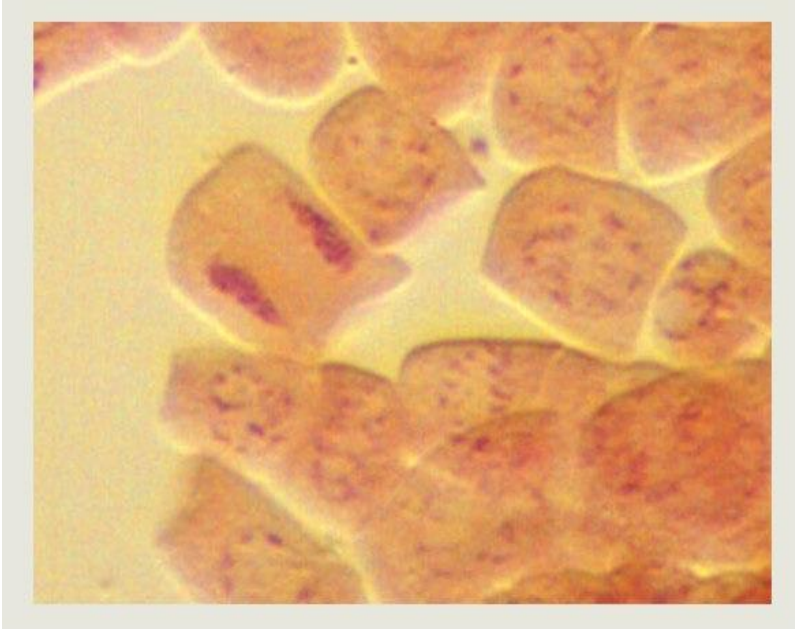
İncelemeler 40X lik büyütmede yapılmıştır. Uygulanan ağır metaller bitki gruplarında çeşitli anormalliklere neden olmuştur. Bu anormalliklerden en sık gözlenenler anafazda kalgın kromozom, düzensiz kromozom dağılımı, metafazda tabla kayması ve kalgın kromozom , anafazda kutup kaymasıdır.



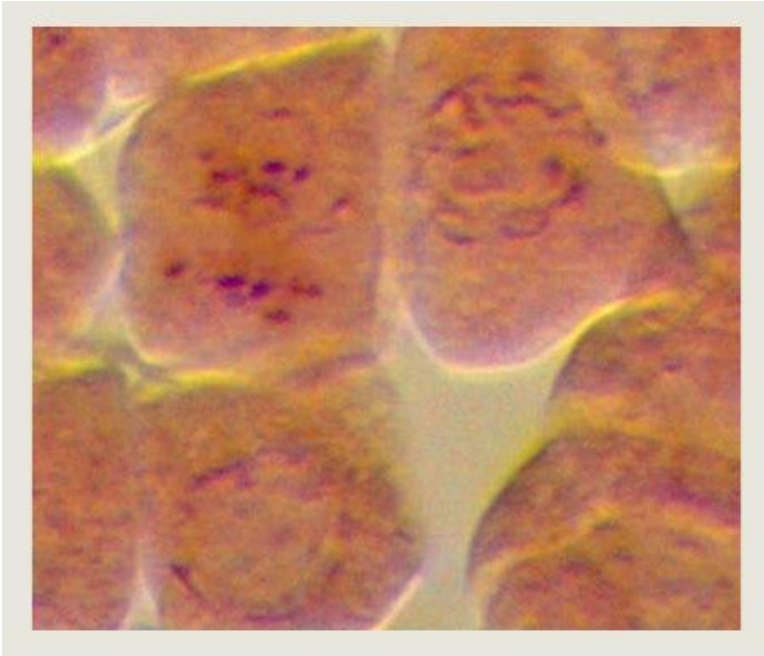
Şekil 17. Mitotik anafazda kutup kayması (Bakır klorür, 40X lik büyütme).



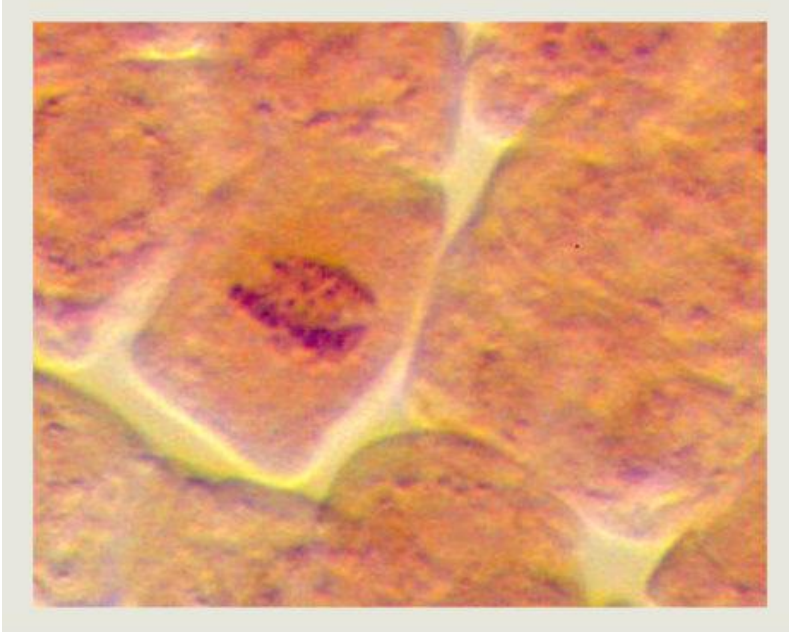
Şekil 18. Mitotik anafazda kalgın kromozom ve düzensiz kromozom dağılımı (kadmiyum nitrat, 40X lik büyütme).



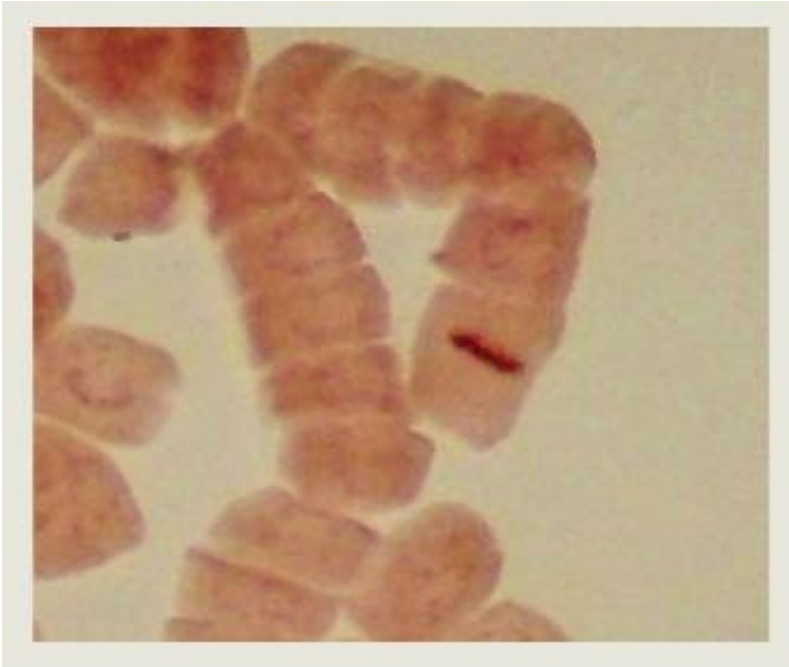
Şekil 19. Mitotik telofazda enine bölünme (Bakır klorür, 40X lik büyütme).



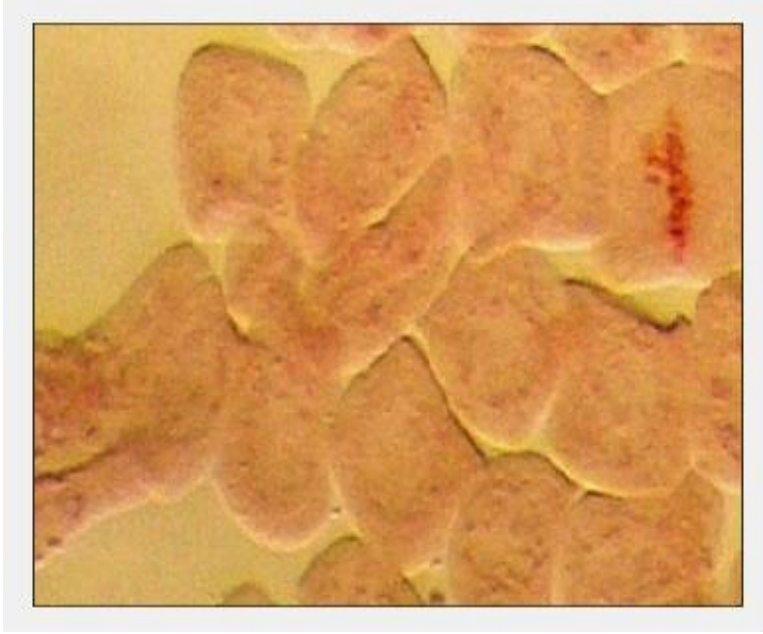
Şekil 20. Mitotik düzensiz kromozom dağılımı (Nikel klorür, 40Xlik büyütme).



