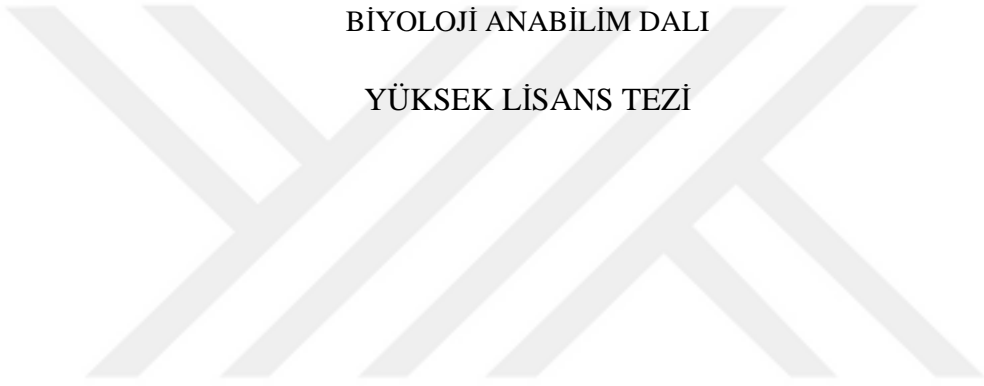


GİRESUN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ



*ALLIUM CEPA*'DA  $Pb(NO_3)_2$ 'NİN SEBEP OLDUĞU FİZYOLOJİK,  
ANATOMİK VE SİTOGENETİK DEĞİŞİMLERİN ARAŞTIRILMASI

NURCAN GİRASUN

HAZİRAN

2017

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

Prof. Dr. Başak TAŞELİ

..../..../2017

\_\_\_\_\_  
Müdür

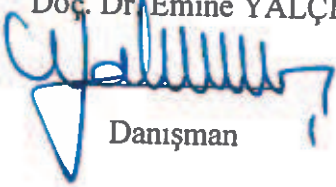
Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İhsan AKYURT

\_\_\_\_\_  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Doç. Dr. Emine YALÇIN

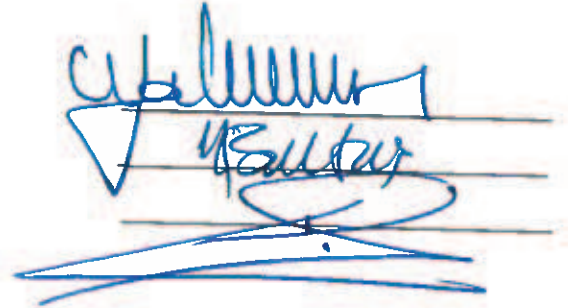
  
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Emine YALÇIN

Doç. Dr. Yusuf BEKTAŞ

Doç. Dr. Kültiğın ÇAVUŞOĞLU



## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLolar DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Ağır Metaller.....	2
1.1.1. Kurşun.....	3
1.1.2. Bitkisel Hücrelerde ve Dokularda Pb Lokalizasyonu, Transportu ve Akümülasyonu.....	3
1.1.3. Kurşun'un Canlılar Üzerine Toksik etkileri.....	5
1.1.3.1. Bitkiler Üzerindeki Toksik Etkisi.....	5
1.1.3.2. Kurşunun Diğer Canlılar Üzerine Etkileri.....	10
1.1.4. Bitkilerde Kurşun Toksisitesine Karşı Geliştirilen Tolerans Mekanizmaları.....	13
1.2. Toksikite Testleri.....	14
1.1.1. Comet Testi.....	15
1.1.2. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Test.....	15
1.1.3. Kromozom Anormallikleri Testi.....	16
1.1.4. Mikronukleus Testi.....	17
2. MATERYAL VE METOT.....	19
2.1 Kök Uçlarının Hazırlanması.....	19
2.2. Kök Uzunluğu ve Ağırlık Kazanımı Belirlenmesi.....	19
2.3. Kromozomal Anormallikler, Mitotik İndeks ve Mikronükleus Testi.....	19
2.4. Anatomik Hasarın Belirlenmesi.....	20
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	21

## 1.GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızla artması ve bu artışa karşı gelişen endüstrileşme beraberinde pek çok sorunu da ortaya çıkarmıştır. Çevre kirliliği ve bu kirliliğe maruz kalan canlıların olumsuz yönde etkilenmesi ortaya çıkan en önemli sorunlardandır. Günümüzde endüstriyel sektörlerde pek çok alanda çeşitli kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Çevreye ciddi zarar veren ve canlı organizmalar üzerine toksik etkiye neden olan ağır metallerde endüstriyel alanlarda sıkça kullanılan kimyasallardır.

Ağır metallerin çevreye yayılma yolları maden ocakları, cevher eritme ve maden işleme tesislerinin katı atıkları, fabrika veya termik santrallerin bacasından çıkan uçucu küller, atık su arıtma çamurları, otoyollarda araçlardan salınan benzin, balata ve lastik kökenli atıklar ve tarım ilaçları ile ticari gübreler yoluyla yayılan ağır metaller, pil vb. endüstri ürünlerinin atıklarının çevreye yayılmasıdır. Özellikle kabloların koruyucu kaplamalarında, çeşitli levha, boru, cephane, boya ve lehim üretiminde, radyoaktif vb. ışıklardan korunma araçlarında ağır metaller yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ağır metaller, biyolojik tepkimelere katılma durumlarına göre yaşamsal ve yaşamsal olmayan olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Yaşamsal olan ağır metallerin canlı organizmalarda belirli bir seviyede bulunması gerekmektedir. Bu metaller canlılarda pek çok biyolojik reaksiyonlarda rol almaktadır ve bu nedenle düzenli olarak besin yoluyla alınması gerekmektedir. Yaşamsal olmayan ağır metaller ise canlı organizmalarda çok düşük dozlarda bile ciddi hastalıklara neden olmaktadır (1, 2).

Kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, civa ve çinko olmak üzere pek çok metal, yoğunluğu  $5 \text{ g/cm}^3$ 'ten daha yüksek olan ağır metaller sınıfına girmektedir. Bu ağır metallerden yüksek toksik etki gösteren kurşun, çevremizdeki sanayi kuruluşlarının faaliyetleri sonucu atık ürün olarak oluşabildiği gibi, günlük yaşamımızda kullandığımız araçların egzozlarından da çevreye yayılabilmektedir. İnsan vücudunda tespit edilebilen kurşun miktarı ortalama olarak 125-200 mg düzeyindedir ve normal fonksiyonlarda 1-2 mg kurşun vücuttan uzaklaştırılmaktadır (3).

Ağır metallerin özellikle kurşunun canlılar üzerindeki olumsuz etkilerine dair ilk çalışmalar 40 yıl öncesine dayanmaktadır (4). Bitkiler ile yapılan ilk çalışmalarda

kurşunun klastojenik, yani DNA ve kromozomda hasar yapıcı etki gösterdiği belirlenmiştir (5).

Bu çalışmada kurşunun muhtemel toksik etkileri  $Pb(NO_3)_2$  uygulanan *A. cepa*'da fizyolojik, anatomik ve sitogenetik parametreler kullanılarak araştırılmıştır. Fizyolojik etkiler; ağırlık artışı ve kök uzunluğunun incelenmesi suretiyle, sitogenetik etkiler; kromozomal anormallik, mikronukleus (MN) sıklığı ve mitotik indeks (MI) değerlerinin belirlenmesiyle, anatomik hasarlar soğan kök uçlarından enine kesitler alınarak mikroskopta inceleme işlemiyle araştırılmıştır.

### **1.1.Ağır Metaller**

Ağır metaller, özgül ağırlıkları  $5 \text{ gr/cm}^3$ ' den büyük olan ve atom numarası 20'den fazla olan elementlerdir. Ağır metaller grubunda 70 kadar element bulunmakla birlikte ekolojik açıdan önem arz eden 20 element; Demir, Mangan, Çinko, Bakır, Vanadyum, Molibden, Kobalt, Nikel, Krom, Kurşun, Berilyum, Kadmiyum, Talyum, Antimon, Selenyum, Kalay, Gümüş, Arsenik, Civa ve Aliminyumdur. Bu elementlerden bazıları canlılar için mikro element olarak rol oynamakta ve belirli düzeylerde toksik etki göstermemektedir. Bitki gelişimi için ağır metaller; eser metaller (Fe, Cu, Zn, Mn ve Mo), gelişimi teşvik edenler (V, Co ve Ni) ve toksik olanlar (As, Pb, Cd, Cr ve Hg) olarak sınıflandırılabilir (6).

Ağır metaller doğal yollarla ya da çeşitli endüstriyel faaliyetler sonucu sularda kirlilik oluşturmaktadır. Doğal yollarla kontaminasyon toprak erozyonu, volkanik aktiviteler ve atmosferik partiküller ile ortaya çıkarken, endüstriyel kontaminasyon metal işleme, tekstil ve nükleer sektörlerin faaliyetleri sonucu ortaya çıkmaktadır. Toprak ve sucul ortamların ağır metalle kontaminasyonu ekosistem faaliyetleri üzerinde olumsuz etki göstermekte ve fotosentez, solunum, gibi pek çok metabolik yolları etkileyerek bitki gelişimini, büyümesini önemli düzeyde olumsuz yönde etkilemektedir. Ağır metallerin doku ve organlardaki aşırı birikimi ise bitkilerin vejetatif ve generatif organlarının gelişimini olumsuz yönde etkilemekte; transpirasyon, stoma hareketleri, su alımı, enzim aktivitesi, çimlenme, protein sentezi gibi metabolik olaylarda aksamaya yol açmaktadır (7).

### 1.1.1. Kurşun

Kurşun, çevreye özellikle atmosfere metal veya bileşik olarak kontamine olmakta ve akümülyasyon özelliğinden dolayı yüksek toksisite sergilemektedir (8). Kurşun pek çok endüstriyel alanda sıkça kullanılmakta ve ciddi olumsuz etkilere neden olmaktadır. Benzin katkı maddelerinin, otomobil parçalarının, pestisitlerin, batarya ve pillerin üretiminde kurşun kullanılmaktadır. Ayrıca kentsel atıklar, taşıtların egzoz dumanları, madensel ve volkanik faaliyetler, tarımda kullanılan gübre ve ilaçlar kurşun kontaminasyonunun başlıca nedenlerindedir (9). Bitki büyümesi için elzem olmayan kurşunun topraktaki konsantrasyonun 150 ppm düzeyde kalması insan ve bitki sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmamaktadır. Fakat 300 ppm düzeylerini aşması durumunda insan ve çevre sağlığı açısından ciddi risk oluşturmaktadır (10).

Genel olarak çevreye salınan kurşun  $Pb_3(PO_4)_2$ ,  $Pb_4O(PO_4)_2$ ,  $Pb_5(PO_4)_3OH$  ve  $PbCO_3$  bileşikleri oluşturmakta ve söz konusu bileşikler aracılığıyla besin zincirine girmektedir (11).

### 1.1.2. Bitkisel Hücrelerde ve Dokularda Pb Lokalizasyonu, Transportu ve Akümülyasyonu

Pb, bitkisel dokulara toprak ve havadaki partiküller aracılığıyla giriş yapmaktadır. Bitki köklerinin kurşun alımında yüksek yetenek sergilediği daha sonra üst dokulara taşındığı bilinmektedir (12). Miller and Koeppe (1971), *Zea mays* L. bitkilerinde kurşunun özellikle yaprak dokularında yüksek oranda akümüle edildiğini rapor etmişlerdir (13).

Kurşunu yapraklar yoluyla alan ve akümüle eden bitkilerde, yaprak dokularının atmosferik partikülleri yüksek oranda absorbe edebilme yeteneğine ve spesifik yaprak morfolojisine sahip olduğu düşünülmektedir (14).

Toprak partikül büyüklüğü, kation değişim kapasitesi, kök yüzey alanı, mikorizasyon ve transpirasyon oranları bitkilerin Pb alımını etkileyen önemli faktörlerdir (15). Pb absorpsiyonunun pH'a bağımlı gerçekleştiği ve pH'nın 3.0'dan 8.5'e artması ile birlikte Pb alımının arttığı da rapor edilmektedir (16).

Bununla birlikte Blaylock ve arkadaşları (1997) (17). pH 5.5 ve 7.5 aralığında Pb çözünlüğünün fosfat ve karbonat iyonları ile kontrol edildiği ve Pb alımının bu pH'larda düşük olduğunu belirtmişlerdir. Toprakta Pb, zayıf Lewis asidi olarak sınıflandırılmakta ve organik/kolloidal bileşiklere zayıf bir şekilde bağlı bulunmaktadır. Bu durumda bitki tarafından Pb alımı azalmaktadır. Pb, bitkide kök yüzeyindeki müsilaj tabakasında üronik aside bağlanmaktadır. Bu bağlanma üronik asidin karboksil grupları aracılığı ile gerçekleşmektedir. Bu bağlanma kök sistemini koruyan bir bariyer olarak işlev görmekte ve bu yolla Pb'nin bitkisel dokulara geçişi engellenmektedir. Müsilaj tabakasının hasar gördüğü durumlarda bağlanan metaller bariyeri geçerek bitkisel dokulara ulaşabilmektedir (18). Toprakta bulunan mikroorganizmalarda Pb'nin bitkisel dokulara geçişinde etkin bir faktördür. Topraktaki metaller, mikroorganizmalar tarafından biyosorpsiyon, biyoakümülyasyon ve solubilizasyon işlemleri ile elimine edilmekte ve bitkisel dokulara ulaşması engellenmektedir. Marschner ve arkadaşları (1996) (19), Norveç ladininde Pb'nin bitkisel dokulara girişinde ektomikorizaların önemli bir rol oynadığını rapor etmişlerdir. Hücre zarında Pb'ye karşı afinite sergileyen ve Pb bağlanabilen gruplar, bitkisel dokularda özellikle köklerde Pb akümülyasyonunda önemli bir role sahiptir. Kurşun karbonat bileşiği bitkisel dokularda özellikle hücre zarında birikme eğilimine sahiptir. Düşük pH'da EDTA gibi sentetik şelatların ortama eklenmesi, Pb'nin hücre duvarında birikmesini önlemektedir (20). Bitkide kök dokusu tarafından alınan Pb, hücre duvarındaki karbohidratlardan galakturonik asit ve glukuronik asit gruplarına bağlanarak kök dokularında kalmakta ve bu bağlanma Pb'nin apoplasttan diğer dokulara transportunu kısıtlamaktadır (21). Pb'nin kök hücrelerine girişi hücre zarını geçerek gerçekleşmektedir ve Pb'nin kalsiyum kanalları gibi katyon kanallarından geçerek hücrelere girdiği tahmin edilmektedir (22, 23). Huang ve Cunningham (1996) (24), Pb'nin buğday kök hücrelerinde voltaj kapılı Ca kanallarını inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Bu inhibisyon direkt Pb inhibisyonu yada Pb ve Ca'nın voltaj kapılı kanallar için yarışmalı transportu ile ilişkilendirilmiştir. Tomsig ve Suszkiw (1991) (25), Pb'nin Ca kanalları ile hücrelere girdiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca voltaj kapılı kanallardan Pb geçişinin, Ca kanalı inhibitörü olan nifedipin ile bloke olduğunu, Ca kanalı aktivatörü olan BAY K8644'nin ise Pb geçişini hızlandırdığını belirtmişlerdir. Bu sonuç ise Pb'nin Ca kanallarını kullanarak kök hücrelerinde girişini doğrulamaktadır. Kök hücresine giren Pb, apoplastta hareket

