



Tarım Bilimleri Dergisi  
Tar. Bil. Der.

Dergi web sayfası:  
www.agri.ankara.edu.tr/dergi

Journal of Agricultural Sciences

Journal homepage:  
www.agri.ankara.edu.tr/journal

## Transgenik ve Transgenik Olmayan Tütün Bitkilerinde Ağır Metal Uygulamalarının Azot, Fosfor ve Potasyum Alımına Etkisi

Hatice DAĞHAN<sup>a</sup>, Veli UYGUR<sup>b</sup>, Nurcan KÖLELİ<sup>c</sup>, Mehmet ARSLAN<sup>d</sup>, Abdullah EREN<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, 31040 Hatay, TÜRKİYE

<sup>b</sup> Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, 32260 Isparta, TÜRKİYE

<sup>c</sup> Mersin Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 33342, Mersin, TÜRKİYE

<sup>d</sup> Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 31040, Hatay, TÜRKİYE

### ESER BİLGİSİ

Araştırma Makalesi – Bitkisel Üretim

Sorumlu Yazar: Hatice Dağhan, E-posta: hdaghan@mku.edu.tr, Tel: +90 (326) 245 58 45 / 1357

Geliş Tarihi: 04 Aralık 2012, Düzeltmelerin Gelişi: 28 Mayıs 2013, Kabul: 15 Haziran 2013

### ÖZET

İnsan aktivitesi, endüstriyel gelişmeye paralel olarak topraktaki ağır metal sirkülasyon düzeyini sürekli olarak artırmaktadır. Toprağa bitki besin maddelerinin dengesini bozacak miktarda ağır metal girdisi; bitkinin azot (N), fosfor (P) ve potasyum (K) alımını etkilemektedir. Bu etkileşim, gerek bitki kök sistemi ve taşınma olaylarını etkileyerek gerekse toprak çözeltisindeki besin elementleriyle reaksiyona girerek gerçekleşmektedir. Bu çalışmada, su kültürü ortamında 2 hafta süreyle yetiştirilen transgenik ve transgenik olmayan tütün bitkilerinde, dört farklı ağır metal iyonunun (çinko (Zn), bakır (Cu), nikel (Ni) ve kadmiyum (Cd)) üç farklı dozunun (0, 5 ve 10 mg L<sup>-1</sup>) N, P ve K alımına etkisi araştırılmıştır. Denemelerde elde edilen bulgulara göre, 5 mg L<sup>-1</sup> Zn dozu, bitkilerde kloroz ve nekroz gibi herhangi bir toksik etki göstermezken, diğer ağır metallerin (Cu, Ni ve Cd) 5 ve 10 mg L<sup>-1</sup> uygulamaları bitkide değişen seviyelerde toksisitenin ortaya çıkmasına neden olmuştur. En yüksek konsantrasyonda (10 mg L<sup>-1</sup>) Zn, Cu, Ni ve Cd uygulamalarıyla, bitkilerin N, P ve K alımlarındaki azalmalar göz önünde bulundurulduğunda bu elementlerin toksisite sıralaması Ni > Cu > Zn > Cd şeklinde olmuştur. Bitkideki N, P ve K konsantrasyonunu en çok azaltan Ni iken, P konsantrasyonunda sıralama Cu > Zn > Cd; K konsantrasyonunda ise Cu > Cd > Zn şeklinde belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ağır metal; Besin elementi; Toksikite; Tütün

## The Effect of Heavy Metal Treatments on Uptake of Nitrogen, Phosphorus and Potassium in Transgenic and Non-Transgenic Tobacco Plants

### ARTICLE INFO

Research Article – Crop Production

Corresponding Author: Hatice Dağhan, E-mail: hdaghan@mku.edu.tr, Tel: +90 (326) 245 58 45 / 1357

Received: 04 December 2012, Received in Revised Form: 28 May 2013, Accepted: 15 June 2013