Şekil 21. Mitotik anafazda kalgın kromozom ve düzensiz dağılım (Kadmiyum nitrat, 40Xlik büyütme).



Şekil 22. Mitotik metafazda tabla kayması (Nikel klorür, 40X lik büyütme).

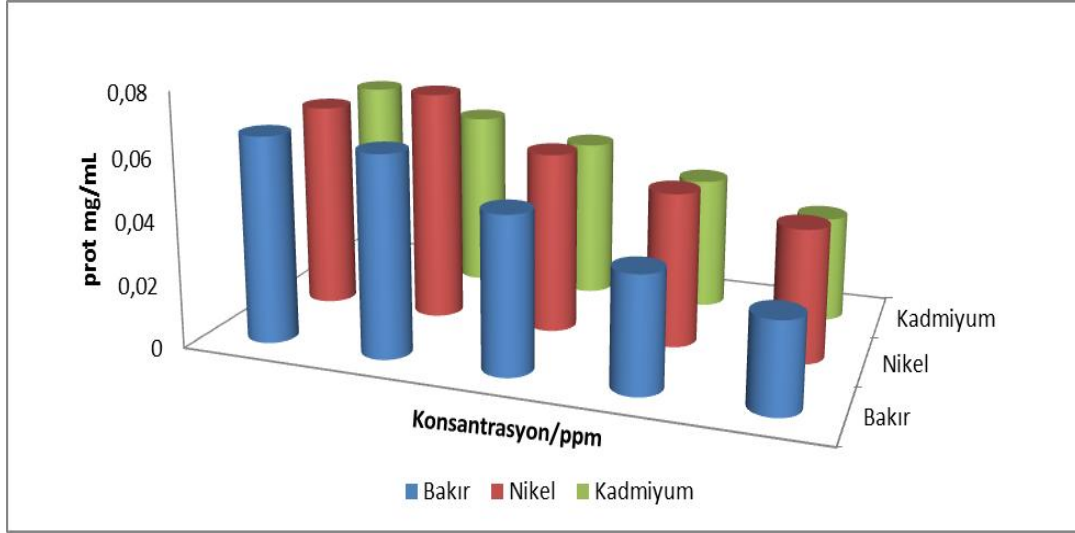


Şekil 23. Mitotik metafazda kalgın kromozom (Kadmiyum nitrat, 40Xlik büyütme)

4.4. Tartışma

Özellikle son yıllarda artan nüfusa paralel olarak ihtiyaçların artışı ve buna bağlı olarak sanayileşmenin, endüstriyel faaliyetlerin hızla gelişimi ile birlikte ağır metalleri de içeren çeşitli faaliyetler oldukça artmıştır. Bu artışa bağlı olarak gündün güne canlı büyüme ve gelişimi, ekolojik denge olumsuz yönde etkilenmekte ve tehlikeli boyutlara ulaşma yönünde hızla ilerlemektedir. Ağır metal kirliliğinden öncelikli olarak etkilenen grup primer üreticiler olan bitkilerdir. Son dönemlerde tarım alanlarında artan ağır metal birikimine bağlı olarak meydana gelen kirlenmeler sonucunda ağır metallerin bitkiler üzerindeki etkileri konusunda çalışmalarda da buna paralel artışlar meydana gelmiştir. Araştırmamızda *in vivo* ortamda yetiştirilen 10 haftalık *Lycopersicum esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerine ağır metal grubuna dahil olan nikel, bakır ve kadmiyum farklı konsantrasyonlarda uygulanmış ve vermiş oldukları fizyolojik cevaplar peroksidaz [EC 1.11.1.7] ve protein düzeyinde tespit edilmiş ve bitki üzerinde meydana getirdikleri genotoksik etkilerde kök ucu hücre testi ile saptanmıştır.

Araştırmamızda kullandığımız $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CuCl_2 , $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ çözeltilerinin artan konsantrasyonlarına bağlı olarak fidelerin protein içeriklerinde azalmalar tespit edilmiştir. Şekil 25’de nikel, kadmiyum ve bakıra ait çözeltilerin fidelerin protein miktarlarında meydana getirdiği değişimler karşılaştırılmıştır.



Şekil 25. Nikel, kadmiyum ve bakır uygulamaları sonucu elde edilen protein verilerinin karşılaştırılması.

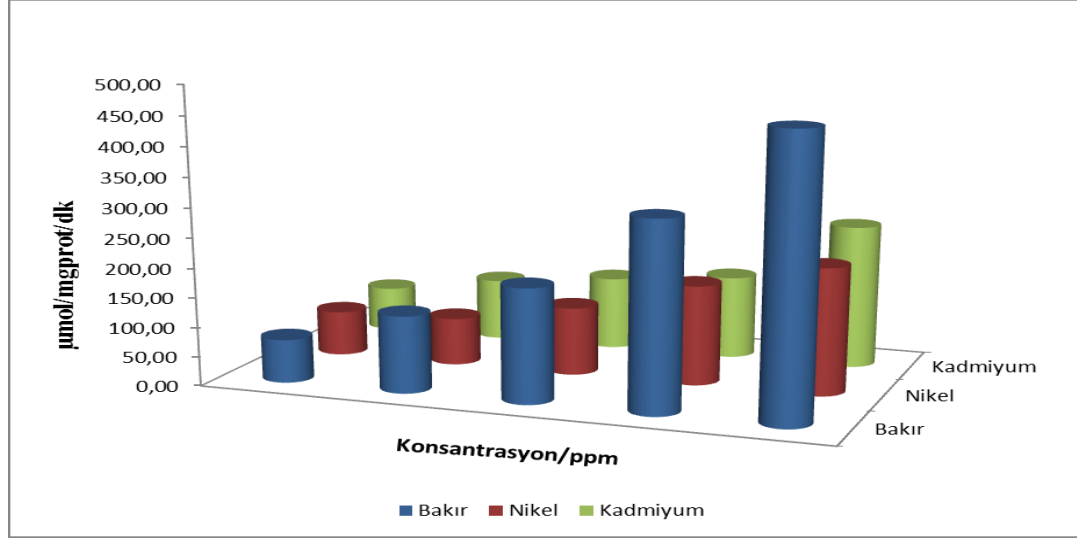
Nikelin en düşük konsantrasyonu olan 10 ppm için protein miktarında artış gözlenmesi bitkilerde düşük konsantrasyonlarda bitkiler için yararlı olması ve çeşitli enzimlerin yapı ve aktivitesinde gerekli olmaları ile bağdaştırılabilir. Bakır da bitkiler için düşük konsantrasyonlarda gereklidir bu sebeple çözeltilerin ilk konsantrasyonu olan 12,5 ppm için kontrole göre önemsiz miktarda azalma söz konusudur. Nikel ve bakırın artan diğer tüm konsantrasyonlarında protein miktarı için azalma ve kadmiyum bitkiler için esansiyel olmadığından tüm konsantrasyonlarında protein miktarlarında azalmalar saptanmıştır (Şekil 25). Yapılan araştırmalarda da ağır metallerin protein denatürasyonunu teşvik ettiği ve proteaz, DNAaz, RNAaz enzimlerinin hidrolitik aktivitelerini arttırdığı bilinmektedir (Lee ve ark., 1976).