etmekte ve korteksi geçerek endodermiste akümüle olmaktadır. Endodermis, Pb'nin kök ve sürgüne arasındaki geçişte bariyer görevi görmektedir ve bu durum sürgüne kıyasla göre kökte daha fazla Pb birikimini açıklamaktadır. Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>'ye maruz kalan *Oryza sativa* L.'da kök hücrelerinin büyümesi %22-42 oranında azalırken, sürgün gelişimi %25 oranında azalmıştır (26, 27). Bu sonuç endodermisin bariyer görevi üstlendiği hipotezini desteklemektedir. Pb'nin bitkisel dokularda birikimi ve transportu maruziyet dozu ile yakından ilişkilidir. Düşük konsantrasyonlarında Pb, apoplastta kalırken, yüksek konsantrasyonlarda bariyer görevi üstlenen komponentlerin hasar görmesi sonucu Pb, hücre içine girmekte ve diğer dokulara taşınabilmektedir (28). Köke olan uzaklık arttıkça, toprak üstü dokulara Pb transportu ve akümülyasyonu da azalmaktadır. Bitkisel dokularda Pb akümülyasyonun sıralaması kök>yaprak>gövde>çiçek>tohum şeklindedir. Fakat bitki türüne göre bu sıralama farklılık gösterebilmektedir. *Allium cepa*'da kök ucunda Pb lokalizasyonu en yüksek oranda iken kökteki diğer kısımlarda Pb lokalizasyonu düşük düzeydedir (29). Yapraklarda Pb birikimi daha çok yaşa bağlı olarak değişmekte ve yaşlı yapraklarda Pb birikimi maksimum düzeye ulaşmaktadır (14). Pb elementi bitkilerin kök kısmında sürgünlere nazaran daha fazla birikmektedir. 500 ve 1000 µM Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulanan *Oryza sativa* bitkisinde kök büyümesinin %22-42 ve sürgün büyümesinin %25 oranında azaldığı, kökler tarafından emilen Pb oranının sürgünlere oranla 1.7-3.3 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir (27).

Hücrelerde ise kurşun endoplazmik retikulum ve diktiyozomlarda daha düşük düzeylerde bulunurken, hücre duvarı ve vakuollerde daha yüksek oranda bulunmaktadır. Hücrede total Pb oranının %96'sı hücre duvarı ve vakuollerde tespit edilmiştir (30). Vakuollerdeki yüksek Pb akümülyasyonu, diğer organellerin toksisiteye karşı koruması ile ilişkilendirilmiştir. Vakuollerde yüksek Pb birikimi, nükleus ve mitokondriye Pb geçişini kısıtlamakta ve bu organellerin yüksek toksisiteden korunması sağlanmaktadır (31).

### **1.1.3. Kurşun'un Canlılar Üzerine Toksik etkileri**

#### **1.1.3.1. Bitkiler Üzerindeki Toksik Etkisi**

Kurşun belirli doz aşımı durumunda bitki gelişimini ve büyümesini olumsuz yönde etkileyen toksik ağır metaller arasında civa ve kadmiyumla birlikte ilk sıralarda yer



almaktadır (27). Bitkisel dokularda kurşun birikimi bitkilerde strese neden olmakta ve bu stres kök gelişimi üzerine ve kütle artışı üzerinde olumsuz etkilere, fotosentez metabolizmasında aksamalara, klorofil sentezinde azalmaya neden olmaktadır. Kurşun, hücre duvarının stabiletisini bozarak hücrede pek çok hasara neden olmakta ve stoma hareketlerinin yavaşlamasına, yaprak alanının azalmasına da neden olmaktadır. Tüm bu etkiler bitkide su alımı ve transportunu da etkilemektedir (32). Ağır metallerin bitkisel doku ve organlardaki aşırı olarak birikimi bitkilerin vejetatif ve generatif organlarının gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir (7).

Ağır metaller toksik etkileri nedeniyle bitkilerde transpirasyon, stoma hareketleri, su alımı, fotosentez, enzim aktivitesi, çimlenme, protein sentezi, membran stabilitesi, hormonal denge gibi birçok metabolik olayın bozulmasına yol açmaktadır (9). Kurşun, bitkilerde hücrede turgor basıncını ve hücre duvarı stabilitesini olumsuz etkileyerek stoma hareketlerini ve yaprak alanını azaltmakta, su rejiminde değişikliğe yol açmaktadır. Aynı zamanda kök gelişimini azaltarak bitkilerin katyon ve anyon alımını etkilemekte ve besin alımını azaltmaktadır (33).

Kurşun maruziyeti, bitkilerde tohum çimlenmesi, hücre bölünmesi ve fotosentez üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bitkilerin detoksifikasyon kapasitesinden fazla metal akümülayonu bitkisel dokulara ciddi hasar vermektedir (34). Bitkisel dokularda kurşun, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden olmakta ve antioksidan enzim aktivitesinde artışa sebep olmaktadır (35). Dokularda ROS oluşumu bitkisel hücrelerde hasara, ATP üretiminin engellenmesine, lipid peroksidasyonunun artmasına ve DNA hasarına neden olmaktadır (36). Kurşun stresi *Sesbania drummondii* (37); *Triticum aestivum* (34); *Sesuvium portulacastrum* and *Brassica juncea* (38); *Salsola passerine* ve *Chenopodium album* (39); gibi pek çok bitkide çeşitli açıdan test edilmiştir. Her bitki türünde farklı toksik etki ve bu olumsuz etkilere karşı farklı tolerans mekanizmaları gözlenmiştir.

Kök büyümesinin inhibisyonu, çimlenme oranı, tolerans indeksinde azalma, kloroz ve büyümenin durması bitkilerde gözlenen spesifik olmayan Pb toksisiteleridir. Bitkisel dokulara kurşun kontaminasyonu sonucunda pek çok fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlar olumsuz yönde etkilenmektedir. Enzim inhibisyonu, elektron taşıma sistemi, hücre membranı yapısı ve işlevi ilk etkilenen

metabolizmalardır (40). Bitki kökleri Pb varlığına karşı büyüme oranını ve köklenmeyi azaltarak cevap vermektedir (41). Kök büyümesinin azalması kök ucu hücrelerinde hücre bölünmesinin inhibisyonu ile açıklanabilir (42). Pb uygulamasının bitkilerde mitotik anormalliklere, kromozom yapışkanlığına, iğ iplikleri anormalliklerine neden olduğu ve bu anormalliklerinde hücre bölünmesini inhibe ettiği de rapor edilmiştir (43).

Çimlenme döneminde Pb'ye maruz kalan Mısır bitkisinde çeşitli dokularda kütle artışı olduğu rapor edilmiştir. Bu artış, Pb toksisitesine karşı cevap olarak hücre duvarı polisakaritlerinin sentezindeki artış ile ilişkilendirilmiştir (44). Pb toksisitesi sonucunda hücrelerde protein içeriği azalmakta, lipid kompozisyonu ise değişmektedir (45, 46). *P. vulgaris* ve *Zea mays* türlerinde Pb uygulaması sonrasında glikolipid düzeylerinin değiştiği, özellikle kloroplastlarda geçirgenlikle ilgili olan monogalaktozil diaçilgliserol lipid oranının değiştiği belirlenmiştir (47). Pb varlığının bitkilerde doymuş yağ oranlarını azalttığı, doymamış yağ oranlarını ise artırdığı belirlenmiştir (46).  $10^{-5}$ - $10^{-4}$  mM Pb konsantrasyonlarının pek çok enzimatik aktiviteyi %50 oranında azalttığı bilinmektedir. Bu konsantrasyon inaktivasyon sabiti olarak değerlendirilmektedir. Pb toksisitesi özellikle sülfidril grubu içeren enzimlerde belirgin şekilde ortaya çıkmaktadır. Bu enzimler aktiviteleri için sülfidril grubuna ihtiyaç duymaktadır. Pb, sülfidril grubuna bağlanarak bu enzimleri inhibe etmekte ve bu enzimlerin görev aldığı metabolik yolu bozmaktadır (48). -SH grubu dışında da Pb enzimlerde pek çok aktif grup üzerinden inhibisyona neden olmaktadır. Ayrıca -COOH gruplarında Pb ile bloke olması enzim inhibisyonunda önemli bir paya sahiptir. Metaloenzimlerde metal grubunun Pb ile yer değiştirmesi sonucu metaloenzimlerin inhibisyonunda gerçekleşmektedir.

Bitkilerde klorofil sentezinde önemli bir enzim olan amino laevulinat dehidrogenaz, Pb tarafından güçlü bir şekilde inhibe edilmektedir (49). Pentoz fosfat yolunda yer alan enzimlerde, Pb tarafından inaktive edilmektedir (50). Vallee ve Ulmer (1972), 5  $\mu$ M kurşun nitrat varlığında ribuloz-bifosfat karboksilaz/oksijenaz enziminin inhibe edildiğini, laktat dehidrojenaz enzim aktivitesinde azalma olduğunu, pirüvat kinaz aktivitesinin ise kurşun nitrat varlığında arttığını rapor etmişlerdir (51). Mukherji and Maitra, (1976), kurşun asetatı maruz kalan pirinç endosperm dokularında proteaz ve alfa-amilaz aktivitelerinin azaldığı, ribonükleaz ve deoksiribonükleaz aktivitelerinin

etkilenmediğini rapor etmişlerdir (52). Benzer şekilde kurşun nitrat uygulamasının soya fasülyesi yapraklarında glutamat dehidrogenaz aktivitesini azalttığı, malat dehidrogenaz aktivitesinde ise herhangi bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir (53). Kurşunun güçlü bir ATP sentetaz/ATPaz inhibitörü olduğu da bildirilmektedir (54). CO<sub>2</sub> asimilasyonunda önemli bir role sahip olan ribuloz-bifosfat karboksilaz enziminin kurşun toksisitesine karşı duyarlı olduğu, oksijenaz enziminin ise Pb toksisitesinden etkilenmediği bildirilmektedir (48). Pb uygulanan bitkisel dokularda NAD<sup>+</sup>-malat dehidrogenaz aktivitesinin arttığı, bu artışın kontrol grubuna kıyasla 3 kat fazla olduğu belirlenmiştir (55). Bununla birlikte kurşun maruziyeti ile birlikte metalo-enzim aktivitelerinde azalma olduğu da bilinmektedir. Pb tarafından inhibe edilen farklı metabolik yollarda görev alan enzimler Tablo 1.1 'de özetlenmiştir.

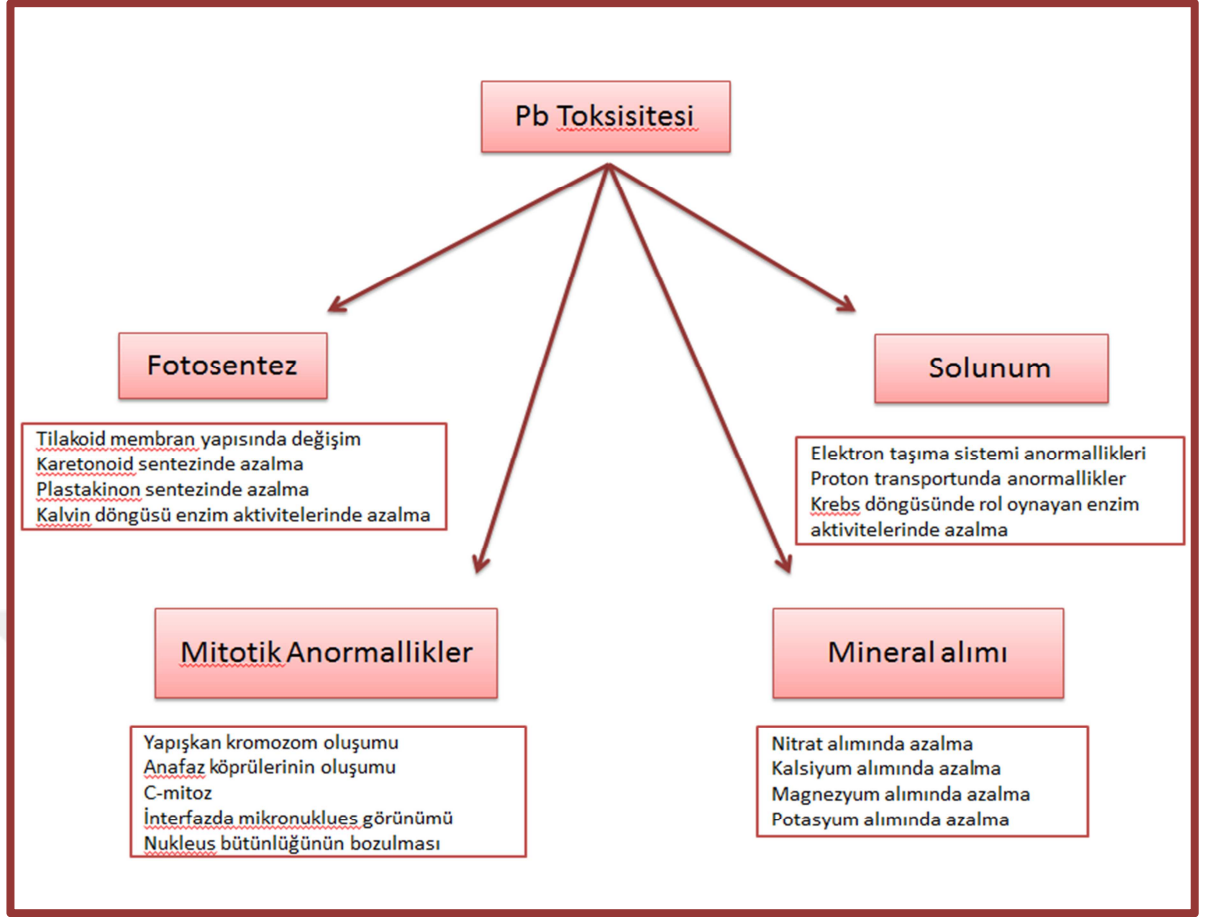
**Tablo 1.1.** Pb tarafından inhibe edilen farklı metabolik yollarda görev alan enzimler

Metabolik yol	Enzim	Tür
Nükleoliz	Deoksiribonükleaz	Hydrilla verticillata
Proteoliz	Proteaz	Hydrilla verticillata
Fosfohidrolaz	Asit fosfataz	Glycine max
Antioksidan metabolizma	Katalaz	Oryza sativa
Antioksidan metabolizma	Guaiacol peroksidaz	Glycine max
Antioksidan metabolizma	Askorbat oksidaz	Phaseolus aureus
	Glutayon redüktaz	Oryza sativa

Enzim sentezindeki değişim, enzim inhibitörlerinin immobilizasyonu gibi nedenlerle bazı enzimatik aktivitelerin Pb uygulaması sonrasında hızlandığı da rapor edilmektedir. 20-100 mg L<sup>-1</sup> Pb uygulanan soya fasülyesinde asit fosfataz, alfa-amilaz ve peroksidaz enzimlerinin aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Pb uygulaması bitkilerde reaktif oksijen türlerinin artışına neden olmakta ve bu etki antioksidan enzim aktivitesinde artışa yol açmaktadır. 0.5 mM ve 1 mM Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> maruziyetinde Piriç kök ve yaprak dokularında süperoksit dismutaz, guaiacol peroksidaz, askorbat peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitelerinde artış olduğu gözlenmiştir (27).