## ABSTRACT

Heavy metals affect nutrient uptake of plants by means of either effecting root development and transport systems or interfering with other plant nutrients in soil solution. In this study, the effect of toxic levels of copper (Cu), zinc (Zn), cadmium (Cd), and nickel (Ni) on the uptake of nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K) were investigated in hydroponic culture. There was no toxicity sign in 5 mg Zn L<sup>-1</sup> level but the rest of the heavy metals used caused different extent of toxicity. The first visual signs of toxicity for these heavy metals were chlorosis and the reduction in shoot and root biomass due to inhibition of metabolic functions. As a result, N, P, K uptake significantly changed. As the ratio of percent decreases for N, P, K uptake were considered, the toxicity levels of the heavy metals were, in descending order, Ni > Cu > Zn > Cd. Ni had the element that having most serious inhibition effect on the concentration of all three elements, the order of other heavy metals were determined as Cu > Zn > Cd for P and Cu > Cd > Zn for K.

Keywords: Heavy metal; Nutrient element; Toxicity; Tobacco

© Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi

## 1. Giriş

Toprakta ağır metal kirliliği, günümüzde önemli çevresel sorunlar arasında yer almaktadır (Doumett et al 2008; Nouri et al 2009). Çevre Koruma Ajansı (EPA)'nın hazırladığı rapora göre, ağır metaller 129 öncelikli çevre kirleticileri arasında en önemli gruplardan birini oluşturmaktadır (Neilson et al 2003). Topraklarda en sık rastlanan metal kirleticiler kurşun (Pb), civa (Hg), arsenik (As), krom (Cr), kadmiyum (Cd), bakır (Cu) ve nikel (Ni)'dir. Toprak sistemi ilişkili olduğu su ve havanın içerdiği kirleticiler için son depolama noktasıdır. Diğer taraftan toprak, karasal ekosistemin taşıyıcı unsuru olup, toprak kalitesindeki değişim, gerek doğal ve gerekse tarım ekosisteminin verimliliğini etkilemektedir.

Periyodik çizelgede yoğunluğu 5 g cm<sup>-3</sup>'den büyük olan ya da atom ağırlığı 50 ve daha büyük olan elementler ağır metal olarak tanımlanmaktadır (Nagajyoti et al 2010; Dağhan 2011). Ağır metalleri; bitki gelişimi için mutlak gerekli olanlar (demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn), mangan (Mn) ve molibden (Mo)), bitki gelişimini teşvik edici olanlar (vanadyum (V), kobalt (Co) ve (nikel) Ni) ve bitkiye doğrudan toksik etki yapanlar (As, Pb, Cd, Cr ve Hg) olarak üç grup altında toplamak mümkündür. İster mutlak gerekli olsun ister bitki gelişimini teşvik edici olsun, ağır metallerin topraktaki aşırı konsantrasyonları hem bitkiler hem de diğer canlılar üzerinde toksik etki yapmaktadır.

Mutlak gerekli olan ve bitki gelişimini teşvik edici Cu, Ni ve Zn, bitkilerde birçok önemli metabolik sürece katılır. Bakır; fotosentezde, bazı enzimlerin (süperoksit dismutaz, askorbat oksidaz vb.) yapısında, hücre duvarının ligninleşmesinde görev alır. Çinko; karbonhidrat, protein, sakkaroz ve nişastanın sentezinde, membranların sağlamlığında ve süperoksit dismutaz, RNA polimeraz, dehidrojenaz gibi birçok enzimin yapısında yer alır. Nikel ise üreaz, glikolaz, hidrogenaz, metil redüktaz gibi bazı enzimlerin yapısında fonksiyonel olarak görev alır (Marschner 1995; Kacar 2012). Ancak bu elementler bitkide ihtiyaç duyulan miktardan daha fazla alındığında bitkilerde zararlara neden olmaktadır. Yüksek miktarda alınan bu metaller hücre metabolizmalarına zarar vermekte ve hücrelerin ölümüne neden olmaktadır (Dağhan 2011).