Koç ve ark. (2012), tarafından yapılan bir araştırmada, protein miktarında azalma ağır metallerin proteinleri denatüre ederek enzimlerin inaktive olması, metallerin protein sülfidril gruplarına bağlanması ve onları bloke etmesi böylelikle proteinlerin normal formundaki bozulmalardan dolayı olabileceği rapor edilmiştir ve bu rapor çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Araştırma sonuçlarımıza göre, fidelerde protein miktarlarının azalmasında en çok etkili olan bakır, en az etkili olan nikel olmuştur (Şekil 25). Bakır membran proteinlerinin disülfidril gruplarına bağlanarak (Olson ve ark., 1978, Doncheva ve ark., 1996) ve reaktif oksijen radikalleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu arttırmakta ve membran permeabilitesini bozmaktadır. Demir ve bakır gibi geçiş metaller serbest radikallerle gerçekleştirilen lipid peroksidasyonu reaksiyonlarının çoğunun başlamasında rol

almaktadır (Doğan, 2005). Bu sebeple yüksek konsantrasyonlarında kadmiyum ve nikelden daha etkili olmuştur.

Peroksidaz [EC 1.11.1.7] aktivitesi pek çok araştırmacı tarafından stres işaretçisi olarak kullanılabilir. Çeşitli bitkilerde yapılan pek çok araştırmada bitkinin ağır metal alması sonucunda peroksidaz aktivitesinin hızlı bir şekilde artışa geçtiği belirtilmiştir (Chaoui ve ark., 2004). Şekil 26'da nikel, bakır ve kadmiyuma ait çözeltilerin peroksidaz seviyeleri arasında karşılaştırmalar gösterilmiştir.



Şekil 26. Nikel, kadmiyum, bakır uygulamaları sonucu elde edilen peroksidaz verilerinin karşılaştırılması.

Peroksidaz seviyesinde bakır klorür, nikel klorür ve kadmiyum nitrat çözeltilerinin artan konsantrasyonuna bağlı olarak peroksidaz seviyelerinde de paralel bir şekilde artış tespit edilmiştir. Ağır metal çözeltilerinin yüksek konsantrasyonlarına maruz kalan bitkiler strese girmekte ve bitkinin yapısında meydana gelen değişimler bitkilerde peroksidaz artışını teşvik etmektedir. Peroksidaz seviyelerinde en fazla artış bakır klorür uygulanan fidelerde en düşük düzeyde artış nikel klorür uygulanan fidelerde gözlemlenmiştir (Şekil 26).

Araştırmamızda ağır metallerin etkisi ile mitotik safhada çeşitli kromozomal anormallikler gözlemlenmiştir.

Ağır metal uygulamalarını doz ve zaman artışına bağlı olarak anomalilere ve mitotik indekste azalmalara sebep olduğu belirtilmiştir. Örneğin kadmiyum DNA üzerinde hasarlar meydana getirmektedir. Bu hasarlar DNA sarmalını direk ya da dolaylı etkilerinden dolayı oluşmaktadır. DNA proteininde çapraz bağlanmalar, DNA sarmalında kırılmalar, DNA'nın

kendi onarma sisteminde sorunlara sebep olan oksidatif hasarlar meydana getirdiği belirtilmiştir (Serhatlı, 2008).

V. unguiculata bitki türü ile yapılan bir araştırmada, kadmiyum klorürün 2, 6, 8 ve 10 mM'dan oluşan farklı konsantrasyonlarında ki çözeltileri 15 gün süre ile uygulanmıştır. Kadmiyum klorürün artan konsantrasyonuna bağlı olarak mitotik indekste büyük azalmalara neden olduğu tespit edilmiş ve komet yöntemi ile de artan konsantrasyona bağlı olarak kadmiyumun genotoksik etkisinin de arttığını tespit etmişlerdir. Kadmiyumun toksik etkisi altında reaktif oksijen türlerinin oluşumunda artış meydana geldiğini ve bu artışta DNA hasarına, kırıklıklara, fragment oluşumu, çeşitli aberasyonlar, mitoz bölünmeyi engelleme ve mikronukleus oluşumuna sebep olduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak, kadmiyumun *V. unguiculata* türünün gelişimi üzerinde oldukça toksik olduğu ve genotoksisiteyi de uyardığını belirtmişlerdir (Amirthalingam ve ark., 2013). Gerçekleştirilmiş olan bu çalışma kadmiyumun toksik etkisi ve artan konsantrasyonuna bağlı olarak toksisitesinin artışı ve çeşitli kromozomal anormalliklerine yol açması araştırmamız sonucunda elde ettiğimiz verilerimiz ile paralellik göstermektedir.

Padureanu (2009), kurşun nitratın *Lycopersicum esculentum* Mill türünün hücre bölünmesi üzerine etkisini belirleyebilmek için %5, %1, %0.1'den oluşan 3 farklı konsantrasyonu 2 ve 4 saat uygulanmıştır. Çalışmalarının sonucunda çeşitli aberasyonlar ve mitoz bölünmede azalmalara sebep olduğunu saptamışlardır.

Koç ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada biber (*Capsicum annuum* L.) fidelerinde çinkonun farklı konsantrasyonlarının bitki yapraklarında hidrojen peroksit, peroksidaz aktivitesi ve total protein içeriğine etkisini incelemişlerdir. Bitkilere 48 saat aralıklarla 6 gün boyunca 1, 10 ve 50 µM çinko klorür uygulamaları gerçekleştirmişler ve sonucunda bazı fizyolojik olayların çinkodan etkilendiğini belirlemişlerdir. Uygulanan çinkonun 2. günden itibaren peroksidaz aktivitesini etkilediğini ve 1, 10 ve 50 µM konsantrasyonlarında peroksidaz aktivitelerinin kontrole göre azaldığını saptamışlardır. Uygulamanın 6. gününde ise üç konsantrasyonda da peroksidaz aktivitesinde artış olduğu özellikle 10 µM konsantrasyonunda en fazla artış olduğunu bildirmişlerdir. Çinko uygulanan fidelerin yapraklarında 2. günde total protein içeriği sadece 50 µM için artış gösterdiğini 6. günde ise protein miktarındaki en net azalma 50 µM uygulamasında olduğunu belirtmişlerdir. H₂O₂ miktarında 2. günde en net artışın 10 µM uygulamasında, 6. günde ise en fazla artışın 50 µM uygulamasında olduğunu saptamışlardır. Artan peroksidaz aktivitesinin ağır metal stresi altında onarım yollarını uyarabileceğini, bitkilerin zorlu koşullarda hayatta kalmak için adaptif yolları harekete geçirdiğini belirtmişlerdir. Araştırmamızda kullandığımız nikel bu çalışmada da kullanılan çinko gibi bitki için düşük konsantrasyonlarda gereklidir. Fakat

artan konsantrasyonlarında bitki protein ve peroksidaz içeriklerini etkilemekte bu açıdan çalışmamızla paralellik göstermektedir.

İşeri ve ark. (2011), *Lycopersicum esculentum* Mill. ve *Cucumis sativus* L. türlerinde bakır tarafından indüklenen oksidatif hasar ve antioksidan cevap üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarında bitkileri 7 gün aşırı dozda bakır sülfata maruz bıraktıktan sonra bitkilerin lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit düzeyleri, askorbat peroksidaz ve katalaz aktivitelerini belirlemişlerdir. Ek olarak iki bitki türünde de komet yöntemiyle mikronukleus sıklıkları ve kuyruk momentlerini ölçmüşler ve DNA hasarını değerlendirmişlerdir. Bakır sülfat uygulamalarına bağlı olarak malondialdehit düzeyinde artış ve beraberinde lipid peroksidasyonunda artış belirlemişlerdir. Hidrojen peroksit düzeyinde artış belirlemişlerdir. Enzimatik savunma sisemlerindeki değişikliklerin değerlendirilmesi için katalaz ve askorbat peroksidaz aktivitelerindeki değişimleri ölçmüşlerdir ve artış olduğunu saptamışlardır.

Farklı bitki türleri için yapılan çalışmalarda ağır metal tarafından indüklenen oksidatif stresin artan antioksidan enzim aktivitesi ile azaltıldığı belirtilmiştir (Rucinska ve ark., 1999; Ciemense, 2001; Candan ve Tarhan, 2003; Zembala ve ark., 2010).