Pb, fotosentez metabolizmasındaki basamakları da olumsuz yönde etkilemektedir. Pb iyonları bitkilerde stoma yapısındaki değişime bağlı olarak CO<sub>2</sub> eksiliğine, kalvin döngüsü enzimlerin inhibisyonuna, elektron transferinde aksamalara, klorofil, plastokinon, karetonoid sentezinde azalmaya, kloroplast yapısında bozulmalara neden olarak fotosentetik aktiviteyi azaltmaktadır. Pb maruziyetinde *Ceratophyllum demersum* yaprak dokularında kloroplast yapısının bozulduğu da rapor edilmektedir (56). Kloroplastlarda ise grana, stroma ve lamel sistemlerinde bozulma, tilakoid membran lipidlerinin kompozisyonunda değişim ve nişasta granüllerinde azalma olduğu gözlenmiştir (46). Kurşun, Magnezyum ve Demir iyonlarının alımını azaltarak klorofil sentezini inhibe etmektedir (57). N- ve S- ligand afinitesinden dolayı fotosentetik yapılarda bozulmaya, klorofilaz aktivisinde artışa neden olarak klorofil degradesyonuna sebep olmaktadır (58). Pb toksisitesine karşı Plastokinon II'nin plastokinon I' göre daha duyarlı olduğu ve Plastokinon II, sitokrom b/f kompleksi ve Plastokinon I komplekslerinin inhibisyonu ile elektron taşıma sistemini de olumsuz etkilendiği bilinmektedir (59, 60).

Pb konsantrasyonunun artması ile birlikte bitkilerde solunum oranının azaldığı da rapor edilmektedir (61). Bu azalma ETS sisteminde elektron akışının bozulması ile ilişkilendirilmiştir (62, 63). 20 mM Pb uygulanan mısır kök ucu hücrelerinde bir saatlik uygulama sonunda solunumun %10-17 oranında azaldığı, üç saatlik uygulama sonucunda ise %40 oranında azaldığı belirlenmiştir (64). Pb, mısır yapraklarında ATP/ADP oranının artmasına neden olurken bu artışın mitokondrial ATP oranı ile doğrudan bağlantılı olduğu rapor edilmektedir. Ayrıca fotosentez inhibisyonu, CO<sub>2</sub> fiksasyonu için gerekli olan ATP'nin daha az kullanılmasına, ATP/ADP oranının artmasına neden olmaktadır (48). Kurşun maruziyetinin bitkisel metabolik yollar üzerine etkisi Şekil 1.1'de verilmiştir.



**Şekil.1.1.** Kurşun maruziyetinin bitkisel metabolik yollar üzerine etkisi

### 1.1.3.2. Kurşunun Diğer Canlılar Üzerine Etkileri

Sucul ekosistemin önemli bir parçası olan ve besin zinciri yoluyla diğer canlılarla da alakalı olan balıklar, büyük oranda metal kirliliğine maruz kalmaktadır. Ağır metallerin sucul ekosistemlerde yüksek dozda bulunması sucul organizmalar ve onları besin olarak tüketen diğer canlılar için potansiyel risk oluşturmaktadır (65). Bazı sucul organizmalar ağır metalleri belli bir düzeye kadar bünyelerinde depo edebilirler. Bu ağır metaller, ilk ulaştığı organizmada toksik olmasa da besin zinciri yoluyla insana ulaştığında, insan sağlığı üzerine olumsuz etkiler sergilemektedir (66). Balık dokularında biriken metal dozunun; sudaki besin zincirine, av rekabetine, su kimyasına ve göldeki hidrodinamikler gibi etkenlerle değiştiği gözlenmiştir (67). Ağır metal kirliliğine maruz kalan sularda yaşayan balıkların fizyolojik fonksiyonlarında olumsuz etkiler görüldüğü, bu balıkların immün sistemlerinin zayıfladığı ve bu sebeple de bulaşıcı hastalıklara yakalanma ve ölüm oranının arttığı

belirtilmiştir (68). Ağır metallere kurşunun balıklar üzerindeki toksik etkisi, suyun sertliği ve sudaki çözünmüş oksijen miktarının artışı ile azaltılabileceği gözlenmiştir (69). *L. cephalus* türünde Pb birikimini en fazla karaciğer, sonra kas ve solungaçta olduğu rapor edilmiştir.

Kurşun elementinin hava ile teması sonucu üzerinde borik karbonat oluşarak havaya 1-5 mikrondan küçük partiküller şeklinde hızla yayılabilir. Püskürtmeli uygulamalarda, solunum yoluyla yayıldığı ortamdan vücuda alınması ciddi semptomlara sebep olur. Solunum sistemi yoluyla vücuda nüfuz etmesi çok tehlikelidir (70). Üst solunum yoluyla absorbe edilen kurşunun geriye kalan kısmı akciğerden dolaşım sistemine karışır ve eritrositlerle birleşerek değişik organ ve dokulara ulaşır. Kemiklerdeki kalsiyumun yerine geçerek tersiyer kurşun fosfat  $Pb_3(PO_4)_2$  olarak depolanır. Eritrositlerin ömrünü kısaltır, hemoglobinin sentezini bozar (71). Renal ve Üriner Sistem üzerindeki tesiri ise ürik asidin artması ve bu suretle "kurşun gutu" oluşturmasıdır.

Kurşun insanlık tarihidaki konumu itibariyle bakıldığında Roma İmparatorluğu'nda su borularında, su saklama haznelerinde kullanıldığı bilinmektedir. Günümüz bilim insanları ve tarihçileri bu kullanım şeklinin Roma İmparatorluğu'nun sonunu hazırladığı kanaatine varmışlardır. Kurşun kaynaklı zehirlenme sonucunda, insanlarda düşünme kapasitesinin düşmesi, doğum oranlarındaki azalma ve kısalan yaşam süresinin bu çöküşün temel nedeni olduğu öne sürülmektedir (8).

Kurşun 20. y.y.'da büyük oranlarda paslanmayı önleyici oksit boya hammaddesi olarak kullanılmıştır. Kurşun oksidin hafif tatlımsı bir tadının olması çocukların bu boya maddelerinin döküntülerini yemelerine ve bunun sonucunda da bilhassa kurşuna karşı hassasiyetleri daha fazla olan küçük çocuklarda ciddi problemlerin baş göstermesine neden olmuştur. Almanya ve diğer gelişmiş ülkelerde 1971' de boya maddelerindeki kurşun kullanımı ve 1979' da ise yemek saklama kutularındaki kurşun kullanımını kısıtlayıcı yasalar düzenlenmiştir (8).

İnsan vücudunda bulunan kurşun miktarı tahminen 125-200 mg civarındadır ve normal şartlarda insan vücudu normal aktivitelerle günde 1-2 mg kadar kurşunu atabilme özelliğine sahiptir. İnsanların birçoğunun maruz kaldığı günlük miktar 300-400 mg'ı geçmemektedir. Buna karşın çok eski iskeletler üzerinde yapılan kemik analizleri ile günümüz insanı kemiklerinde, atalarımızdakilerin 500-1000 katı kadar fazla kurşun olduğunu göstermektedir (8). Kurşunun vücutta

emilimi çocuklarda daha yüksek olmakla birlikte normalde % 5 gibi düşük bir orandadır. Bu düşük oran bile kalsiyum ve demir gibi vücut için önem arz eden birçok mineralin vücut tarafından emilimine engel teşkil etmektedir. Kana karışan kurşun bu yolla kemiklere ve diğer dokulara kadar ulaşmakta veya dışkı yoluyla vücuttan uzaklaştırılabilmektedir. Kemiklerde biriken kurşun zamanla (yarılanma ömrü yaklaşık 20 yıl) çözünerek böbrekleri tahrip etmektedir. Kurşun bir tür nörotoksindir ve bu nedenle anormal beyin ve sinir sistemi fonksiyonlarına neden olmaktadır. Çocuklar üzerinde yapılan araştırmalarda kandaki kurşun dozu yükseldikçe IQ seviyesinde düşüş olduğu saptanmıştır. Öte yandan kurşun nörotoksik olma özelliğinden ötürü sinir sisteminde implusların iletiminin azalmasına da sebep olmaktadır. Kurşun özellikle kemiklerde depo edilmesine rağmen beyne, anne karnındaki cenine ve anne sütüne de geçebilmektedir. Bebekler ve çocuklarda daha düşük olan kurşun oranı, yaşın ilerlemesi ile birlikte, kurşuna maruz kalınmasıyla gitgide artmaktadır. Kanda  $40\text{mg L}^{-1}$  dozunu geçince tansiyonu yükseltici etkisi de ortaya çıkmaktadır.

Diğer taraftan kronik kurşun maruziyeti sperm sayısını sınırlandırarak morfolojisinde bozukluk oluşturmaktadır. Genel olarak doğaya salınan kurşun güçlükle çözünen bileşikler ( $\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{Pb}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ), ( $\text{PbCO}_3$ ) ( $\text{PbS}$ ) oluşturur, bu sebeple de besin zincirinde bulunan bitkiler yoluyla kurşun alımı söz konusu olmamaktadır. Besin zincirinde kurşunun diğer canlılara geçişi özellikle midye türü kalsiyum kabuklu canlılar üzerinden ve kalsiyum aracılığıyla gerçekleşmektedir. Tek hücreli canlıların ve balıkların  $0,04\text{--}0,198\text{ mg L}^{-1}$  inorganik kurşun bulunduran sularda toleranslı olabildiği ancak daha düşük miktarlardaki kurşunun besin yoluyla alınması halinde akut zehirlenme gösterdikleri bilinmektedir (8).

Kurşun elementi pek çok alanda kullanılan, kullanım sahası oldukça geniş olan bir ağır metaldir. Bunlara örnek olarak, pil, akümülatör ve diğer elektronik eşyalar, silah ve savunma teknolojileri, nükleer santrallerde ısı ve radyasyon yalıtımı, petrol ürünleri katkı maddesi ve daha pek çok alanda kullanılmaktadır. Bu geniş kullanım sahası nedeniyle çevremizi en fazla kirleten ve doğadaki canlılar ve dolayısıyla insanlar üzerinde toksik etkisi en fazla olan ağır metallere birisi olarak bilinmektedir. Akut Pb zehirlenmesi nadir olarak görülmekle beraber daha çok çocuklarda rastlanmaktadır. Hastalarda seyreden belirtilerin başında karın ağrısı,

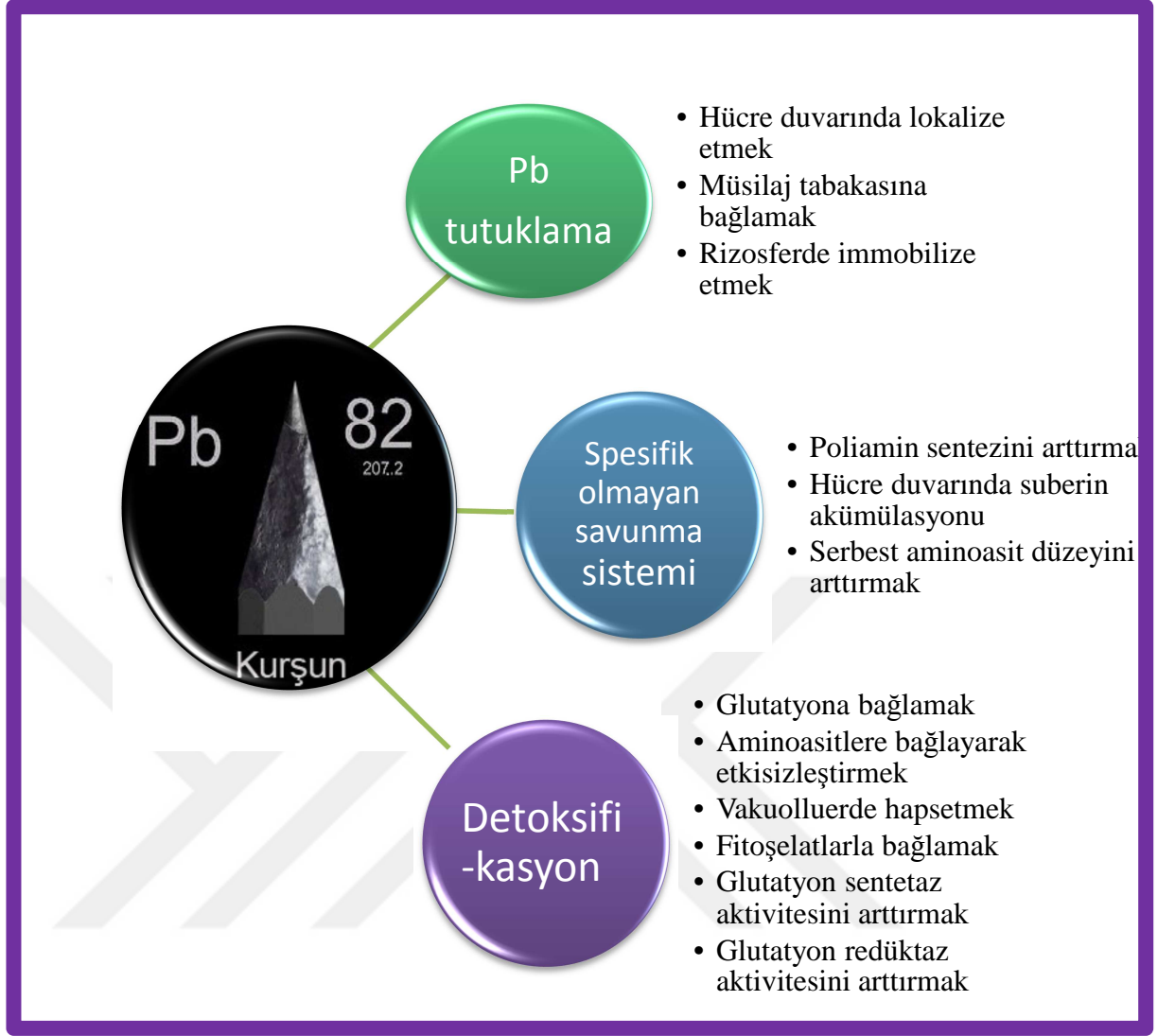
ani gelişen kansızlık ve bulantı, kusma, yersiz ateşlenme şiddetli baş ağrısı hatta koma hali görülebilmektedir. Terlemeyle beraber az da olsa akut böbrek yetmezliği vakaları da görülmüştür (72).