Bitkilerin sağlıklı bir şekilde yaşam döngülerini tamamlayabilmesi, tamamen mutlak gerekli besin elementlerinin dengeli bir şekilde bitkiye alınmasına ve toksik elementlerin ise belirli bir konsantrasyonun altında alınmasına bağlıdır. Bu denge bir tarafa doğru bozulduğunda bitkide büyüme ve gelişme bozuklukları ortaya çıkmakta ve bitki bazen yaşam döngüsünü tamamlayamamaktadır. Diğer bir deyimle bir besin elementinin bitkiye yüksek konsantrasyonlarda alınması anyon ve katyon dengesinin bozulmasına, metabolik süreçlerin hızında ise değişikliklere neden olmaktadır. Bu

ise zincirleme olarak bitkiye gerekli olan makro ve mikro besin elementlerinin alınan miktarlarını etkilemektedir. Yapılan bazı çalışmalar, yüksek dozda alınan ağır metallerin bitkiye su ve diğer elementlerin alımını ve taşınmasını etkilediğini göstermiştir. Ancak doğal ve genetiği değiştirilmiş bütün bitkisinde toksik düzeyde Zn, Cu, Ni ve Cd'un N, P ve K üzerine etkisi çalışılmamıştır.

Azot, fosfor ve potasyum topraktan ve yetişme ortamlarından bitkiler tarafından en çok alınan mutlak gerekli elementlerdir. Azot diğer elementlere göre bitkinin büyüme ve gelişmesi ile ürün miktarı üzerine daha fazla etkilidir. Ayrıca bitkide proteinler, nükleik asit gibi birçok organik bileşiğin yapısında ve fotosentez gibi önemli metabolik süreçlerde görev alır. Fosfor elementi, fotosentez, karbon fiksasyonu, karbonhidrat metabolizması, genlerin oluşumu ve genetik kodların taşınması gibi birçok olayda görev almaktadır. Bitkideki metabolik süreçlerde yüksek enerjili fosfat bileşikleri önemli rol oynamaktadır. Potasyum ise enzimlerin aktive edilmesi, fotosentez ürünlerinin taşınması, protein sentezi ve hücrede su dengesinin sağlanması gibi işlevlerde rol alır (Kacar 2012).

Bu çalışmanın amacı, su kültürü ortamında, dört farklı ağır metal iyonlarının ( $Zn^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  ve  $Cd^{+2}$ ) üç farklı dozunun (0, 5 ve 10 mg L<sup>-1</sup>) transgenik ve transgenik olmayan tütün bitkilerinin makro besin elementlerinden N, P ve K alımına etkisini incelemektir.

## 2. Materyal ve Yöntem

Denemelerde kullanılan transgenik olmayan Petite Havana SR-1 tütün çeşidi (*Nicotiana tobacum* L.) ve aynı çeşidin transgenik (p-S-ScMTII) formu RWTH-Aachen Moleküler Biyoloji Bölümü'nden (Almanya) temin edilmiştir. Transgenik (p-S-ScMTII) tütün tohumları, antibiyotik içeren (kanamisin) Murashige-Skoog (MS) besi ortamında (Dağhan 2004), transgenik olmayan tütün bitkisi çeşidi (SR-1) ise, torf+perlit karışımı (1:1) ortamda 2-3 yapraklı hale gelip hafif köklendikten sonra Hoagland besin çözeltisi (Shi et al 2006) içeren ortama (pH 5.2) aktarılmıştır. Besin çözeltisine

Zn, Cu, Cd ve Ni ağır metalleri 0, 5 ve 10 mg L<sup>-1</sup> dozlarında ayrı ayrı uygulanmıştır. Bu amaçla, söz konusu ağır metallerin SO<sub>4</sub> tuzları kullanılmıştır. Besin çözeltisi her 2-3 günde bir değiştirilmiştir. Bitkiler besin çözeltisi ortamında ve kontrollü koşullarda (16/8 saat ışık/karanlıkta, 25-20 °C sıcaklıkta ve % 60-70 nemde, 10 klux ışık yoğunluğunda) 15 gün süre boyunca yetiştirilmiştir. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