Sbarti ve ark. (2011), domates bitkilerine 50, 100, 250, 500 µM çinko uygulayarak enzim faaliyetlerini klorofil 2 oranını analiz etmişlerdir. Çinkonun yüksek konsantrasyonlarında klorofil 2 miktarında azalma saptamışlardır. Diğer bir yandan özellikle artan konsantrasyonlarında antioksidan enzimlerin (katalaz, askorbat peroksidaz, Glutasyon S-Transferaz) faaliyetlerini indüklediğini belirtmişlerdir. Düşük dozları bitkiler için gerekli iken yüksek dozları bitkinin faaliyetlerini olumsuz yönde etkileyebilmekte ve bitkide toksik etkilere sebep olabilmektedir. Bitki bu durumun önüne geçebilmek için antioksidan enzimleri devreye sokma ihtiyacı duyar. Bu sonuçlara bakıldığından çalışmamızda elde ettiğimiz nikel ile ait veriler ile aynı doğrultuda aydınlatıcı olduğu anlaşılmaktadır.

Kim ve ark. (2010), kadmiyum, bakır ve çinko ağır metallerinin artan konsantrasyonlarını besin solüsyonu içerisinde yer elmalarına uygulamışlardır. Her metal için doza bağlı olarak metal içeriğinin arttığını ve bitki büyümesinin azaldığını, yapraklarda ve köklerde hidrojen peroksit oluşumunun metal dozu ile pozitif ilişkisi olduğunu saptamışlardır. 13 POD gen analiz etmişler ve ağır metallere tepkide POD'ların farklı ekspresyonları ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak artan ağır metal stresiyile POD aracılı antioksidan savunma kapasitesinin yakından ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Mısırın bazı çeşitlerinde ağır metal stresinin etkileri üzerine gerçekleştirilen çalışmada, kurşun ve kadmiyum stresinin askorbat peroksidaz, süperoksit dismutaz,

glutasyon redüktaz ve POD enzim aktivitelerinde genellikle artış şeklinde değişimler rapor edilmiştir (Ayhan, 2006).

Ağır metaller doğrudan etkilerini gösterebildikleri gibi serbest radikallerin oluşumunu teşvik ederek dolaylı yollardan da hasara neden olabilmektedir ve stres sonucu oluşan serbest radikallerin etkisinden korunmak için bitkilerin antioksidan savunma sistemlerini kullandıkları bilinmektedir. Aynı zamanda birçok araştırmada da bitkinin ağır metal stresinde korunmak için peroksidaz enziminide kapsayan antioksidan enzim aktivitelerinde artışlar gözlemlendiği rapor edilmiştir (Ayhan, 2006).

BÖLÜM 5**SONUÇ VE ÖNERİLER**

Ekosistemler ve insan sağlığı üzerine olumsuz yönde etkisi olabilen ağır metallere kadmiyum, bakır ve nikelin *in vivo* olarak yetiştirilen *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. *invictus* fidelerinin protein miktarı ve peroksidaz içeriklerinde değişimlere sebep olması ile birlikte mitotik safhada da kromozomal anormalliklere sebep olduğu saptanmıştır.

Gerçekleştirilen çalışmamızda ağır metallere uygulanmasına bağlı olarak bitkinin bu uygulamayı stres işareti olarak görmesi ve savunma cevabı vermesi ile peroksidaz düzeylerinde artışlar belirlenmiş fakat bu artışlar ağır metal türü ve konsantrasyonuna göre farklılıklar göstermiştir. Aynı zamanda ağır metal uygulamaları protein miktarlarında da değişimlere sebep olmuştur. Uygulanan ağır metallere artan konsantrasyonlarına bağlı olarak anomalilerde artışın olduğu ve özellikle kadmiyum ve bakır uygulaması yapılan gruplarda bu anomalilerin daha belirgin olduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda ağır metallere türü ve konsantrasyonuna bağlı olarak protein miktarında azalmalara sebep olduğu belirtilmiştir. Protein miktarında azalma ağır metallere proteinleri denatüre ederek enzimlerin inaktive olması, metallere protein sülfidril gruplarına bağlanması ve bloke etmesi böylelikle proteinlerin normal formundaki bozulmalarından dolayı olabilir (Koç ve ark., 2012). Ayrıca ağır metallere etkisi ile oluşan reaktif oksijen türlerinde proteinlerin parçalanmasına sebep olduğu rapor edilmiştir (Solomon ve ark., 1999).

Son zamanlarda ağır metallere çeşitli sektörlerden yayılımlarını oldukça arttırmışlardır, bu artışta canlılara ulaşmalarını böylelikle canlılar üzerindeki etkilerini kolaylaştırmıştır. Çalışmamızda da görüldüğü gibi bitkide savunmayı tetikleyen ve çeşitli anomalilere sebep olan ağır metallere üzerinde durulması gereken güncel bir sorun haline almıştır. Çünkü ağır metale maruz kalan bitkiler bu ağır metallere dokularında biriktirebilmekte ürün kaybı, kalitede azalmaya sebep olmak ile birlikte bitkilerin insanlar tarafından tüketilebilir sağlıklı besin olma niteliğinin de olumsuz yönde etkilemektedir.

Tarım alanlarında ağır metal kirliliğine bağlı olarak meydana gelen problemlerin önüne geçebilmek için yapılan çalışmalarda öncelikli olarak ağır metallere bitkinin hücre içi mekanizmalarına ve bitki savunma sistemlerine etkisi yönünde çalışmaların gerçekleştirilmesi, bu problemlere önüne geçilmesi ve çözüm yollarının üretilmesi açısından daha verimli olacaktır.

Ağır metallere tarım alanlarında giderilmesi ve dirençli bitkilerin belirlenmesi önemli bir konu olmak ile birlikte öncelikli olarak ağır metallere bitkinin moleküler ve fizyolojik mekanizmalarını nasıl etkilediğinin saptanması geliştirilebilecek çözüm yollarına ulaşılmasını daha rahat sağlayacaktır.

Ağır metallerin bitkiler üzerindeki etki ve etki mekanizmalarının tespit edilmesi ve beraberinde dirençli bitkilerin tespiti sonucunda çevre koşullarına göre üretimi gerçekleştirilecek bitkilerin saptanması ile tarım alanları daha verimli kullanılabilir hale dönüştürülebilir. Ayrıca bu çalışmalar kapsamında dirençli bitkilerin tespiti ile ağır metallerin biyolojik yöntemler ile bitkiler kullanılarak daha ekonomik ve pratik bir şekilde uzaklaştırılması üzerine gerçekleştirilen çalışmalar içinde aydınlatıcı yönde olacaktır.

KAYNAKLAR

- Adriana D.C., 1986. Trace Elements in the Terrestrial Environment. Trace Elements in the Environment. New York, Springer Verlag, 106-155.
- Akıncı İ.E. ve Çalışkan Ü., 2010. Bazı Önemli Yazlık Sebzelerin Çimlenme Aşamasında Nikel Tepkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 13(1).
- Akıncı S. ve Akıncı İ.S., 2011. Nikelin Ispanakta (*Spinacia oleracea*) Çimlenme ve Bazı Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi. *Ekoloji*, 20,79, 69-76.
- Aksoy D., 2009. Patlıcan (*Solanum melongena*) Tohumlarında Bakır (Cu) Stresi İle Oluşan DNA Değişikliklerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
(www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html.2008).
- Alexandar R., 2002. Entwicklung und Charakterisierung wasserlöslicher Benzoylthioamstoffunktionalisierter Polymere zur selektiven Abtrennung von Schwermetallionen aus Abwasser und Prozesslösungen (Doktora Tezi), Teknik Üniversitesi, Münih, Almanya.
- Alloway B.J. ve Ayers D.C., 1993. *Chemical Principles of Environmental Pollution*. Blackie Academic and Professional, London.
- Amirthalingam T., Velusamy G. ve Pandian R., 2013. Cadmium –Induced Changes in Mitotic Indeks and Genotoxicity on *Vigna unguiculata* (Linn.) Walp. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 5(3), pp.57-62.
- Anastassopoulou J., 2003. Metal-DNA Interactions. *Journal of Molecular Structure*, 651/653: 19-26.
- Anonim, 2004. <http://plants.usda.gov>
- Anonim, 2013. www.canakkale.bel.tr / Ekonomik Yapı Birimi <http://www.canakkale.bel.tr/bpi.asp?caid=198&cid=561>. (erişim tarihi 02.06.2013).
- Atienzar F.A., Cheung V.V., Jha A.N. ve Depledge M.H., 2001. Fitness Parametres and DNA Effects are Sensitive Indicators of Copper- Induced Toxicity in *Daphnia magna*. *Toxicological Sciences*, 59: 241-250.
- Ayhan B., 2006. Mısır (*Zea mays* L.) in Bazı Çeşitlerinde Ağır Metal (Cd,Pb) Stresinin Etkilerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Hacettepe Üniversitesi, Ankara, Türkiye.