#### **1.1.4. Bitkilerde Kurşun Toksisitesine Karşı Geliştirilen Tolerans Mekanizmaları**

Metallerin toksik etkisi organizmalar ve türler arasında farklılık göstermektedir. Olumlu veya olumsuz (toksik) etkiler metalin türü, konsantrasyonu ve maruz kalan türün genetiğine bağlı fizyolojik, biyokimyasal ve anatomik yapıları ile değişmektedir (73). Bitkilerin aynı toksik ajana karşı geliştirdiği tolerans mekanizması ise bitki türüne, maruz kalma süresine ve maruz kalan doku veya organının yapısına bağlı olarak değişmektedir (7).

Bitkilerin ağır metal toksisite tolerans sınırlarının bilinebilmesi için metal tür ve miktarı, yarayışlılığı, zararın şiddeti ve türü ayrıca zarar oluşum süreci göz önüne alınmalıdır. Bu özelliklerin bilinmesi, bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından oldukça önemlidir (74). Kurşun toksisitesine karşı bitkilerde metal transportunu azaltma yoluna gidilmektedir. Toksik etkisinden kurtulmak için metaller, bitkilerdeki bazı özel dokularda biriktirilerek diğer dokuları toksik etkiden korunmaktadır (75). Ayrıca Pb toksisitesine karşı detoksifikasyon sistemini aktive etmek, Pb atılımını arttırmak ve spesifik olmayan savunma sistemi aktivasyonu diğer tolerans mekanizmalarıdır. Bitkilerde Pb toksisitesine karşı geliştirilen tolerans mekanizmaları Şekil 1.2’de özetlenmiştir.





**Şekil 1.2.** Bitkilerde Pb Toksisitesine karşı geliştirilen tolerans mekanizmaları

## 1.2. Toksikite Testleri

Toksikoloji, biyolojik sistemlerin kimyasallar ile etkileşimlerini ve canlılar üzerindeki zararlı etkilerini inceleyen bilim dalı olarak tanımlanır. Uygun dozda alınmayan bir madde ilaç bile olsa zehir etkisi gösterir. Kimyevi maddeler, canlı hücreler üzerinde dikkat çekecek şekilde yapı ve fonksiyonlarında değişim meydana getirirler. Bu değişikliklerin gözlenebilmesi için deneysel toksikolojik çalışmalara yer verilmektedir (76).

Ağır metallerin muhtemel genotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkilerinin gözlenebilmesi için pek çok test sistemi geliştirilmiştir. Bu testler, doğrudan ya da

dolaylı olarak ortaya çıkan hasarların saptanması için geliştirilmiş in vitro ve in vivo testleri kapsamaktadır. Genotoksisite testleri ile mutajenik etki gösteren kimyasalların tespit edilmesi, bu kimyasalların hücreler üzerindeki etki mekanizması, canlılarda gereksiz kullanımının önlenerek çevre kirliliğinin en aza indirilmesi genetik toksikolojinin başlıca amaçlarını oluşturmaktadır (77).

Genetik toksikoloji kapsamındaki genotoksisite testleri temel olarak genomu etkileyebilecek parazitik enfeksiyonların, kimyasal maddenin genotoksik ve kanserojenik potansiyellerinin tespit edilmesinde, bazı hastalıklarda artmış DNA hasarının saptanmasında, pestisitler, gıda katkı maddeleri, ilaçlar, nanomateryaller gibi maddelerin genetik etkilerini belirlemede ve kansere duyarlılığın ölçümünde kullanılmaktadır (78).

### **1.2.1. Comet Testi**

Comet testi hücrelerde DNA hasarının belirlenmesi ve kalıtsal hastalıkların teşhisi için çok kullanışlı bir testtir. Ayrıca çeşitli ajanların ortaya çıkardığı DNA çift ve tek zincir kırıklarının belirlenmesi için de sıkça kullanılmaktadır (79).

### **1.2.2. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Testi**

KKD testi kromozomlardaki yapısal değişimlerin, mutajenik ve genotoksik etkilerin teşhisinde kullanılmaktadır. Mutajen maddelere maruz kalan hücrelerde Kardeş kromatit değişiminin yükseldiği ve bunun da tümör oluşumunu tetiklediği pek çok araştırmada rapor edilmiştir. KKD testinde kardeş kromatitlerdeki değişimi gözlemlemek için bromodeoksiüridin (BrdU) kullanılmaktadır. KKD sayısı, bir kromozomdaki açık boyanmış kromatitdeki koyu boyanmış bölgelerin ya da koyu boyanmış kromatitdeki açık boyanmış bölgelerin sayılması suretiyle bulunur. Fankoni Aplastik Anemisi, Bloom Sendromu, Duchenne ve Becker tipi kas distrofileri gibi bazı genetik hastalıklarda KKD testi araştırma ve hastalık tanısı amacıyla da kullanılmaktadır (80).

### 1.2.3.Kromozom Anormallikleri Testi

Kromozom anormalliği testi (CAs), kromozomal hasarın ve genom kararsızlığının biyolojik indikatörü olarak kullanılmakta olan bir testtir (81). Kromozomal anormallikler, kendiliğinden veya mutajen uygulanması sonucu normal kromozom yapısındaki veya sayısında gözlenen değişikliklerdir. Dolaşım sisteminde lenfositlerde kromozomal anormalliklerde görülen sıklık, artan kanser riskinin bir göstergesi olarak düşünülmektedir (82). Kromozom anormalileri; bir kromozomda sonradan ortaya çıkan sayısal ve yapısal değişimleri belirtir. Bu değişimler genel olarak mayoz ya da mitoz bölünmenin olduğu esnada ya da bir mutajene maruz kalma esnasında oluşmaktadır.Kromozom anormalileri sayısal ve yapısal kromozom anormalileri olarak iki temel başlık altında incelenir.Sayısal kromozom anormalileri, kromozom sayısında değişiklik, kromozom kaybı ya da kromozom artışı olarak ortaya çıkmaktadır.Sayısal kromozom anormalileri öploidi ve anöploidi olmak üzere iki grupta incelenir (Tablo 1.2) (83). Sayısal anormalilerin en sık rastlanan tipi down sendromudur. Down sendromu, insanlarda 21. kromozomun fazla olmasıyla ortaya çıkan genetik bir farklılıktır. Down sendromunda vücutta çeşitli yapısal ve fonksiyonel değişimler gerçekleşir. Yapısal mutasyonlar ise kromozom kaybı ya da kromozomun yer değiştirmesi suretiyle oluşmaktadır. Mayoz bölünmenin ilk safhalarında krossing-overle kromozomlar arasında parça değişimi olmaktadır, bazen kromatitlerde, krossing-over olmadan parça değişimi, kaybı yada kazanılması gözlenmektedir. Duplikasyon, delesyon, ring kromozom, translokasyon yapısal anormalilerden birkaçıdır (Tablo 1.2).

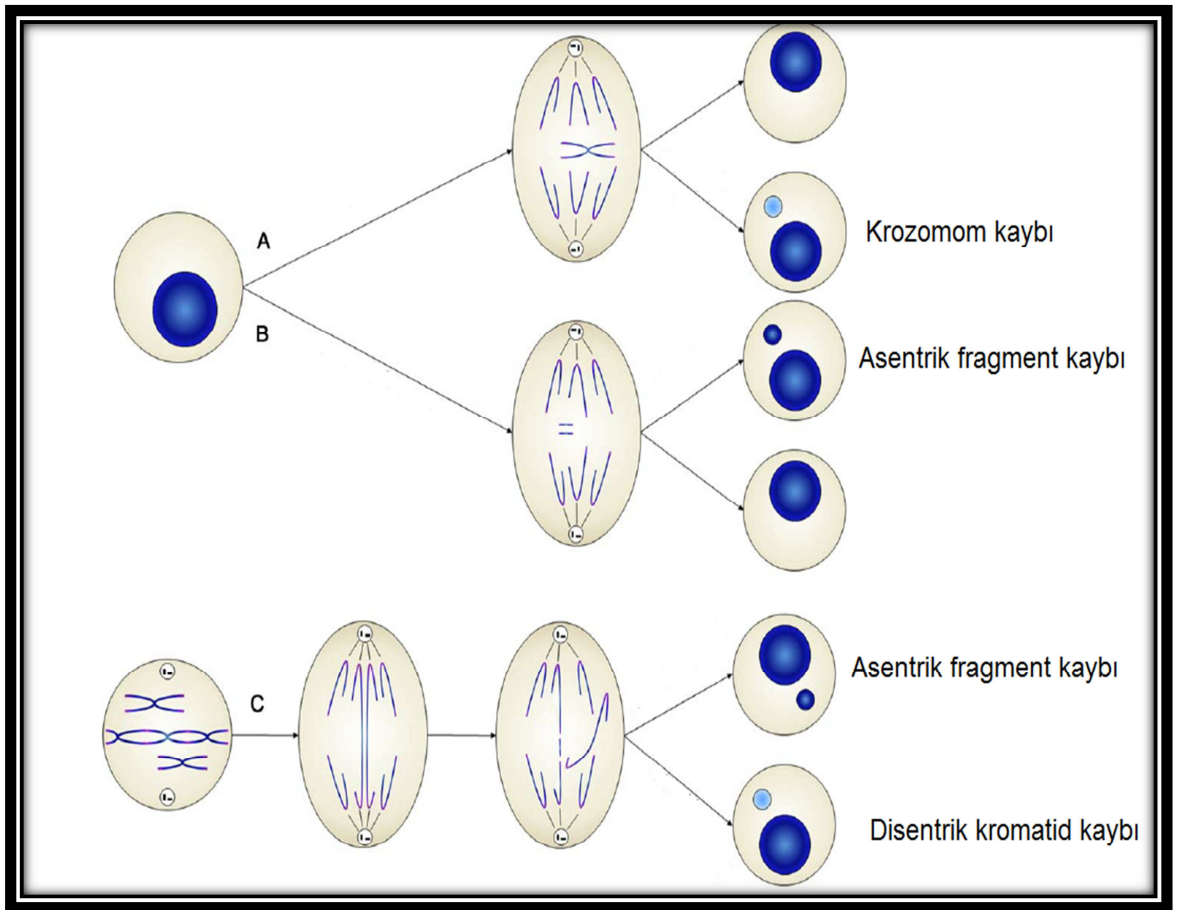
**Tablo 1.2.** Kromozom Mutasyonları ve Sınıflandırılması

Kromozom Mutasyon Anomalileri	
Sayısal Kromozom Anomalileri	Yapısal Kromozom Anomalileri
1-Öploidi -Monoploidi (n) -Diploidi (2n) -Triploidi (3n) -Tetraploidi (4n) -Pentaploidi (5n) 2-Anöploidi -Down Sendromu -Klinefelter Sendromu -Trizomi 13 Sendromu -Turner Sendromu	1-Delesyon 2-Duplikasyon 3İnversiyon 4-İnsersiyon 5-Ring Kromozon 6-İzokromozon 7-Mozaisizm 8-Translokasyonlar

#### 1.2.4. Mikronükleus Testi

Mikronükleus (MN)'lar hücre bölünmesi sırasında beliren, hücre çekirdeği ile bir ilgisi olmayan ve kromozom kırıklarından türeyen oluşumlardır (84). Sitotoksitenin tespitinde sağladığı kolaylık ve istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar vermesi gibi alternatifleri sayesinde sitogenetik hasarların tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (85). Mikronükleuslar, genel anlamda mitotik iğdeki hatalardan, hücre döngüsünde görev alan genlerdeki noksanlıklardan veya asentrik kromozom fragmanlarından türetilen oluşumlardır (Şekil 1.3). Mikronükleusların artması, kimyasalların hücreler üzerindeki sitotoksik etkisinin indikatörü olarak kabul edilmektedir. Kanser ve genomdaki hatalarla ilgili yapılan bazı araştırmalardan elde edilen verilerde, Mikronükleus frekansının bu tür anormalliklerde daha yüksek olduğu rapor edilmektedir (78).

Hücredeki bir yapıya Mikronükleus denebilmesi için; a.Mikronükleus çapı, hücre çekirdeği boyutunun 1/3'ü kadar veya bu orandan daha az olmalıdır, b.Mikronükleus parçaları yuvarlak veya oval şekilde olmalıdır, c.Mikronükleuslar hücre çekirdeğinden net bir şekilde ayırt edilebilmeli veya mikronükleer sınırlar nükleer sınırlardan ayırt edilebilir olmalıdır (86). Mikronükleus testi sigara, pestisitler, nanomateryaller, gıda katkı maddeleri, ağır metaller ve diğer birçok kimyasal maddeler, parazitik enfeksiyonlar gibi çevresel ve mesleki tesirlerin ölçülebilmesi için de kolaylıkla kullanılmaktadır. Mikronükleus testi, mitoz bölünmenin gerçekleştiği bitki, hayvan ve insan hücrelerinde genotoksik tesirin gözlenebilmesi için kullanılmaktadır (87). *Allium cepa* ve *Vicia faba* bitkilerinde hızlı büyümenin gerçekleşmesi ve zamandan tasarruf sağlaması gibi avantajları nedeni ile iki bitkinin bölünen kök hücrelerinde Mikronükleus testi sıkça kullanılmaktadır (88).



Şekil 1.3. MN oluşum mekanizması (89).