### 2.1. Bitki örneklerinin analizi

Deneme sonunda bitkiler hasat edilerek saf suyla yıkanıp kurulandıktan sonra kurutma dolabında 65 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuş bitkilerin kuru ağırlıkları alınmıştır. Daha sonra bu kurutulmuş örnekler agat taşlı bitki öğütme değirmeninde (Retsch RM200) öğütülmüştür. Öğütülen bitkilerin üst kısımları HNO<sub>3</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile mikro dalga fırında (MarsXpress CEM) yakılarak toplam element konsantrasyonu (Cd, Zn, Cu, Ni, P ve K) ICP-AES'de (İndüktif Eşleşmiş Plazma-Atomik Emisyon Spektrometre; Varian Series-II) belirlenmiştir. Bitki örneklerinde N analizi ise Kjeldahl yöntemine göre yapılmıştır (Kacar 1984).

### 2.2. İstatistiksel analizler

Elde edilen veriler istatistiksel analiz programı (SAS) kullanılarak değerlendirilmiş (SAS 1997) ve ortalamalar arasındaki fark, en küçük önemli fark (LSD<sub>a=0.05</sub>) testi uygulanarak gruplandırılmıştır.

## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. Çinko denemesi

Çinko dozlarındaki artış, p-S-ScMTII ve SR-1 bitkilerinin kuru ağırlığının (yeşil aksam) azalmasına neden olmuştur (Çizelge 1). En fazla kuru ağırlık p-S-ScMTII bitkisinde tespit edilirken her iki bitkinin kuru ağırlıklarında önemli bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 1). Transgenik ve transgenik olmayan tütün bitkilerinin Zn içerikleri 31-1326 mg kg<sup>-1</sup> arasında bir değişim göstermiştir (Çizelge 1). Transgenik bitkilerin tüm uygulama dozlarında transgenik olmayan bitkiye göre daha

yüksek konsantrasyonlarda Zn içerdiği gözlenmiştir. Çinko alım kabiliyetleri açısından iki bitki arasında  $P < 0.05$  önem düzeyinde bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Azot, P ve K alımları açısından iki bitki arasında istatistiki olarak fark olmamakla beraber artan dozlardaki Zn uygulamalarıyla yeşil aksamın N, P ve K konsantrasyonlarında azalma meydana gelmiştir (Çizelge 1). Kontrol ve 5 mg Zn L<sup>-1</sup> uygulamalarında N, P, K konsantrasyonları benzer iken, 10 mg Zn L<sup>-1</sup> uygulamasında üç elementin de konsantrasyonu önemli derecede azalma göstermiştir. Bu azalmalar transgenik bitkide N, P ve K elementleri için sırasıyla % 39.8, % 25.0 ve % 21.8 olurken daha fazla etkilenen transgenik olmayan bitkide ise sırasıyla % 50.4, % 30.5 ve % 33.0 olarak belirlenmiştir.

Makro elementlerin oranları göz önüne alındığında ise P/K oranı Zn'nin artan konsantrasyonlarından etkilenmezken N/P ve

N/K oranları her iki bitkide de Zn dozlarındaki artışla azalma göstermiştir. Bu azalma 10 mg Zn L<sup>-1</sup> uygulamasında daha bariz bir şekilde ortaya çıkmıştır. Elde edilen bulgu, artan Zn dozlarının oransal olarak N alımını daha fazla etkilediğini göstermektedir.

Bitkilerde Zn toksisitesi genellikle bu elementin bitkideki konsantrasyonu 300 mg kg<sup>-1</sup>'in üzerine çıktığında yaygındır. Ancak bazı bitkiler 100 mg kg<sup>-1</sup>'in altında toksisite gösterebilirler (Marschner 1995). Tipik olarak toksik seviyedeki Zn'nin bitkide oluşturduğu belirtiler; üründe azalma, büyümede gerileme, klorofil sentezindeki gerileme nedeniyle Fe noksanlığına bağlı klorozlar ve P ile olan girişimlerdir (Chaney 1993). Bu çalışmada 5 mg Zn L<sup>-1</sup> dozunda Zn konsantrasyonu her ne kadar transgenik bitkide 784, SR-1'de 578 mg kg<sup>-1</sup>'a ulaşarak, rapor edilen kritik seviyenin çok üzerinde olmasına rağmen üretilen biyomas miktarında bir artış gözlenmiştir. Ancak 10 mg Zn L<sup>-1</sup> uygulamasında bitki konsantrasyonları 1326 ve