- Ayup S., Khan F.A ve Varshney D. 2009. Effect of Heavy Metals on a Medicinally Important Plants. *Proceeding of International Conference on Emerging Technologies in Environmental Science and Engineering*. Aligarh Muslim Universty, Aligarh, 1028-1033
- Barcelo J. ve Poschenrieder C., 1990. Plant Water Relations as Affected by Heavy metal Stress. *Journal of Plant Nutrition*, 13: 1-37.
- Belimov A.A., Safronova V.I., Tsyganov V.E., Borisov A.Y., Kozhemyakov A.P., Stepanok V.V., Martenson A.M., Pearson V.G., ve Tikhonovich I.A., 2003. Genetic Variability in Tolerance to Cadmium and Accumulation of Heavy Metals in Pea (*Pisum sativum*). *Euphytica*, 131: 25-35.
- Ben Ammar W., Nouairi I., Zorrouk M. Ve Jemal F., 2007. Cadmium Stress Induces in the Lipid Composition and Biosynthesis in Tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) Leaves. *Plant Growth Regulation*, 53: 75-85.
- Benavides M.P, Gallego S.M. ve Tomaro M.L., 2005. Cadmium Toxicity in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1): 21-34.
- Bingöl M.Ü., Geven F., Güney K., Ketenoğlu O. ve Erdoğan N., 2010. Egzoz Gazlarını Bitkilere Etkileri ve Koruma Önerileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 3(2): 63-67.
- Bobak M., 1985. Ultrastructure Changes of the Nucleus and Its Components in Meristematic Root Cells of the Horse-Bean After Zinc Toxication. *Pyhsiology Plants*, 15: 31-36.
- Bolwell G.P., Bindschelder L.V., Blee K.A., Butt V.S., Davies D.R., Gardner S.L., Gerrish C. ve Minibayeva F., 2002. The Apoplastic Oxidative Burst in Response to Biotic Stress in Plants: A Tree Component System. *Journal Experimental Botany*, 53: 1367-1376.
- Bradford M.M, 1976. A Dye Binding Assay for Protein. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Bramley P.M., 2000. Is Lycopene Beneficial to Human Health. *Pythochemistry*, 54(3): 233-236.
- Brown P.H., Welch R.M. ve Cary E.E., 1987. Nickel : A Micronutrient Essential for Higher Plants. *Plant Physiology*, 85: 801-803.
- Brown P.H., Welch R.M. ve Madison J.T., 1990. Effect of Nickel Deficiency on Soluble Anion, Amino acid and Nitrogen Levels in Barley. *Plant and Soil*, 125: 19-27.

- Bubb J.M. ve Lester J.N., 1991. The Impact of Heavy Metals on Lowland Rivers and the Implications for Man and the Environment. *Science of the Total Environment*, 100, 20-223.
- Burzynski M. ve Klobus G., 2004. Changes of Phytosynthetic Parameters in Cucumber Leaves Under Cu, Cd and Pb Stress. *Photosynthetica*, 42(4): 505-510.
- Büyük İ., Soydam-Aydın S. ve Aras S., 2012. Bitkilerin Stres Koşullarına Verdiği Moleküler Cevaplar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(2): 97-110.
- Candan N. ve Tarhan L., 2003. The Correlation Between Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation Levels in *Mentha pulegium* Organs Grown in Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , ve Mn^{2+} Stress Conditions. *Plant Science*, 163: 769-779.
- Ceran M., 2004. Kayseri İl Çevre Durum Raporu S: 53-61.
- Chaffai R., Tekitek A, ve Ferjani E.E.,2005. Comparative Effect of Copper and Cadmium on Growth and Lipid Content in Maize Seedlings (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8 (4): 649-655.
- Chaoui A., Jarrab B.ve El Ferjani E., 2004. Effects of Cadmium and Copper on Peroxidase, NADH Oxidase and IAA Oxidase Activities in Cell Wall, Soluble and Microsomal Membrane Fractions of Pea Roots. *Journal of Plant Physiology*, 161: 1225-1234.
- Ciemense S., 2001. Molecular Mechanisms of Plant Metal Tolerance and Homeostasis. *Planta*, 212: 475-480.
- Çapanoğlu E. ve Boyacıoğlu D., 2010. Domatesin Gelişimi Sırasında Antiosidan Bileşiklerinde Meydana Gelen Değişimler. *Akademik Gıda*, 8(1): 44-48.
- Çepel N., 2003. Ekolojik Sorunlar ve Çözümleri. *Tübitak Popüler Bilim Kitapları* 180, 23.
- Davis P.H., 1978. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 6: 444. Edinburg University Press. Edinburg.
- Devi S.R. ve Prasad M.N, 1999. Membrane Lipid Alterations in Heavy Metal Exposed Plants. In: Prasad M.N.V., Hagemeyer J. (eds), Heavy Metal Stress in Plants. *From Molecules to Ecosystems*, Springer. Berlin, 99-116.
- Dixit V., Pandey V. ve Shyam R., 2001. Differential Antioxidative Responses to Cadmium in Root and Leaves of Pea (*Pisum sativum* L. Cv. Azad). *Journal of Experimental Botany*, 52(358): 1101-1109.
- Doğan M., 2005. *Ceratophyllum demersum* L. de Kadmiyum Klorür, Sodyum Klorür ve Kombinasyonlarının Fizyolojik ve Morfolojik Etkileri (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.
- Domates yetiştiriciliği, <http://www.burdur-tarim.gov.tr/files/domates.pdf> (erişim 16.06.13).

- Doncheva S., Nikolov B. ve Ogneva V., 1996. Effect of Exces Copper on the Morphology of the Nucleus in Maize Root Meristem Cells. *Physiologia Plantarum*, 96(1): 118-122.
- Dovgaliuk A.I., Kaliniak T.B. ve Blium Ia.B., 2001. Cytogenetic Effect of Toxic Metal Salts on Apical Meristem Cells of *Allium cepa* L. Seedling Root. *Cytology and Genetics*, 35(2): 3-10.
- Ekinci S., 1972. Özel Sebzeçilik. Ahmet Sait Matbaası, İstanbul.
- Ensminger A.H., Ensminger M.E., Konlande J.E. ve Robson J.R.K., 1985. *The Concise Encyclopedia of Foods and Nutrition*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1178.
- Eşpen L., Pirovano L. ve Cocucci S.M., 1997. Effect of Ni²⁺ During the Early Phases of Radish (*Raphanus sativus*) Seed Germination. *Environmental and Experimental Botany*, 38: 187-197.
- Ewais E.A., 1997. Effects of Cadmium, Nickel and Lead on Growth, Chlorophyll Content and Proteins of Weeds. *Biologia Plantarum*, 39(3): 403-410.
- FAO, 2009. www.fao.org (erişim 13.06..2013).
- Gajewska E. ve Sklodowska M., 2005. Antioxidative Responses and Proline Level in Leaves and Roots of Pea Plants Subjected to Nickel Stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27(3): 329-339.
- Gıda Gündemi, <http://forum.gidagundemi.com/domates-salcasi-ihracati-t26568.html> (erişim 13.06.2013).
- Griffiths H.R., Moller L., Bartosz G., Bast A., Bentoni-Freddari C., Collins A., Cooke M., Coolen S., Haenen G., Hoberg A.M., Loft S., Lunec J., Olinski R., Parry J., Pompella A., Poulsen H., Verhagen H. ve Astley A.B., 2002. Biomarkers. *Molecular Aspects of Medicine*, 23: 101-108.
- Güner U., 2008. Toksikoloji Ders Notları, Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları.
- Güneysu E., 2004. Çanakkale İlindeki Sanayii Kuruluşu Atık Sularının Ekonomik Öneme Sahip Bitki Türleri Üzerinde Enzimatik ve Genetiksel Değişimlerinin İzlenmesi (Yüksek Lisans Tezi), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye.
- Harwood J.L., 1995. Recent Environmental Concerns and Lipid Metabolism. In: Kader J.C., Mazliak (eds), Plant lipid Metabolism. *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, 361-368.
- İşeri Ö.D, Körpe D.A., Yurtcu E., Sahin F. I. ve Haberal M., 2011. Copper-Induced Oxidative Damage, Antioxidant Response and Genotoxicity in *Lycopersicon esculentum* Mill. and *Cucumis sativus* L. *Plant Cell Report*, 30: 1713-1721.