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. Soğan Kök Uçlarının Hazırlanması

Bu çalışmada aynı büyüklüğe sahip *Allium cepa* L. tohumları araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Tohumlar bir kontrol ve üç uygulama grubu olarak toplam 4 gruba ayrılmış ve 85x100 çapında steril beherlerde, oda sıcaklığında 72 saat çimlenmeye bırakılmıştır. Grup I, yani kontrol grubuna ait tohumlar çeşme suyu ile, Grup II'ye ait tohumlar 50 ppm Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ile; Grup III'e ait tohumlar 100 ppm Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ile ve Grup IV'e ait tohumlar ise 200 ppm Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ile çimlenmeye tabi tutulmuştur. Çimlenen tohumların kurumasını önlemek amacıyla grupların su ve Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> seviyeleri kontrol altında tutularak, gerekli durumlarda hazırlanan solüsyonlar eklenmiştir. Uygulama periyodunun ardından kök uçları distile su ile yıkanmış ve standart preparat hazırlama yöntemleriyle sitogenetik analizlere hazır duruma getirilmiştir (90).

### 2.2. Kök Uzunluğu ve Ağırlık Kazanımının Belirlenmesi

Çimlenen tohumlardaki kök ucu uzunlukları radikula oluşumu temel alınarak milimetrik cetvel kullanılarak ölçülmüştür. Ağırlık kazanımları ise hassas terazi kullanılarak uygulama öncesinde ve sonrasında elde edilen tohum ağırlıklarının arasındaki farklar dikkate alınarak tespit edilmiştir (91).

### 2.3. Kromozomal Anormallikler, Mitotik İndeks ve Mikronükleus Testi

Uygulama periyodunun sonunda kromozomal hasarların tespiti için yaklaşık olarak 1 cm uzunluğunda kesilen kök uçları 2 saat süreyle "Clarke" fiksatoründe (3:Etanol/1:Glasial Asetik Asit) fiksasyona bırakılmıştır. Ardından 15 dakika %96'lık etanolde yıkanmış ve +4 °C'de %70'lik etanolde tutulmuştur. Sonraki evrede, kök uçları 60 °C'de 17 dakika 1N HCl içerisinde hidrolize edilmiş, 30 dakika %45'lik asetik asit içerisinde tutulmuştur. Süre bitiminde kök uçları 24 saat Aseto-Karmin boyası ile boyanarak ve %45'lik asetik asitte ezilmiş ve binoküler araştırma mikroskobu ile X500 büyütmede fotoğrafı çekilmiştir (92).

Mikronükleus sıklığının bulunması için, her bir uygulama grubundan toplamda 1000 hücre sayılmış ve Mikronükleus içeren hücreler araştırma mikroskobu altında

belirlenerek X500 büyütmede fotoğrafları çekilmiştir. Hücrelerde gözlenen yapılarda Mikronükleus tespitinde Fenench ve ark.'nın kriterleri göz önünde bulundurulmuştur (93). Bu kriterlere göre hücrede rastlanılan bir yapıya Mikronükleus denebilmesi için;

- i. Mikronükleus çapı, hücre çekirdeği boyutunun üçte biri kadar ya da bu orandan daha küçük olmalıdır,
- ii. Mikronükleus parçalarının şekli yuvarlak ya da oval olmalıdır,
- iii. Mikronükleuslar hücre çekirdeğinden kesin bir şekilde ayırt edilebilmeli ve ya mikronükleer sınırlar nükleer sınırlardan ayırt edilebilir olmalıdır.

Yapılan çalışmada mitoz bölünme üzerindeki tesirleri tespit etmek amacı ile mitotik indeks (MI) incelenmiştir. Mitotik indeksin tespiti için kök ucu preparatları hazırlanmıştır. Bu hazırlanan preparatlardan her gruptan 1000 hücre sayılmış ve mitoz giren hücrelerin yüzdeliği alınmıştır.

$$\text{Mitotik İndeks (MI)} = \frac{\text{Mitoza Girmiş Hücre}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100$$

#### **2.4. Anatomik Hasarın Tespiti**

Anatomik hasarın tespit edilmesi için 50, 100 ve 200 ppm dozlarında Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ile 72 saat süresince muamele edilerek çimlenmeye tabi tutulan *Allium cepa* L. tohumlarının kök ucu hücreleri süre bitiminde distile su ile yıkanarak kök uçlarından enine kesitler alınmıştır. Sonraki aşamada kesitler metilen mavisi ile boyanmıştır. Boyanan kesitler de entellen vasıtasıyla daimi preparatlar haline getirilerek araştırma mikroskobu altında X500 büyütmede fotoğrafları çekilmiştir (94).

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada önemli bir çevre kirleticisi olan, canlılar üzerinde toksik etki bırakan kurşun ağır metalinin *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde kök uzunluğu, ağırlık artışı, Mikronükleus sıklığı, Mitotik indeks, Kromozomal anormallik oluşumu ve anatomik hasarlar üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla kök ucu hücrelerine 0-200 ppm aralığında  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisi uygulanmıştır.  $Pb(NO_3)_2$  uygulamasının tohum ağırlık artışına etkisi Tablo 3.1’de verilmiştir. Tablodaki sonuçlardan da görüldüğü gibi en fazla ağırlık artışı kontrol grubunda, buna karşın en az ağırlık artışı ise 200 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulanan Grup IV’de olduğu tespit edilmiştir. Grupların ağırlık artışları yüzde olarak Grup I’de %100, Grup II’de %86.67, Grup III’de %66.67 ve Grup IV’de %46.67 olarak hesaplanmıştır. 200 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulamasının tohumlarda ağırlık artışını 2.14 kat azalttığı tespit edilirken, 100 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulamasının 1.49 kat azalttığı, 50 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulamasının ise 1.15 kat azalttığı belirlenmiştir. Ağırlık artışlarında gözlenen tüm azalmaların kontrol grubuna oranla istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).

$Pb(NO_3)_2$  uygulamasının *Allium cepa*’da kök uzunluğu üzerine etkisi Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde en fazla kök uzunluğunun kontrol grubunda, en az kök uzunluğunun ise 200 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulanan Grup IV’de olduğu görülmüştür. Kök uzunlukları ortalama olarak Grup I’de 10.89cm, Grup II’de 8.00cm, Grup III’de 5.10cm ve Grup IV’de ise 2.90cm olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubuna oranla 50 ppm dozda  $Pb(NO_3)_2$  bulunan Grup II’de kök uzunluğunu 1.36 kat azaldığı, 100 ppm  $Pb(NO_3)_2$  içeren Grup III’de kök uzunluğunu 2.13 kat azaldığı, 200 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulanan Grup IV’de ise 3.75 kat azaldığı tespit edilmiştir. Uygulanan  $Pb(NO_3)_2$  dozunun artması ile kök uzunluğunun azaldığı, bu azalmanın da istatistiksel açıdan önemli olduğu ( $p<0.05$ ), ayrıca uygulanan  $Pb(NO_3)_2$ ’nin artan dozu ve kök uzunluğu arasında ters bir orantının olduğu belirlenmiştir.



**Tablo 3.1.** Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>'nin *A. cepa* kök ucu hücrelerinde ağırlık artışı ve kök uzunluğu üzerine etkisi

Gruplar	Ağırlık artışı %	Kök uzunluğu (cm)
Grup I (kontrol)	100.00	10.89±2.03 <sup>a</sup>
Grup II	86.67	8.00±1.79 <sup>b</sup>
Grup III	66.67	5.10±0.74 <sup>c</sup>
Grup IV	46.67	2.90±0.99 <sup>d</sup>

Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistiksel açıdan öneme işaret etmektedir (p<0.05).

*Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> stresinin yol açtığı MN sıklığı Tablo 3.2'de verilmiştir. Kontrol grubu kök ucu hücrelerinde düşük düzeyde MN oluşumu gözlenirken, en fazla MN oluşumu Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>'nin 200 ppm dozu uygulanan Grup IV'de gözlenmiştir. Kontrol grubu kök ucu hücrelerinde yaklaşık olarak 0.22 oranında MN oluşumu tespit edilirken, Grup II'de ortalama 7.91 oranında, Grup III'de ortalama 29.40 oranında ve Grup IV'de ise ortalama 56.50 oranında MN oluşumuna rastlanmıştır. Gruplarda gözlenen MN sayılarındaki farkların istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Ayrıca uygulanan Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> dozunun artması ile birlikte MN sıklığında artışı belirlenmiştir.

Mitotik indeks (MI) hücre proliferasyonuna yani çoğalma ve bölünme hızına işaret eden aynı zamanda sitotoksiteyi değerlendirmede kullanılan bir ölçüttür. Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulaması sonucu Mitotik indeks (MI) değerlerindeki değişim Tablo 3.2'de verilmiştir. En yüksek MI oranına kontrol grubu kök ucu hücreleri sahipken, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulanan her üç grupta da MI oranının ciddi oranda azaldığı belirlenmiştir. Uygulama gruplarında MI oranı yüzde olarak kontrol grubu olan Grup I'de %9.42, Grup II'de %8.20, Grup III'de %6.44, %4.83 olarak hesaplanmıştır. 200 ppm dozunda Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulanan Grup IV'te *Allium cepa*'da MI oranının kontrol grubuna oranla 1.9 kat azaldığı belirlenmiştir. Bununla beraber Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> dozunun artması ile birlikte MI oranının da azaldığı yani arada ters orantının olduğu belirlenmiştir.

<b>Tablo 3.2.</b> Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> uygulamasının <i>A. cepa</i> kök ucu hücrelerinde MN sıklığı ve MI üzerine etkisi			
<b>Gruplar</b>	MN sıklığı	MI oranı	MI(%)
<b>Grup I</b>	0.22±0.44 <sup>d</sup>	941.89±25.14 <sup>a</sup>	9.42
<b>Grup II</b>	7.91±3.56 <sup>c</sup>	819.55±61.65 <sup>b</sup>	8.20
<b>Grup III</b>	29.40±4.14 <sup>b</sup>	643.60±48.08 <sup>c</sup>	6.44
<b>Grup IV</b>	56.50±4.38 <sup>a</sup>	482.60±32.97 <sup>d</sup>	4.83

Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistiksel açıdan öneme işaret etmektedir (p<0.05).

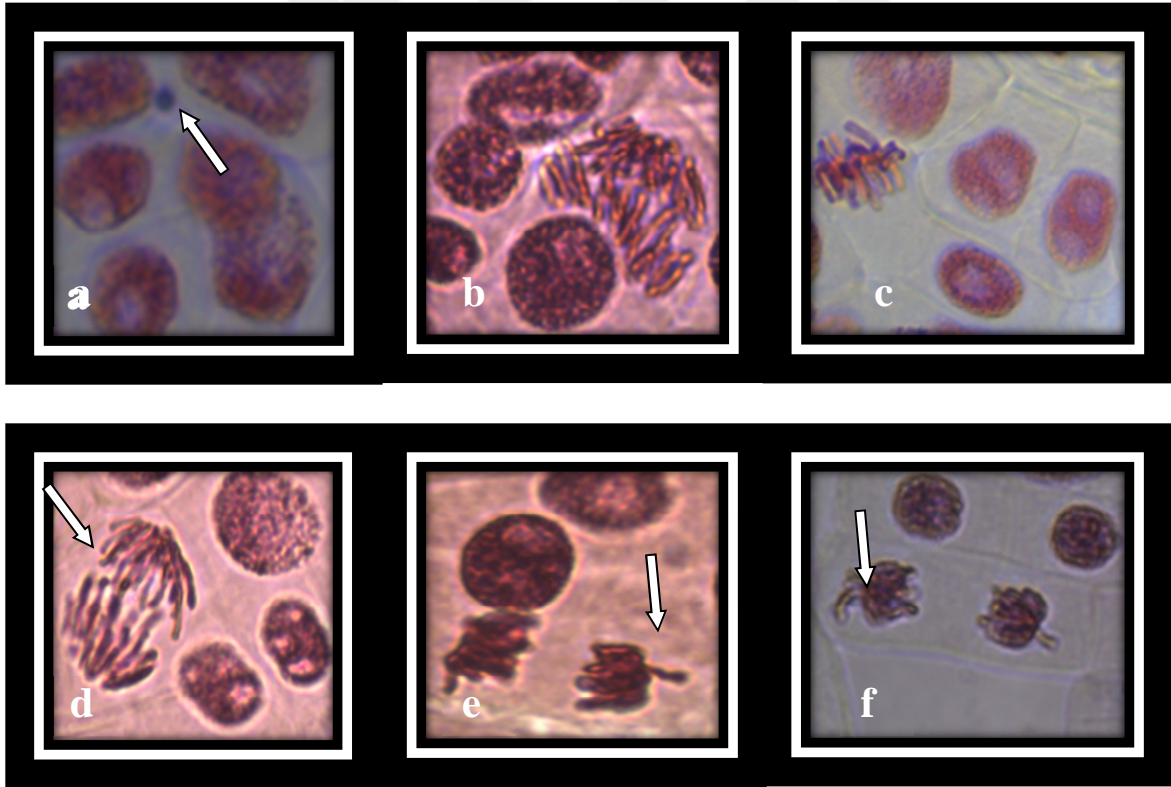
Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulamasının *Allium cepa* L. 'da oluşturduğu kromozomal hasarlar ile ilgili veriler Tablo 3.3'te gösterilmiştir. Mikroskobik incelemeler neticesinde Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>'nin teşvik ettiği kromozomal hasarlar; kromatinin eşit olmayan dağılımı, fragment, yapışkan kromozom, kromozom köprüsü ve c-mitoz olarak belirlenmiştir. Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulamasının kromozomal hasarlar içerisinde en büyük etkinin fragment oluşumu üzerine olduğu tespit edilirken, en az oranda gözlenen kromozom hasarının ise c-mitoz olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.1). Kontrol grubu kök ucu hücrelerinde birkaç yapışkan kromozom ve kromozom köprüsü dışında herhangi bir kromozom hasarı görülmemiştir. Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulanan her üç uygulama grubunda da farklı oranlarda pek çok kromozomal hasar gözlenmiştir. Bununla beraber Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> dozunun artışına bağlı olarak kromozom hasarlarının düzeyinin de önemli derecede arttığı ve istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir (p<0.05).

200 ppm dozunda Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulanan grupta gözlenen fragment düzeyinin c-mitoza kıyasla yaklaşık 2.15 kat fazla olduğu hesaplanmıştır. Fragmentler, kromozom kırılmaları neticesinde ortaya çıkan ve sentromer içermeyen bölgelerdir. Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>'nin büyük oranda fragment oluşturması kromozom kırıklarına sebep olduğunun göstergesi olarak belirlenmiştir.