**Çizelge 1- Farklı Zn dozu uygulamalarının, çeşit ve çeşit x doz interaksiyonlarının transgenik p-S-ScMTII tütün bitkisi ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının kuru ağırlıkları, element konsantrasyonları ve N/P, N/K ve P/K oranları üzerine etkileri**

Table 1- Effects of different Zn doses, cultivar, and cultivar x dose interactions on aboveground dry biomass, element concentrations and N/P, N/K, P/K ratio of transgenic p-S-ScMTII and wild type SR-1 tobacco

Çeşit	Doz (mg L <sup>-1</sup> )	Kuru ağırlık (g bitki <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	Zn (mg kg <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	N (%)	P (%)	K (%)	N/P	N/K	P/K
p-S-ScMTII	0	3.56	32	4.65	0.59	7.54	7.88	0.617	0.078
p-S-ScMTII	5	3.78	784	4.50	0.59	8.01	7.63	0.562	0.074
p-S-ScMTII	10	2.12	1326	2.80	0.44	5.90	6.36	0.475	0.075
SR-1	0	3.46	31	4.66	0.59	8.30	7.90	0.561	0.071
SR-1	5	3.26	578	4.65	0.59	8.08	7.88	0.575	0.073
SR-1	10	1.86	980	2.31	0.41	5.56	5.63	0.415	0.074
<i>Doz (mg L<sup>-1</sup>)</i>									
	0	3.51	31	4.66	0.60	7.93	7.77	0.588	0.076
	5	3.52	681	4.58	0.59	8.05	7.76	0.569	0.073
	10	1.99	1154	2.56	0.43	5.73	5.95	0.447	0.075
	LSD 0.05	0.79	116	0.28	0.04	0.47			
<i>Çeşit</i>									
	p-S-ScMTII	3.16	714	3.99	0.54	7.31	7.39	0.546	0.074
	SR-1	2.86	530	3.87	0.53	7.15	7.30	0.541	0.074
	LSD 0.05	0.65	86	0.23	0.04	0.48			

a, Dağhan et al (2010a)'dan alınmıştır.

980 mg kg<sup>-1</sup>'a ulaşmış ve bitkide üretilen biyomas miktarı transjenik tütünde % 40.4, SR-1 de ise % 46.2'lik bir azalma göstermiştir. Genel olarak, ürün miktarının % 50 azaldığı durumda bitkinin Zn konsantrasyonu kritik konsantrasyon olarak tanımlanmaktadır (Marschner 1995). SR-1 tütün bitkisinin genetiği değiştirilerek toksisite sınırının çok daha yüksek konsantrasyonlara taşındığı görülmektedir. Bunun sebebi yapılan genetik değişimin alınan ağır metallerin bitki hücrelerindeki kofullarında birikecek şekilde olmasıyla ilişkilidir (Dağhan et al 2010a).

Büyüme ortamındaki 5 mg Zn L<sup>-1</sup> konsantrasyonu bitkilerin N, P ve K alımını çok az etkilemiş ya da etkilememiştir. Ancak toksisitenin başladığı veya biyomas üretiminin % 40'ın üzerinde azaldığı 10 mg Zn L<sup>-1</sup> konsantrasyonda üç elementin de bitkilerdeki konsantrasyonlarında azalma ortaya çıkmıştır. Benzer şekilde Stoyeneva & Doncheva (2002), bezelyede artan Zn dozlarının başlangıçta N, P ve K miktarını çok az etkilediğini, daha sonra ise azalmalara yol açtığını bildirmişlerdir. Çinko toksisitesi farklı bitkilerde metabolizmaları yavaşlatması ve oksidatif parçalanma süreçlerini hızlandırması şeklinde gözlenmiştir (Cakmak & Marschner 1993; Prasad et al 1999). Aynı zamanda, yüksek Zn konsantrasyonları, P eksikliğinin nedenleri arasında sayılmaktadır (Lee et al 1996). Ancak, bu çalışmada 10 mg Zn L<sup>-1</sup> dozundaki azalmalar göz önüne alındığında Zn'nin artan dozlarından N'nin P ve K'ya oranla daha fazla etkilendiği gözlenmiştir.