- Janicka R., Katarzyna K., Marek B. ve Grazyna K., 2008. Response of Plasma Membrane H⁺ATPase to Heavy Metal Stress in *Cucumis sativus* Roots. *Journal of Experimental Botany*, 59: 3721-3728.
- Jemal F., Zarrouk M. ve Ghorbal M.H., 2000. Effect of Cadmium on Lipid Composition of Pepper. *Biochemical Society Transition*, 27: 907-910.
- Kahvecioğlu Ö., Kartal G., Güven A. ve Timr S., 2004. *Metallerin Çevresel Etkileri-I. Metalurji Dergisi*, 136: 47-53.
- Kappus H., 1985. Lipid Peroxidation; Mechanisms, Analysis, Enzymology and Biology Relevance. In: Sies H. (ed), Oxidative Stress. *Academic Press*, London, 273-310.
- Karaca A. ve Turgay O.C., 2012. Toprak Kirliliği. *Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Dergisi*, 1(1): 13-19.
- Kazemi N., 2012. Effect of Exogenous Nitric oxide on Alleviating Nickel-Induced Oxidative Stress in Leaves of Tomato Plants. *International Journal of AgriScience*, 2(9): 799-809.
- Keller C. ve Hammer D., 2004. Metal Availability and Soil Toxicity After Repeated Croppings of *Thalapsi caerulescens* in Metal Contaminated Soils. *Environmental Pollution*, 131: 243-254.
- Keskin G., 2010. Türkiye’de Domates Salça Sanayi ve İç Piyasada Fiyat Değişimleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(3): 214-221.
- Khadijeh B., Bahman K. ve Ali M., 2011. Effect of Cadmium on Growth, Protein Content and Peroxidase Activity in Pea Plants. *Pakistan Journal of Botany*, 43(3): 1467-1470.
- Kılıç A.M. ve Uyanık E., 2001. Tuz Gölü’nde Oluşan Kirlenmenin Göl Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması. 4. Endsütriyel Hammaddeler Sempozyumu 118-19 Ekim 2001, İzmir, Türkiye.
- Kim Y.H., Lee H.S. ve Kwak S.S., 2010. Differential Responses of Sweetpotato Peroxidases to Heavy Metals. *Chemosphere*, 81: 79-85.
- Koç E., Üstün A.S. ve Arıcı Y.K., 2012. Biber (*Capsicum annuum* L.) Fidelerinde Farklı Çinko Konsantrasyonlarının Total Protein, Hidrojen Peroksit İçeriği ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 13(2): 205-212.
- Köleli N. Ve Kantar Ç., 2006. Fosforlu Gübrelerde Ağır Metal Tehlikesi. *Ekoloji Dergisi*, 9, 1-15.

- Kösesakal T., 2005. Domateste (*Lycepersicon esculentum* Mill.) Tohum Çimlenmesi ve Bitki Büyümesi Üzerine Çinkonun Etkisi (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Küçüker O., 1994. *Tıbbi Biyologlar için Botanik Ders Kitabı*. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İstanbul. 183-184.
- Kütevin Z. ve Türkeş T., 1987. *Sebzecilik, Genel Sebze Tarımı Prensipleri ve Pratik Sebzecilik Yöntemleri*. İnkilap Kitabevi, İstanbul. 201, 294, 295.
- Lee, K.C., Cunningham B.A., Chung K.H., Baulsen G.M., Liang G.H. ve Moore R.B., 1976. Effects of Cadmium on Respiration Rate and Activities of Several Enzymes in Soybean Seedlings. *Physiologia Plantarum*, 36: 4-6.
- Liu W., Yang Y.S., Li P.j., Zhou Q.X., Xie L.J. ve Han Y.P., 2009. Risk Assesment of Cadmium-Contaminated Soil on Plant DNA Damage Using RAPD and Physiological Indices. *Journal of Hazardous Material*. 161: 878-883.
- Mansour M.M.F., Van Hasselt P.R., Kuiper P.J.C., 1994. Plasma Membrane Lipid Alterations Induced by NACI in Winter Wheat Roots. *Physiologia Plantarum*, 92: 473-478.
- Mansour M.M.F., Salama K.H.A., Al-Mutawa M.M., Abou Hadid A.F, 2002. Effect of NACI and Polyamines on Plasma Membrane Lipids of Wheat Roots. *Biologia Plantarum*, 45:235-239.
- Mansour M.M.F., Salama K.H.A. ve Al-Mutuwa M.M., 2003. Transport Proteins and Salt Tolerance in Plants. *Plant Science*, 164: 891-900.
- Mansour M.M.F. ve Salama K.H.A., 2004. Cellular Basis of Salinity Tolerance in Plants. *Enviromental and Experimental Botany*, 52: 113-122.
- McIntyre T., 2003. Phytoremediation of Heavy Metals from Soils. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, 78: 97-123.
- Mencik K., 2006. Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.)' in Çimlenme Aşamasında Ağır Metaller Tepkisi (Doktora Tezi), Ege Üniversitesi, İzmir.
- Mercan U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2): 91-96.
- Mittler R., 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trend in Plant Science*, 7: 405-410.
- Mohan B.S ve Hosetti B.B., 1997. Potential Phytotoxicity of Lead and Cadmium to *Lemna minör* Grown in Sewage Stabilization Ponds. *Environmental Pollution*, 98: 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. *Phytosynthetica* 34(4): 513-522.
- Morsy A.A., Salama K.H.A., Kamel H.A. ve Mansour M.M.F., 2012. Effect of Heavy Metals on Plasma Membrane Lipids and Antioxidant Enzymes of *Zygophyllum* Species. *EurAsian Journal of BioSciences* 6: 1-10.
- Nepovim A., Podlipna R., Soudek P., Schröder P. ve Vanek T., 2004. Effects of Heavy Metals and Nitroaromatic Compounds on Horseradish Glutathione S-Transferase and Peroxidase. *Chemosphere*, 57(8): 1007-15.
- Nouairi I., Ben Ammar W., Ben Youssef N., Ben Miled D., Habib G.M., Zarrouk M., 2006. Comparative Study of Cadmium Effects on Membrane Lipid Composition of *Brassica juncea* and *Brassica napus* Leaves. *Plant Science*, 170: 511-519.
- Nurettin A., Erbaş H. ve Kaymak K., 2007. Taurin, Melatonin ve N-Asetilsisteinin Kadmiyuma Bağlı Akciğer Hasarındaki Antioksidan Etkileri. *Formerly Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 24(1): 043-048.
- Offord E.A.. 1998. Nutritional and Health Benefits of Tomato Product. In: Proc of Tomato and Health Seminar, Pamplona, Spain. 25-28 Mayıs, 5-11.
- Oğuz A., 2010. Bazı Yerel Domates Genotiplerinde Farklı Yöntemler Kullanarak, Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (*Tomato spotted wilt virüs* = TSWV)'ne Dayanıklılığın ve Genetik Varyasyonun Araştırılması (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
- Olson K.R., Squibb K.S. ve Cousins R.J.,1978. Tissue Uptake, Subcellular Distribution and Metabolism of $^{14}\text{CH}_3\text{HgCl}$ and $\text{CH}_3^{203}\text{HgCl}$ by Rainbow Trout. *Salmo Gardneri*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35(4): 381-390.
- Ouzounidou G., Ilias I., Tranopoulou H. ve Karataglis S., 1998. Amelioration of Copper Toxicity by Iron on Spinach Physiology. *Journal of Plant Nutrition*, 21: 2089-21.
- Özbay N., Sarıyer T. ve Korkmaz A., 2012. Afyonkarahisar İli Ekolojik Şartlarına Uygun Sofralık Domates Çeşitlerinin Belirlenmesi. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 1 (2): 64-70.
- Özbek H., Kaya Z., Gök M. Ve Kaptan H., 1995. *Toprak Bilimi*. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın No:73, Ders Kitapları Yayın No: 16, Adana.
- Öztürk L., 2002. Normal Şartlarda Büyütülen Ispanak (*S. Oleraceae* cv. Gladiatör) Bitkisinde Etakon ve Poliamin Uygulamalarının Oksidatif Enzimler Üzerine *in vivo* ve *in vitro* Etkilerinin İncelenmesi (Doktora Tezi), Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Türkiye.