**Tablo 3. 3. Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> uygulaması sonucu oluşan kromozomal hasarlar**

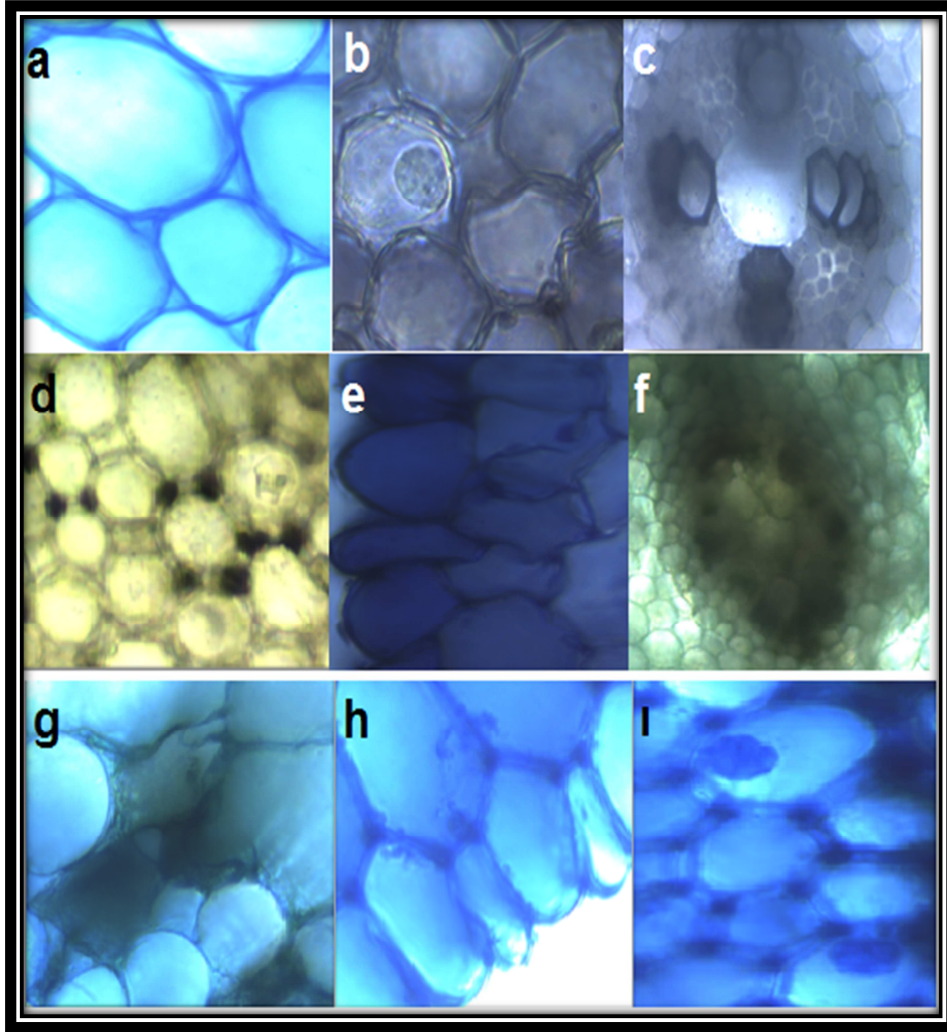
Gruplar	FRG	YK	KK	KED	CM
Grup I	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.33±0.50 <sup>d</sup>	0.00±0.00 <sup>d</sup>	0.22±0.44 <sup>d</sup>	0.11±0.33 <sup>d</sup>
Grup II	8.73±3.23 <sup>c</sup>	8.36±3.17 <sup>c</sup>	6.64±3.17 <sup>c</sup>	4.55±2.30 <sup>c</sup>	3.73±1.79 <sup>c</sup>
Grup III	25.50±3.21 <sup>b</sup>	23.20±3.85 <sup>b</sup>	17.40±2.22 <sup>b</sup>	15.20±3.58 <sup>b</sup>	13.90±2.77 <sup>b</sup>
Grup IV	44.80±5.85 <sup>a</sup>	39.30±3.06 <sup>a</sup>	30.60±3.95 <sup>a</sup>	26.20±3.74 <sup>a</sup>	20.80±3.08 <sup>a</sup>

Aynı sütunda yer alan farklı harfler istatistiksel açıdan öneme işaret etmektedir (p<0.05).(FRG: fragment, YK: yapışkan kromozom, KK: kromozom köprüsü, KED: kromatinin eşit olmayan dağılımı, CM: c-mitoz)



**Şekil 3.1.** Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> tarafından oluşturulan kromozomal hasarlar (a: MN, b: C-mitoz, c: yapışkan kromozom, d: kromozom köprüsü, e: kromatinin eşit olmayan dağılımı, f: fragment)

Anatomik incelemeler sonucunda  $Pb(NO_3)_2$  uygulamasının *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde belirgin anatomik hasarlar meydana getirdiği belirlenmiştir (Şekil 3.2). Bu hasarlar korteks hücrelerinde madde birikimi, yassılaştırılmış hücre çekirdeği, belirgin olmayan iletim doku, hücre deformasyonu, nekroz ve korteks hücre çeperlerinde kalınlaşma olarak tespit edilmiştir. Söz konusu hasarların  $Pb(NO_3)_2$  uygulama dozuna bağlı olarak arttığı gözlenmiştir.



**Şekil 3.2**  $Pb(NO_3)_2$  uygulaması tarafından teşvik edilen anatomik hasarlar: a:Korteks hücrelerinin olağan görünümü, b: Hücre çekirdeğinin olağan görünümü, c: İletim dokunun olağan görünümü, d: korteks hücre çeperinde kalınlaşma, e:hücre deformasyonu, f:belirgin olmayan iletim doku, g: nekroz, h: korteks hücrelerinde madde birikimi, i: yassılaştırılmış hücre çekirdeği.

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çevre kirliliği günümüzün en büyük sorunlarından biri olduğu için, buna yönelik yapılan bilimsel çalışmalar önem arz etmektedir. Çevre kirleticilerinin gerek toprakta, gerek sulara, gerekse de havada gün geçtikçe artması doğal ve sürdürülebilir çevrenin kaybolmasına yol açmakta ve canlı hayatını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu çalışmada yaygın çevre kirleticilerden biri olan Kurşun elementinin *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerindeki toksik etkisi araştırılmıştır. Bu bağlamda farklı dozlarda  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisi'nin *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde oluşturduğu fizyolojik, anatomik ve sitogenetik değişimler incelenmiştir. Fizyolojik parametrelerden ağırlık artışı ve kök uzunluğu incelenmiş, elde edilen verilere göre; artan  $Pb(NO_3)_2$  dozuna bağlı olarak ağırlık artışı ve kök uzunluğunun azaldığı, bu azalmanın da kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir. 200 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulamasının *Allium cepa* tohumlarında ağırlık artışını kontrol grubuna oranla 2.14 kat azalttığı gözlenmiştir. Literatürde Kurşun ve diğer ağır metallerin bitkilerde ağırlık artışı üzerine çalışmalar mevcuttur. Çavuşoğlu ve ark. (95), Çinko ve Kadmiyum gibi ağır metallerinin *Phaseolus vulgaris* bitkisinde ağırlık artışı üzerine etkilerini incelemiş, uygulanan metallerin ağırlık artışını ciddi oranda azalttığını belirtmişlerdir. Kıran ve ark. (2015) (96), *Lactuca sativa* var. *crispa* 'da kurşun uygulamalarının, toprak üstü kısımlarının yaş ağırlıklarında kontrol grubuna oranla azalmaya yol açtığını tespit etmişlerdir. Buna göre en yüksek toprak üstü yaş ağırlık değerinin, kontrol grubu uygulamasında ve en düşük toprak üstü yaş ağırlık değerinin ise en yüksek doz olan 300 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulama grubunda olduğu belirlenmiştir. Toprak üstü ağırlık değerlerinde kontrol grubuna göre gözlenen azalmalar, diğer kurşun dozundaki uygulamalarda da ortaya çıkmış olmakla beraber, 300 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulamasının gelişmeyi engelleyici etkisinin daha çarpıcı olduğu belirlenmiştir. Yüksek dozda kurşunun bitkilerde mineral alımı, fotosentetik aktivite, klorofil sentezi ve membran geçirgenliği gibi çok sayıda fizyolojik olayları olumsuz etkilediği pek çok çalışmada ortaya konmuştur (96-98). Ağırlık artışında gözlenen bu azalmayla kurşun çözeltisinin bitkilerdeki birçok fizyolojik genetik ve biyokimyasal olayları etkilediği böylece bitki gelişimini engellediği dolayısıyla tarımdaki verimi ve kaliteyi düşürdüğü sonucuna varılabilir.

Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>'nin etki ettiği fizyolojik parametrelerden bir diğeri de kök uzunluğudur. Kurşun uygulamasının *Allium cepa* L.' de kontrol grubuna oranla kök uzunluğunu azalttığı gözlenmiştir. Kurşun uygulamasının kök uzunluğunda azalmaya neden olması, gelişme ve büyüme ile ilgili metabolik yolların kurşun tarafından inhibe edilmesi ile açıklanabilir. Literatürde ağır metallerin kök uzunluğu üzerine etkileri konusunda benzer çalışmalar vardır. Örneğin, Alüminyum uygulamasının bitkilerde kökteki hücrelerin bölünmesini azalttığını; Çinko, Bakır ve Kurşun elementlerinin ise bitkilerde kök hücre uzamasını inhibe ettiği rapor edilmektedir. Ayrıca alüminyum muamelesinin *Allium cepa*'da kök ucu hücrelerinde nükleik asitlerde bağlanarak sitokinezi engellediği farklı çalışmalarda rapor edilmiştir (99, 100). Düşük konsantrasyonlarda Kurşun uygulamasının *Brassica juncea* L.'de kök uzunluğunu arttırdığı, *Zea mays* ve *Allium cepa*'daki kök gelişimini ise azalttığı tespit edilmiştir (101, 102). Benzer bir başka çalışmada ise Kurşun ve Civanın *Cicer arietinum*'da uygulama dozu artışına bağlı olarak kök büyümesinin engellendiği belirlenmiştir (95). Başka bir çalışmada Bor'un bitkiler üzerindeki etkisi test edilmiş ve neticede Bor dozunun artmasıyla kök uzunluklarında bir azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (103, 104). Kavas ve ark. (2012), artan dozda Bor uygulamasının kılcal kök gelişimi hızlandırdığını fakat Bor dozunun daha da artması ile birlikte köklerde deformasyona neden olduğunu ortaya koymuşlardır (105).

Ağır metaller düşük dozlarda bitki gelişimi için önemli mikro-element olmakla beraber yüksek dozlardaki elementlerin bitkilerin büyümesini inhibe ettiği ve toksik etki gösterdiği gözlemlenmiştir (106, 107) Burton ve ark.(1984), kurşun toksisitesinin spesifik belirtilerinin; kök büyüme ve gelişmesinin kısıtlanması, cüceleşme gibi etkiler olduğunu belirtmişlerdir (40). Obroucheva ve ark. (1998) yaptıkları araştırmada, mısır fidelerinde kurşun toksisitesinin kök gelişimini engellediğini rapor etmişlerdir (108).

*Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>'nin sitogenetik parametrelerden kromozomal hasarlar üzerine etkileri araştırılmış; kromatinin eşit olmayan dağılımı, yapışkan kromozom, fragment, C-mitoz, kromozom köprüsü gibi kromozom anormalliklerine neden olduğu, bu hasarlara da Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> dozu artışına bağlı olarak daha sık rastlandığı tespit edilmiştir. Kimyasal ajanlara veya ağır metallerle maruz kalınması sonucunda kromozomlarda kırılma, delesyon, insersiyon, dublikasyon

veya kromozom sayılarında değişimler meydana gelebilmektedir (109, 110). Literatürde bununla ilgili çalışmalar mevcuttur. Örneğin; Pietrini ve arkadaşları, krom ve deterjanların *Vicia faba* kök ucu meristematik hücrelerinde kromozomal hasarlara ve C-metafaz oluşumuna neden olduğunu belirtmişlerdir (111). İnceer ve ark. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, Bakır klorür uygulanan *Vicia hirsuta* hücrelerinde kromozomal anormallikler meydana getirdiği, yüksek oranda yapışkan kromozom ve kromozom köprüsü gibi kromozomal anormalliklerine rastlanıldığı rapor edilmiştir (112). İnceer ve ark. (2002)'nin yaptığı bir başka çalışmada ise *Helianthus annuus* kök ucu hücrelerinde Bakır Klorür'ün kromozom hasarları ve kırılmalar oluşturduğu bildirilmiştir (113).

Benzer şekilde  $Pb(NO_3)_2$  dozlarındaki artış ile birlikte mikronükleus sayısındaki artış arasında doğru bir orantının olduğu da belirlenmiştir. Literatürde ağır metallerin sitotoksitesisi ile ilgili çalışmalara bakıldığında, Sang ve Li (2004) ağır metal içeren sızıntı sularının *Vicia faba* üzerinde Mikronükleus oluşumunu teşvik ederek genotoksik bir etki oluşturduğunu ifade etmişlerdir (114). Yi ve Meng (2003) Sülfür Dioksit'in *Allium cepa* ve *Vicia faba* 'da mikronükleus sıklığında ciddi oranda bir artış olduğunu ve bu artışın doz artışı ile bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir (115). Zhu ve arkadaşlarının (2004) yaptıkları bir çalışmada kadmiyum, krom ve bakır ağır metallerinin *Cyprinus carpio* (Sazan)'daki etkileri incelenmiştir. Uygulanan doz arttıkça, mikronükleus sıklığının da arttığını rapor etmişlerdir (116). İçme sularının dezenfeksiyonunda sıkça kullanılan sodyum hipoklorit ve klorit dioksit'in genotoksik etkileri *Cyprinus carpio* (Sazan Balığı) üzerinde mikronükleus testi kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır ve bu maddelerin ilave edildiği sularda mikronükleus frekansı yüksek çıkmıştır (117). Minissi ve Lombi (1997), *Vicia faba* (Bakla) bitkisinde mikronükleus testini kullanarak Tiber Nehri'nin mutajenik aktivitesini belirlemeye yönelik yaptıkları çalışmada, Endüstri bölgelerinde ağır metal kirliliğinin daha yoğun olduğu ve mutajenik kontaminasyonun yüksek olduğu yerlerde *Vicia faba*'da mikronükleus sıklığının arttığını bulmuşlardır (118).