- Padureanu S., 2009. Cytogenetic Effects Induced by Lead Nitrate on Mitotic Division in *Lycopersicum esculentum* Mill. *Lucrări Științifice* 52(1): 234-240.
- Palacios G., Gomez I., Carbonell-Barrachine A., Navarro Pedreno J. ve Mataix J., 1998. Effect of Nickel Concentration on Tomato Plant Nutrition and Dry matter Yield. *Journal of Plant Nutrition*, 21(10): 2179-2191.
- Pandey N. ve Sharma C.P., 2002. Effect of Heavy Metal Co^2 , Ni^2 ve Cd^2 on Growth and Metabolism Cabbage. *Plant Science*, 163: 753-758.
- Pandolfini T., Gabrielle R. ve Comparini C., 1992. Nickel Toxicity and Peroxidase Activity in Seedlings *Triticum aestivum* L. *Plant Cell and Environment*, 15: 719-725.
- Patykowski J. ve Urbanek H., 2003. Activity of Enzymes Related to H_2O_2 Generation and Metabolism in Leaf Apoplastic Fraction of Tomato Leaves Infected with *Botrytis cinerea*. *Journal of Phytopatology*, 151: 153-161.
- Peralta J.R., Gardea Torresdey J.L., Tiemann K.J, Gomez E., Atreaga S., Rascon E. ve Parsons J.G., 2001. Uptake and Effects of Five Heavy Metals on Seed Germination and Plant Growth in Alfaalfa (*Medicago sativus*) L.. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 66(6): 727-734.
- Peralta – Videa J.R., Rosa G., Gonzalez J.H. ve Gardea – Torresdey J.L., 2004. Effect of the Growth Stage on the Heavy Metal Tolerance of Alfalafa Plants. *Advances in Environmental Research*, 8: 679-685.
- Pourrout B., Jean S., Silvestre J. ve Pinelli E., 2011. Lead Induced DNA Damage in *Vicia faba* Root Cells: Potential Involvement of Oxidative Stress. *Mutation Research*, 726: 123-128.
- Quarili O., Boussama N., Zarrouk M., Cherif A. ve Ghorbal M.H., 1997. Cadmium and Copper Induced Changes in Tomato Membrane Lipids. *Phytochemistry*, 45: 1343-1350.
- Quariti O., Gouia H. ve Ghorbal M.H., 1997. Responses of Bean and Tomato plants to Cadmium: Growth, Mineral Nutrition and Nitrat Reduction. *Plant Physiology and Biochemistry*, 35: (5) 347-354.
- Quartacci M.F., Pinzino C., Sgherri C.L.M., Dalla Vecchia F. ve Navarilzzo F., 2000. Growth in Excess Copper Induces Changes in Lipid Composition and Fluidity of PSII-enriched Membranes in Wheat. *Physiologia Plantarum* 108: 87-93.
- Rascio N. ve Navari-Izzo F., 2011. Heavy Metal Hyperaccumulating Plants: How and Why Do They Do It? And What Makes Them So Interesting. *Plants Science*, 180: 169-181.

- Rave R.S., Sharma R., Sisodiya M.K., Sharma P.K., Sharma R.K. ve Sharma P., 2012. Effect of Cadmium on Flowering and in Fruiting *Lycopersicum esculentum* ve *Brassica campestris*. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, 2(2): 281-286.
- Rehman F., Khan F.A., Varshney D., Naushin F. ve Rastogi J., 2011. Effect of Cadmium on the Growth of Tomato. *Biology and Medicine*, 3(2): 187-190.
- Resmi gazete, 10.12. 2001 – 24609.
- Rick C.M., 1973. Potential Genetic Sources in Tomato Species. Clues from Observation in Native Habitats. *Genes, Enzymes and Populations, Plenum*. New York, 255-269.
- Rucinska R., Waplak S. ve Gwozdz A.E., 1999. Free Radical Formation and Activity of Antioxidant Enzymes in Lupine Roots Exposed to Lead. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37: 187-194.
- Salama K.H.A., Mansour M.M.F., Ali F.Z.M. ve Abou Hadid A.F., 2007. NaCl-Induced Changes in Plasma Membrane Lipids and Proteins of *Zea mays* L. Cultivars Differing in Their Response to Salinity. *Acta Physiologia Plantarum*, 29: 351-359.
- Salt D.E. ve Rauser W.E., 1995. MgATP-Dependent Transport of Phytochelatins Across the Tonoplast of Oat Roots. *Plant Physiology*, 107: 1293-1301.
- Saltalı K., 2004. Fosforlu Gübrelerde Ağır Metal (Kadmiyum) Sorunu ve Önerileri. Türkiye 3. Ulusal Gübre Kongresi, Tarım- Sanayi- Çevre, 11-13 Ekim, Tokat.
- Sanita di Toppi L. ve Gabbrielli R., 1999. Response to Cadmium in Higher Plants. *Environmental and Experimental Botany*, 41: 105-130.
- Sbartai H., Djebbar M.R., Rouabhi R., Sbartai I. ve Berrebbah H., 2011. Antioxidative Response in Tomato Plants *Lycopersicon esculentum* L. Roots and Leaves to Zinc. *American – Eurasian Journal of Toxicology Sciences*, 3(1): 41-46.
- Seçmen Ö., Gemici Y., Görk G., Bekat L. ve Leblebici E. 1998. *Tohumlu Bitkiler Sıstematiği*, Ege Üniversitesi Basımevi, 5. Baskı s: 269. Bornova – İzmir.
- Serhatlı S., 2008. Toprak Kirliliğinin İzlenmesinde Biyolojik Araçların Kullanımı ve Geliştirilmesi (Yüksek Lisans Tezi), Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye.
- Sheoran I.S., Singal H.R ve Singh R., 1990. Effect of Cadmium and Nickel on Photosynthesis and Enzymes of Photosynthetic Carbon Reduction Cycle in Pigeon Pea (*Cajanus cajan*). *Phytosynthesis Research*, 23: 345-351.
- Solomon M., Belenghi B., Delledonne M., Menachem E. ve Levine A., 1999. The Involvement of Cysteine Protease and Protease Inhibitor Genes in Regulation of Programmed Cell Death in Plants. *Plant Cell*, 11: 431-443.

- Stephan U. ve Scholz G., 1993. Nicotianamine: Mediator of Transport of Iron and Heavy Metals in the Phloem. *Plant Physiology*, 60: 903-906.
- Taboada - Castro M.M., Dieguez - Villar A., Taboada – Castro M.T., 2002. Effect of Soil Use and Agricultural Practices in Heavy Metal Levels in Surface Waters. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 33(15-18): 2833-2849.
- Tappel A.L., 1973. Lipid Peroxidation Damage to Cell Components. *Federation Proceedings of Biochemistry*, 32: 1870-1874.
- Taylor J. B., 1986. Biosystematic of the Tomato in J.G. Atherton and J. Rudich (eds). *The Tomato Crop: A Scientific Basis for the Improvement*, 1-34. Chapman and Hall. London.
- Terzi H. ve Yıldız M., 2011. Ağır Metaller ve Fitoremediasyon: Fizyolojik ve Moleküler Mekanizmalar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11: 1-22.
- Theophanides T., 1981. Fourier Transform Infrared Spectra of Calf Thymus DNA and Its Reactions with the Anticancer Drug Cisplatin. *Applied Spectroscopy*, 35: 461-465.
- Thurman D.A, 1981. Mechanisms of Metal Tolerance of Higher Plant. 239-249. In: *Effect of Heavy Metal Pollution on Plants*, 2: (N.W. Lepp, ed.)239-250. Applied Science Publisher, London.
- Topçuoğlu B., Önal M.K. ve Arı N., 2003. Toprağa Uygulanan Kentsel Arıtma Çamurunun Domates Bitkisine Etkisi I. Bitki Besinleri ve Ağır Metal İçerikleri. *Akdeniz Üniversitesi ve Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1): 87-96.
- TÜİK, 2008. www.tuik.gov.tr (erişim 13.06.2013).
- Türkiye Cumhuriyeti-Ekonomi Bakanlığı, 2012.
- Ulus Y., 2007. Farklı Dozlardaki Kadmiyumun Maydonoz (*Petroselinum hortense* Hoffm) Bitkisinde Fotosentetik Pigmentler ve Oksidatif Enzim Aktivitelerine Etkisi (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye.
- Van Assche F. ve Clijster C.P.H., 1990. Effects of Metals on Enzyme Activity in Plants. *Plant Cell Environment*, 13: 195-206.
- Van Assche F., ve Clijsters H., 1999. Inhibition of Photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by Treatment with Toxic Concentration of Zinc: Effect on Ribulose-1,5 Biphosphate Carboxylase/Oxygenase. *Journal of Plant Physiology*, 125: 355-360.
- Vangronsveld J.ve Clijsters H., 1994. Toxic Effects of Metals. In: Farago ME (ed), *Plants and the Chemical Elements. Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity. Verlagsgesellschaft. Weinheim*, 150-177.
- Vassilev A. ve Yordanov I., 1997. Reductive Analysis of Factors Limiting Growth of Cadmium Treated Plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 23(3-4): 114-133.