Sitotoksik parametrelerden  $Pb(NO_3)_2$ 'nin *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (MI) üzerine etkilerine de incelenmiş, 200 ppm  $Pb(NO_3)_2$  uygulaması ile MI oranının önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Literatürde ağır metallerin mitotik indeks üzerine etkilerini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Örneğin; Kurşun

nitrat'ın *Hordeum vulgare* L. kromozomları üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Kurşun nitratın mitozu önemli derecede baskıladığı ve doz artışına bağlı olarak kromozom anormalliklerini (köprü, geri kalmış kromozom, heterojen kromatin dağılımı, kromozom yapışması) daha da artırdığı tespit edilmiştir (119). 10, 25, 50 ve 100 mg L<sup>-1</sup> Bakır Klorür uygulamasının *Vicia hirsuta*'da göre mitotik indeksi önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir (112). Liu ve arkadaşları (2003), farklı konsantrasyonlardaki kadmiyumun etkisini *Allium sativum*'da incelemişler ve sonuç olarak da kadmiyum konsantrasyonunun ve uygulama süresinin artışına paralel olarak mitotik indeksin azaldığını bulmuşlardır (120). Knasmüller ve arkadaşları (1998), ağır metallerle kontamine olmuş toprakların genotoksisitelerini *Vicia faba* test materyalini kullanarak, kök ucu hücrelerinde belirlemeye çalışmışlar, toprağı kontamine eden krom ve nikelin 2.5 ve 5 mM arasındaki konsantrasyonlarda hücre bölünmesini azalttığını belirlemişlerdir (121).

Bu çalışmada Kurşun'un *Allium cepa* L. kök hücrelerinde meydana getirdiği bir diğer toksik etki ise anatomik değişimlerdir. Yapılan mikroskopik incelemelerle uygulanan Kurşun'un *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde belirgin anatomik hasarlar oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu hasarlar korteks hücrelerinde madde birikimi, yassılaştırmış hücre çekirdeği, belirgin olmayan iletim doku, hücre deformasyonu, korteks hücre çeperinde kalınlaşma venekroz gibi etkiler olarak belirlenmiştir. Literatürde *Allium cepa* hücrelerinde kimyasal maddelerin meydana getirdiği anatomik hasarlar üzerine çalışmalar mevcuttur. *Pinus nigra* ve *Cedrus libani* yapraklarının anatomisi üzerine taşıtlı kurşun kirliliğinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, yaprak kutikula kalınlığının arttığı; iletim demeti büyüklüğü yaprak çapı, epidermis hücre sayısı, trakeit çapı, stoma sayısı, eni ve indeksinin azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca, kurşun kirliliği sedir yapraklarında stoma boyunu azaltırken, çam yaprakları üzerinde bu parametrede bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir (122). Zengin ve Munzuroğlu (2004), kadmiyum ve civa stresi uygulanan *Phaseolus vulgaris*'de kök morfoloji ve anatomisinin gövde ve yaprak dokularına kıyasla daha fazla etkilendiğini rapor etmişlerdir. Bu sonuç, köklerin ortamdaki solüsyonla direkt temasta olmaları, metalin gövdeye geçişinin engellemek için köklerde birikmesi ile ilişkilendirilmiştir (123).



Bu çalışmada Kurşun ağır metalinin *Allium cepa* L.'da fizyolojik, anatomik ve sitogenetik hasarlara neden olduğu, söz konusu hasarların ise artan  $Pb(NO_3)_2$ 'nin dozuna bağlı olarak etkisini arttırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak çevre kirletici ve besin zinciri yoluyla tüm canlıları tehdit eden Kurşun ağır metalinin belli bir konsantrasyona ulaştığında canlılarda yüksek toksik etkilere sebep olabileceği *Allium cepa* test materyali kullanılarak belirlenmiştir. Kurşun insan faaliyetleri sonucunda ekolojik sisteme en önemli zarar veren ilk metal olma özelliğine sahiptir. Kurşun atmosfere metal şeklinde veya bileşik oluşturarak kontamine olmakta, her iki durumda da toksik özellik taşımaktadır. 1920' lerde kurşun bileşiklerinin benzine ilave edilmeye başlanmasıyla kurşunun kullanım alanı, kontaminasyon oranı ve toksik etksi de önemli derecede artmıştır (8). Bu nedenle söz konusu maddelerin bilinçli kullanımı, kontaminasyonu en aza indirmek için kurşunsuz benzin kullanımının teşvik edilmesi, egzoz emisyonlarının düşük değerlere çekilebilmesi, yol kenarlarına kurşuna dayanıklı ve kirliliği tutucu bitkilerin dikilmesi, tarımın yol kenarlarından uzak alanlarda yapılması gibi çeşitli önlemlerle kurşun kirliliğinin ve toksik etkisinin önlenmesi sağlanmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Duffus, J.H., Worth, H.G.J. 1996. *Fundamental toxicology for chemists* Royal Society of Chemistry, 327 pp. Cambridge.
2. Baldwin, D.R., Marshall, W.J. 1999. Heavy Metal Poisoning and Its Laboratory Investigation (Review Article), *Annals of Clinical Biochemistry* 36: 267-300.
3. Duffus J.H. 1980. *Environmental toxicology* New York : Wiley
4. Muro, L.A. 1969. Chromosome Damage in Experimental Lead Poisoning. *Arch.Path.*, 87: 660-663
5. Lerda, D. 1992. The Effect of Lead on *Allium cepa* L. *Mut. Res.*,281: 89-92
6. Kafadar, F., Saygıdeğer, S. 2010.Gaziantep İlinde Organize Sanayi Bölgesi Atık Suları İle Sulanan Bazı Tarım Bitkilerinde Kurşun (Pb) Miktarlarının Belirlenmesi, *Ekoloji* 19(75): 41-48, Gaziantep
7. Gür, N., Topdemir, A., Munzuroğlu, Ö. ve Çobanoğlu, D. 2004. Ağır Metal İyonlarının (Cu+2, Pb+2, Hg+2, Cd+2) Clivia sp. Bitkisi Polenlerinin Çimlenmesi ve Tüp Büyümesi Üzerine Etkileri. *F.Ü. Fen ve Matematik Bilimleri Dergisi*, 16(2), 177-182
8. Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A. ve Timur, S. 2006. Metallerin Çevresel Etkileri-I. [www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136\\_4753.pdf](http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf). Web adresinden 9 Ocak 2017 tarihinde edinilmiştir.
9. Kennedy, C.D. and Gonsalves, F. 1987. The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and efflux of excised roots, *J.Exp. Bot.*, 38, 800-817.
10. Dürüst, N., Dürüst, Y., Tuğrul, D and Zengin, M. 2004. Heavy Metal Contents of *Pinus radiata* Trees of İzmit (Turkey). *Asian Journal of Chemistry*, Vol. 16, No. 2, 1129-1134.
11. European Commission DG ENV. E3 Project ENV.E.3/ETU/2000/0058, "Heavy Metals in Waste" February 2002, Danimarka
12. Lane, S.D., Martin, E.S. 1977. A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *New Phytol.* 79:281-286.

13. Miller, R.J., Koeppe, D.E. 1971. Accumulation and physiological effects of lead in corn. In: Proceedings of University of Missouri, Columbia 4, pp.186-193.
14. Godzik, B. 1993. Heavy metal contents in plants from zinc dumps and reference area. *Pol. Bot. Stud.* 5:113-132.
15. Davies, B.E. 1995. Lead and other heavy metals in urban areas and consequences for the health of their inhabitants. In: Majumdar SK, Miller EW, Brenner FJ (eds), Environmental Contaminants, Ecosystems and Human Health, pp.287-307. *The Pennsylvania Academy of Science*, Easton PA, USA.
16. Lee, S-Z., Chang, L., Yang, H-H., Chen, C-M., Liu, M-C. 1998. Absorption characteristics of lead onto soils. *J. Haz. Mat.* 63:37-49.
17. Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakarova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., Raskin, I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.* 31:860-865.
18. Morel, J.L., Mench, M., Guckert, A. 1986. A measurement of Pb, Cu, Cd binding with mucilage exudates from maize (*Zea mays* L.) roots. *Biol. Fertil. Soils* 2:29-34.
19. Marschner, P., Godbold, D.L., Jutschhe, G. 1996. Dynamics of lead accumulation in mycorrhizal and non-mycorrhizal Norway spruce (*Picea abies* (L.) karst.). *Plant Soil* 178:239-245.
20. Jarvis, M.D., Leung, D.W.M. 2002. Chelated lead transport in *Pinus radiata*: an ultrastructural study. *Environ. Exp. Bot.* 48:21-32.
21. Rudakova, E.V., Karakis, K.D., Sidorshina, E.T. 1988. The role of plant cell walls in the uptake and accumulation of metal ions. *Fiziol. Biochim. Kult. Rast.* 20:3-12.
22. Marshall, J., Corzo, A., Leigh, R.A., Sanders, D. 1994. Membrane potential-dependent calcium transport in right-side-out plasma membrane vesicles from *Zea mays* L. roots. *Plant J.* 5:683-694.
23. Huang, J.W., Grunes, D.L., Kochian, L.V. 1994. Voltage dependent  $\text{Ca}^{2+}$  influx into right-side-out plasmamembrane vesicles isolated from wheat roots: characteristic of a putative  $\text{Ca}^{2+}$  channel. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91:3473-3477. USA

24. Huang, J.W., Cunningham, S.D. 1996. Lead Phytoextraction: species variation in lead uptake and translocation. *New Phytol.* 134:75-84.
25. Tomsig, J.L., Suszkiw, J.B. 1991. Permeation of Pb through calcium channels: fura-2 measurements of voltage- and dihydropyridine-sensitive Pb entry in isolated bovine chromaffin cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1069:197-200.
26. Jones, L.H.P., Clement, C.R., Hopper, M.J. 1973. Lead uptake from solution by perennial ryegrass and its transport from roots to shoots. *Plant Soil* 38:403-414.
27. Verma, S., Dubey, R.S. 2003. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Sci.* 164:645-655.
28. Seregin, I.V., Shpigun, L.K., Ivaniov, V.B. 2004. Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. *Russ. J. Plant Physiol.* 51:525-533
29. Michalak, E., Wierzbicka, M. 1998. Differences in lead tolerance between *Allium cepa* plants developing from seeds and bulbs. *Plant Soil* 199:251-260.
30. Wierzbicka, M., Antosiewicz, D. 1993. How lead can easily enter the food chain - a study of plant roots. *Sci. Total Environ. Suppl.*1:423-429.
31. Silverberg, B.A. 1975. Ultrastructural localization of lead in *Stigeoclonium tenue* (Chlorophyceae Ulotrichales) as demonstrated by cytochemical and X-ray microanalysis. *Phycologia* 14:265-274.
32. Miranda, M.G., Ilangovan, K. 1996. Uptake of lead by *Lemna gibba* L. influence on specific growth rate and basic biochemical changes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 1000-1007.
33. Sharma, P., Dubey, R.S. 2004. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. *Plant Sci.* 167:541-550.
34. Ekmekci, Y., Tanyolac, D., Ayhan, B. 2009. A crop tolerating oxidative stress induced by excess lead: maize. *Acta Physiol Plant* 31: 319–330.
35. Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R., Kumar, R., Seth, C., Gupta, D. 2006. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.)

- involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere* 65: 1027–1039.
36. Ruley, A.T. 2004. Effects of accumulation of lead and synthetic chelators on the physiology and biochemistry of *Sesbania drummondii*. Western Kentucky University, M.S thesis. USA.
  37. Venkatachalam, P., Srivastava, A.K., Raghothama, K.G., Sahi, SV. 2007. Identification of lead-regulated genes by suppression subtractive hybridization in the heavy metal accumulator *Sesbania drummondii*. *Planta*, 225: 1353–1365.
  38. Zaier, H., Ghnaya, T., Lakhdar, A., Baioui, R., Ghabriche, R., Mnasri, M., Sghair, S., Lutts, S., Abdelly, C. 2010. Comparative study of Pb-phytoextraction potential in *Sesuvium portulacastrum* and *Brassica juncea*: Tolerance and accumulation. *J Hazard Mater* 183: 609–615.
  39. Hu, R., Sunc, K., Suc, X., Pana, Y., Zhanga, Y., Wanga, X. 2012. Physiological responses and tolerance mechanisms to Pb in two xerophils: *Salsola passerina* B. and *Chenopodium album* L. *J Hazard Mater* 205–206:131–138
  40. Burton, KW., Morgan, E., Roig, A. 1984. The influence of heavy metals on the growth of sitka-spruce in South Wales forests. II green house experiments. *Plant Soil* 78:271-282.
  41. Breckle, S.W. 1991. Growth under stress. Heavy metals. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U (eds), *Plant Roots: The Hidden Half*, pp. 351-373. Marcel Dekker Inc., New York, USA.
  42. Eun, S.O., Youn, H.S., Lee, Y. 2000. Lead disturbs microtubule organization in the root meristem of *Zea mays*. *Physiol. Plant.* 110:357-365.
  43. Wierzbicka, M. 1994. Resumption of mitotic activity in *Allium cepa* root tips during treatment with lead salts. *Environ. Exp. Bot.* 34:173-180.
  44. Wierzbicka, M. 1998. Lead in the apoplast of *Allium cepa* L. root tips-ultra structural studies. *Plant Sci.* 133:105-119.
  45. Przymusinski, R., Sychala, M., Gwozdz, E.A. 1991. Inorganic lead changes growth polypeptide pattern of lupin roots. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 187:51-57.

46. Stefanov, K., Seizova, K., Popova, I., Petkov, V.L., Kimenov, G., Popov, S. 1995. Effects of lead ions on the phospholipid composition in leaves of *Zea mays* and *Phaseolus vulgaris*. *J. Plant Physiol.* 147:243-246.
47. Stefanov, K., Popova, I., Kamburova, E., Pancheva, T., Kimenov, G., Kuleva, L., Popov, S. 1993. Lipid and sterol changes in *Zea mays* caused by lead ions. *Phytochemistry* 33:47-51.
48. Van Assche, F., Clijsters, H. 1990. Effects of metal on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ.* 13:195-206.
49. Prasad, D.D.K., Prasad, A.R.K. 1987. Altered d-aminolaevulinic acid metabolism by lead and mercury in germinating seedlings of Bajra (*Pennisetum typhoideum*). *J. Plant Physiol.* 127:241-249.
50. Hampp, R., Ziegler, H., Ziegler, I. 1973. Influence of lead ions on the activity of enzymes of reductive pentose phosphate pathway. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* 164:588-595.
51. Vallee, B.L., Ulmer, D.D. 1972. Biochemical effects of mercury, cadmium and lead. *Annu. Rev. Biochem.* 41:91-128.
52. Mukherji, S., Maitra, P. 1976. Toxic effects of lead on growth and metabolism of germinating rice (*Oryza sativa* L.) root tip cells. *Ind. J. Exp. Biol.* 14:519-521.
53. Lee, K.C., Cunningham, B.A., Poulsen, G.M., Liang, J.M., Moore, R.B. 1976. Effects of cadmium on respiration rate and activities of several enzymes in soybean seedlings. *Physiol. Plant.* 36:4-6.
54. Shu, T.I., Brouillette, J.N. 1987. Metal ion inhibition of corn root plasmamembrane ATPase. *Phytochemistry* 26:65-69.
55. Romanowska, E., Igamberdiev, A.U., Parys, E., Gardeström, P. 2002. Stimulation of respiration by Pb in detached leaves and mitochondria of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. *Physiol. Plant.* 116:148-154.
56. Rebechini, H.M., Hanzely, L. 1974. Lead-induced ultrastructural changes in chloroplasts of the hydrophyte *Ceratophyllum demersum*. *Z. Pflanzenphysiol.* 73:377-386.
57. Burzynski, M. 1987. The influence of lead and cadmium on the absorption and distribution of potassium, calcium, magnesium and iron in cucumber seedlings. *Acta Physiol. Plant.* 9:229-238.

58. Ahmed, A., Tajmir-Riahi, H.A. 1993. Interaction of toxic metal ions  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  and Pb with light-harvesting proteins of chloroplast thylakoid membranes. An FTIR spectroscopic study. *J. Inorg. Biochem.* 50:235-243
59. Mohanty, N., Vass, I., Demeter, S. 1989. Copper toxicity affects Photosystem II electron transport at the secondary quinone acceptor,  $Q_B$ . *Plant Physiol.* 90: 175-179.
60. Sersen, F., Kralova, K., Bumbalova, A. 1998. Action of mercury on the photosynthetic apparatus of spinach chloroplasts. *Photosynthetica* 35: 551-559
61. Reese, R.N., Roberts, L.W. 1985. Effects of cadmium on whole cell and mitochondrial respiration in tobacco cell suspension cultures (*Nicotiana tabacum* L. var. xanthi). *J. Plant Physiol.* 120:123-130.
62. Miles, C.D., Brandle, J.R., Daniel, D.J., Chu-Der, O., Schnare, P.D., Uhlik, D.J. 1972. Inhibition of PS II in isolated chloroplasts by lead. *Plant Physiol.* 49: 820-825.
63. Bazzaz, M.B., Govindjee 1974. Effect of lead chloride on chloroplast reactions. *Environ. Lett.* 6: 175-191.
64. Koepe, D.E. 1977. The uptake, distribution and effect of cadmium and lead in plants. *Sci. Total Environ.* 7:197-205.
65. Bryan, G. 1976. Heavy metal contamination in the sea in: R.Johnston Mar. Poll. *Academic Press* mc. 185-302. London.
66. Merlini, M. 1971. Heavy metal contamination, in impingement of man on the Oceans, *London and Newyork*, 461-468.
67. Förstner, G., Wittmann.T. 1981. Metal pollution in the aquatic environment, *Newyork Springer Verlag*, 3 (21), 271-318. Berlin Heidelberg.
68. Larsson, A., Haux, C. 1985. Fish physiology and metal pollution: result and experiences from laboratuary and field studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 9, 250-281.
69. World Health Organization (WHO), 1984a. Guidelines for drinking water quality, Volume 2, Health criteria and other supporting information : *WHO Publ.*, Geneva, Switzerland, 335.
70. *İş Hekimliği Ders Notları*, 1993. *TTB yayını*, Ankara.
71. *İş Yeri Hekimliği Ders Notları* 2001. *TTB Yayını*, Ankara.

72. Guevara, S.R., Bubach, D., Vigliano, P., Lippolt, G., Arribere, M. 2004. Heavy metal and other trace elements in native mussel *Diplodon chilensis* from Northern Patagonia Lakes, *Biological Trace Element Research*, 102: 245-263. Argentina.
73. Haktanır, K. ve Arcak, S. 1998. Çevre Kirliliği. Ankara Üni. Ziraat Fak. Toprak Bölümü, Ankara Üni. Yayın No: 1503, Ders Kitabı: 457, Ankara.
74. Paschke, M.W., Valdecantos, A. and Redente, E.F. 2005. Manganese toxicity thresholds for restoration grass species. *Environmental Pollution*, 135:313-322.
75. Baker, A.J.M. 1981. Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *J. Plant Nutr.*3:643-654.
76. Loomis, T.A. 1978. *Essentials of Toxicology*, 3rd edition, Philadelphia, Lea and Febiger, pp.157-232.
77. Zeiger, E. 2004. History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal, *Environ Mol Mutagen*, 44: 363-71.
78. Choy, W.N. 2001. *Genetic toxicology and cancer risk assessment*. Marcel Dekker, New York, 29-187.
79. Ertürk, Ş. 2001. Sevofüloranın DNA Hasarı Üzerine Etkilerinin Bening Ve Maling Olgularda Comet Assay Yöntemi İle Değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi.
80. Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hugmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norppa, H., Suhaker, D.E.G., Tice, R., Waters, M.D., Aitio, A. 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat Res*, 463: 11-172.
81. Wang, Y., Chang, X, Li, Q.D., Cao, J., Liu, J.X., Su, X., Zhao, H., Fan, F.Y. 2013. 1,2, Bing Wang 6, Takanori Katsube 6, Sai Jun Fan 1,2 and Qiang Liu 1,2, *Int. J. Mol. Sci.*, 14(11), 22449-22461; doi:10.3390/ijms141122449.
82. Suspiro, A., Prista, J. 2011. Biomarkers of occupational exposure do anticancer agents: a minireview. *Toxicol Lett* 207(1): 42-52.
83. Korenberg, J.R., Chen, X.N., Schipper, R., Sun, Z., Gonsky, R., Gerwehr, S., Carpenter, N., Daumer, C., Dignan, P., Distech, C. 1994. Down



- syndrome phenotypes: The consequences of chromosomal imbalance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 4997-5001. USA.
84. Demirel, S., Zamani, A. 2002 .Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. *Genel Tıp Dergisi*, 12 (3): 123-27.
85. Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E. 2010. Sitogenetik, Nobel Yayın Dağıtım, 87-91.Ankara.
86. Fenech, M., Morley A.A. 1986. Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: Effect of in vivo ageing and dose X-irradiation. *Mutat Res.* 161: 193-8.
87. Şekeroğlu, V., Atlı-Şekeroğlu, Z. 2011. Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi.* 68(4): 241-252
88. Özkara, A., Akyıl, D., Erdoğan, S.F. and Konuk, M. 2011. Evaluation of germination, root growth and cytological effects of wastewater of sugar factory using *Hordeum vulgare* bioassays. *Environ Monit Assess*, 183, 517–524. Afyonkarahisar.
89. Terrades, M., Flix, M.M., Tusell, L., Genesca, A. 2010. Genetic activities in micronuclei: Is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 705(1):60-7
90. Wei Q.X. 2004. Mutagenic effects of chromium trioxide on root tip cells of *Vicia faba*. *Journal of Zhejiang University Science*, 5: 1570–1576.
91. Atik, M., Karagüzel, O., Ersoy, S. 2007. Sıcaklığın *Dalbergia sissoo* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (2), 203–210.
92. Staykova, T.A., Ivanova, E.N., Velcheva, I.G. 2005. Cytogenetic effect of heavy metal and cyanide in contaminated waters from the region of southwest Bulgaria. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 4: 41–46.
93. Fenech, M., Chang, W.P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S., Zeiger, E. 2003. Human Micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*, 534, 65.

94. Makbul, S., Kandemir, A., Turkmen, Z., Beyazoglu, O. 2008. Morphological and anatomical features of *Verbascum alyssifolium*. *Herbal Journal System Botanic* 15: 125-140
95. Çavusoglu, K., Yalçın, E., Ergene, A. 2009. The Cytotoxic Effects of Zinc and Cadmium Metal Ions On Root tip Cells of *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). Süleyman Demirel Üniversitesi *Journal Of Science* (e-journal), 4 (1): 1-11.
96. Kıran, S., Özkay, F., Kuşvuran, Ş., Ellialtıoğlu, Ş. 2015. Kurşunun Kıvırcık Salata (*Lactuca sativa* var. *crispa*) Bitkisinin Bazı Morfolojik ve Biyokimyasal Özelliklerine Etkisi, *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.* 5(1): 83-88, 2015
97. Sharma, P., Dubey, R.S. 2005. Lead toxicity in plants. *Braz. J.Plant Physiol.*, 17(1): 35-52.
98. Ghani, A., Shah, A.U., Akhtar, U. 2010. Effect of lead toxicity on growth, chlorophyll and lead (Pb) content of two varieties of maize (*Zea mays* L.). *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(9): 887-891.
99. Hanson, J.B. 1984. The Function of Calcium in Plant Nutrition. *Advances in Plant Nutrition*, Newyork Praeger, 1: 149-248
100. Zhengua, S., Wang, J. and Guan, H. 1993. Effect of Aluminum and Calcium on Growth of Wheat Seedlings and Germination of Seeds. *Journal of Plant Nutrition*, 16: 2135-2148.
101. Dou, Z.X. 1988. The Pollution in Soil and Its Effects on Plants. *Agro Environmental Protection*, 7 (3): 38-39.
102. Jiang, W.S. and Liu, D.H. 1999. Effects of Pb<sup>+2</sup> on Root Growth, Cell Division and Nucleolus of *Bressica juncea* L. *Israel Journal of Plant Sciences*, 47: 153-156
103. Yorgancılar, M. ve Babaoğlu, M. 2005. Buğday çeşitlerinde borun çimlenme üzerine etkisinin in vitro ve saksı şartlarında araştırılması. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 19 (35): 109-114.
104. Campbell, T.A., Rathjen, A.J., Paull, J.G., Islam, AKMR. 1998. Method for screening bread wheat for tolerance to boron. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherland. *Euphytica* 100: 131-135

105. Kavas, K.M. 2012. *Gypsophila arrosti*'nin İn vitro'da Bor'a Tepkisinin Belirlenmesi ve Mikroçoğaltım. Selçuk Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi. Konya.
106. Fernandes, J.C. and Henriques, F.S. 1991. Biochemical, physiological and structural effects of excess copper in plants. *The Botanical Review*, 57, 246-273 pp.
107. Claire, L.C., Adriano, D.C., Sajwan, K.S., Abel, S.L., Thoma, D.P. and Driver, J.T. 1991. Effects of selected trace metals on germinating seeds of six plant species. *Water, Air and Soil Pollution*, 59, 231-240 pp.
108. Obroucheva, N.V., Bystrova, E.I., Ivanov, V.B., Anupova, O.V., Seregin, I.V. 1998. Root growth responses to lead in young maize seedlings. *Plant Soil* 200, 55-61.
109. Vural, N. 2005. *Toksikoloji*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 115-129. Ankara.
110. Anadolu Üniversitesi. Toksikoloji. PDF Dökümanı (Erişim Tarihi: 13 Mayıs 2014).
111. Pietrini, R.V., Maroquez, A.R., Arroyo, S.G. 1993. Cytogenetic Evaluation of the Effects of Chromium and Detergents in *Vicia faba*. *Cytologia* Vol.58: 41-45.
112. İnceer, H., Beyazoğlu, O. 2000. Bakır Klorür'ün *Vicia hirsuta* (L.) Kök Ucu Hücreleri Üzerine Sitogenetik Etkileri, *Türk J Biol.* 24: 553–559
113. İnceer, H., Beyazoğlu, O., Ayaz, S., Şentürk, E. 2002. Cytogenetic Effects of Copper Chloride on the Root Tip Cells of *Helianthus annuus* L. *Türk J. Biol.* Vol.27 :43-46.
114. Sang, N. and Li, G. 2004. Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. *Mutat. Res*, 560, 159– 165.
115. Yi, H. and Meng, Z. 2003. Genotoxicity of hydrated sulfur dioxide on root tips of *Allium sativum* and *Vicia faba*. *Mut. Res.*, 537(1), 109-114.
116. Zhu, Y., Wang, J., Bal, Y., Zhang, R. 2004. Cadmium, Chromium and Copper Induce Polychromocyte Micronuclei in Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Bull. Environ. Contam. Toxicology* Vol.72: 78-86.
117. Buscını, A., Martino, A., Gustavino, B., Monfrinotti, M., Polı, P., Ross, C., Santoro, M., Dorr, A.J.M., Rizzoni, M. 2004. Comet Assay and

- Micronucleus Test in Circulating Erythrocytes of *Cyprinus carpio* Specimens Exposed in situ to Lake Waters Treated with Disinfectants for Potabilisation. *Mutation Research* Vol.557 :119-129.
118. Mımsı, S., Lombı, E. 1997. Heavy Metal Content and Mutagenic Activity, Evaluated by *Vicia faba* and Micronucleus Test, of Tiber River Sediments. *Mutation Research* Vol.393: 17-21.
119. Dođan, B. 2002. Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>'nin Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Mitotik Kromozomları Üzerine Etkileri. *BAÜ Fen Bil. Enst. Derg.* .4.1
120. Liu, D., Jiang, W., Gao, X. 2003. Effects of Cadmium on Root Growth, Cell Division and Nucleoli in Root Tip Cells of Garlic. *Biologia Plantarum* Vol.47: 79-83.
121. Knasmuller, S., Gottmann, E., Steinkellr, H., Fomin, A., Pıckl, C., Paschke, A., God, R., Kundı, M. 1998. Detection of Genotoxic Effect of Heavy Metal Contaminated Soils with Plant Bioassays. *Mutation Research* Vol.420: 37-48.
122. Çavuşoğlu, K., Kılıç, S., Kılıç, M. 2009. Tasıtların sebep olduğu kursun (Pb) kirliliğinin Çam (*Pinus nigra* Arn. subsp. *pallasiana*) ve sedir (*Cedrus libani* A. Rich.) yapraklarının anatomisi üzerine etkileri. *Biological Diversity and Conservation BioDiCon 2/3* 92-98
123. Zengin, F.K., Munzuroğlu, Ö. 2003. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.) Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Kadmiyum(Cd<sup>++</sup>) ve Cıva (Hg<sup>++</sup>)'nın Etkileri. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 24: 1

## ÖZGEÇMİŞ

Nurcan GİRASUN, 1991 yılında Şırnak'ın Cizre ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Cizre'de tamamladı. Lisans eğitimini 2013 yılında Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde, Pedagojik Formasyon eğitimini 2015 yılında Giresun Üniversitesi Eğitim Fakültesinde tamamladı. 2015'te başladığı Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrenimini Haziran 2017'de tamamladı.