- Yang D. ve Wang A.H-J., 1996. The Structural Studies of Interactions Between Anticancer Platinum Drugs and DNA. *Progress Biophysics and Molecular Biology*, 66:81-11.
- Yıldız N. Ve Aksu E., 2005. Erzurum- Daphan Ovası Topraklarının Ağır metal (Ni, Cd, Cr, Co ve Pb) Durumunun Değerlendirilmesi. GAP IV Tarım Kongresi, Bildiriler. Şanlıurfa.
- Zembala M., Filek M., Walas S., Mrowiec H., Kornaś A., Miszalski Z. ve Hartikainen H., 2010 .Effect of Selenium on Macro and Micro element Distribution and Physiological Parameters of Rape and Wheat Seedlings Exposed to Cadmium Mejarastress. *Plant and Soil* 329(1-2):457-468.
- Zengin K.F ve Munzuroğlu Ö., 2005. Fasülye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L. Strike) Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Bazı Ağır Metallerin (Ni^{+2} , Co^{+2} , Cr^{+3} , Zn^{+2}) Etkileri. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1): 164-172.
- Zengin F.K. ve Munzuroğlu Ö., 2006. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Fidelerinin Toplam Çözünebilir Protein, Prolin ve Klorofil Miktarları Üzerine Civa Klorürün ($HgCl_2$) Etkileri. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 18(1): 25-30.
- Zornoza P., Robles S. ve Martin N., 1999. Alleviaton of Nickel Toxicity by Ammonium Supply to Sunflower Plants. *Plant and Soil*, 208: 221-226.
- Zornoza P., Vazquez S., Esteban E., Fernandez- Pascual M. ve Carpena R., 2002. Cadmium Stress in Nodulated White Lupin: Strategies to Avoid Toxicity. *Plant Physiology Biochemistry*, 40: 103-107.
- [http://tektarim.com.tr/?sayfa=urunayrinti](http://tektarim.com.tr/?sayfa=urunayrinti&tur=tohumlar&kategori=domates&icerik=domates&no=275)
&tur=tohumlar&kategori=domates&icerik=domates&no=275 (erişim 15.05.2013)
- <http://www.ibp.gov.tr/pg/sectorpdf/tarim/tazemeyvesebze.pdf>.
- <http://www.santes.com.tr/content.php?cid=79> (erişim 10.05.2013).
- http://www.simbiyotek.com/TOPRAK_KIRLILIGININ_KONTROLU_YONETMELIGI.htm

ÇİZELGELER

Sayfa No

Çizelge 1. Endüstri türüne göre ortama salınan ağır metaller.....	2
Çizelge 2. Domates meyvesinin (100 g) kimyasal kompozisyonu.....	9
Çizelge 3. Dünya yaş sebze ve meyve üretiminde ilk 10 ürün.....	10
Çizelge 4. Ülkemiz yaş sebze ve meyve ihracatı.....	11
Çizelge 6. <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus özellikleri.....	30
Çizelge 7. Araştırma kapsamında kullanılan ağır metaller.....	32
Çizelge 8. Protein standart verileri.....	36
Çizelge 9. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde nikel uygulamaları sonucu oluşan protein ortalama değer ve standart sapmaları.....	38
Çizelge 10. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde kadmiyum uygulamaları sonucu oluşan protein ortalama değer ve standart sapmaları.	40
Çizelge 11. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde bakır uygulamaları sonucu oluşan protein ortalama değer ve standart sapmaları.....	41
Çizelge 12. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. invictus fidelerinde nikel uygulamaları sonucu peroksidaz ortalama değer ve standart sapmaları.....	43
Çizelge 13. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. invictus fidelerinde Cd(NO ₃).4H ₂ O uygulamaları sonucu peroksidaz ortalama değer ve standart sapmaları. ...	44
Çizelge 14. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde CuCl ₂ uygulamaları sonucu peroksidaz ortalama değer ve standart sapmaları.....	45

ŞEKİLLER

Sayfa No

Şekil 1. Ağır metallerin doğaya yayılımları	3
Şekil 2. Domatesin ve yabancı akrabalarının ana vatanı	7
Şekil 3. Seçici iyon kanalından madde geçişi	16
Şekil 4. Oksidatif stres	18
Şekil 5. Bitkilerde ağır metal birikimi.	28
Şekil 6. <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. invictus.	29
Şekil 7. <i>In vivo</i> koşullarda yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. fideleri.....	31
Şekil 8. Ağır metaller.....	31
Şekil 9. Homojenatlar.	35
Şekil 10. Protein standart grafiği ve denklemi.....	36
Şekil 11. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde nikel uygulamaları sonucu oluşan protein değişimi.	38
Şekil 12. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde kadmiyum uygulamaları sonucu oluşan protein değişimi	39
Şekil 13. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. invictus fidelerinde bakır uygulamaları sonucu oluşan protein değişimi.	41
Şekil 14. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde nikel uygulamalarının peroksidaz artışına etkileri.....	42
Şekil 15. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde Cd(NO ₃).4H ₂ O uygulamalarının peroksidaz artışına etkileri.	44
Şekil 16. <i>In vivo</i> yetiştirilen <i>Lycopersicum esculentum</i> Mill. cv. invictus fidelerinde bakır klorür uygulamalarının peroksidaz artışına etkileri.	45
Şekil 17. Mitotik anafazda kutup kayması (Bakır klorür, 40X lik büyütme).	46
Şekil 18. Mitotik anafazda kalgın kromozom ve düzensiz kromozom dağılımı (kadmiyum nitrat, 40X lik büyütme).....	46
Şekil 19. Mitotik telofazda enine bölünme (Bakır klorür, 40X lik büyütme).	47
Şekil 20. Mitotik düzensiz kromozom dağılımı (Nikel klorür, 40Xlik büyütme).	47
Şekil 21. Mitotik anafazda kalgın kromozom ve düzensiz dağılım (Kadmiyum nitrat, 40Xlik büyütme).	48
Şekil 22. Mitotik metafazda tabla kayması (Nikel klorür, 40X lik büyütme).	48
Şekil 23. Mitotik metafazda kalgın kromozo (Kadmiyum nitrat, 40Xlik büyütme)	49
Şekil 25. Nikel, kadmiyum ve bakır uygulamaları sonucu elde edilen protein verilerinin karşılaştırılması.....	50

Şekil 26. Nikel, kadmiyum, bakır uygulamaları sonucu elde edilen peroksidaz verilerinin karşılaştırılması.....	51
--	----

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Gülru YÜCEL
Doğum Yeri : Tekirdağ/Çorlu
Doğum Tarihi: 22.08.1989

EĞİTİM DURUMU: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü 2011 Mezunu.

BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

Yücel G, Akı C. Borik Asitin Farklı Konsantrasyonlarının *Allium cepa* Kök Ucu Hücreleri Üzerine Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Ekoloji 2013 Sempozyumu, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi. 2-3 Mayıs 2013, Tekirdağ

Yücel G, Deniz İ, Akı C. “Çanakkale İlinde Yaşayan Bireylerin Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar (GDO) Hakkındaki Bilgi Düzeylerinin Tespiti Üzerine Bir Çalışma ”. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı) (Poster). Ege Üniv., Fen Fak., 03-07 Eylül 2012.

Hız M.M. , Akı C., Yücel G., Nanoparticles: Great Promise for Threatment of Central Nervous System Disorders. Development and Function of he Nervous System. October 14-16, 2011.

X. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi Teşekkür Belgesi.

İŞ DENEYİMİ:

Unipro Firmasında Stajyer
Devlet Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı

İLETİŞİM: guj_r@hotmail.com

gulru.yucel.1@gmail.com