### 3.2. Bakır denemesi

Bakır dozlarındaki artışla birlikte bitkilerin yeşil aksam kuru ağırlıklarında azalma görülmüştür. Transjenik tütün bitkisi, transjenik olmayan tütüne göre istatistiki açıdan önemli miktarda daha fazla kuru biyomas üretmiş olmasına rağmen, yeşil aksamın Cu konsantrasyonu SR-1 bitkisinde istatistiki olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur (Çizelge 2).

Bitkilerin N, P ve K konsantrasyonları arasında önemli bir fark görülmemiştir. Ancak artan Cu konsantrasyonu ile birlikte üç elementin yeşil

aksamlardaki konsantrasyonu büyük oranda azalma göstermiştir. Uygulanan 5 ve 10 mg L<sup>-1</sup> Cu dozlarında N, P ve K konsantrasyonları benzer olmakla beraber kontrol uygulamasından önemli derecede düşüktür. Artan Cu dozlarıyla yeşil aksamın N, P, K içeriklerinde sırasıyla transjenik bitkide % 44.4, % 44.8 ve % 26.6; SR-1 bitkisinde ise % 45.5, % 41.8 ve % 29.6' a ulaşan oranlarda azalma gözlenmiştir. Yüksek Cu konsantrasyonu N ve P alımını daha yüksek ve benzer şekilde etkilerken, K alımını oransal olarak daha az etkilemiştir. N/P oranı değişen Cu konsantrasyonlarında hemen hemen sabit kalırken, N/K ve P/K oranları yetiştirme ortamındaki artan Cu konsantrasyonu ile azalmıştır (Çizelge 2).

Jones et al (1991), tütün bitkisinin kritik Cu konsantrasyon düzeyini 16-60 mg kg<sup>-1</sup>, N düzeyini % 3.5-4.25, P düzeyini % 0.27-0.5 ve K düzeyini % 2.5-3.2 olarak bildirmişlerdir. Bu seviyelerin altında bitkiler noksanlık gösterirken üst seviyeden sonra toksisite belirtileri göstermektedirler. Bakır toksisitesi, Fe, Zn ve Mn gibi temel besin elementlerinin alımı ve dağılımını etkilemektedir (Wang et al 2004). Kökler, su ve besin elementlerinin bitki tarafından alınmalarında ana giriş görevi yaparlar. Bu yüzden köklerdeki zararlanma ve bozukluk bitki büyümesini etkilemektedir. Bakır toksisitesi de kök gelişimini engeller, kalın kök dokuları ve kök zararlanması ise su ve besin elementinin bitkinin üst aksamlarına taşınmasına izin vermez. Bu durumda bitkilerde solgunlukla birlikte Fe, Zn ve Mn gibi besin elementlerinin noksanlığı görülür. Çeltik (Kitagishi & Yamane 1981) ve buğday (Lanaras et al 1993) bitkileri ile yapılan çalışmalarda Cu ve Fe arasında sinergistik bir etki olduğu bildirilmiştir. Bakır toksisitesi koşullarında yetişen bitkilerde ise sıklıkla Cu-Fe arasında antagonistik bir etkileşim olduğu tespit edilmiştir (Reilly & Reilly 1973; Wallace & Cha 1989).

Bakır dozlarındaki artışla birlikte her iki bitkinin N, P ve K konsantrasyonları azalmıştır (Çizelge 2). Benzer sonuçlar, Ouzouniou (1994) tarafından da tespit edilmiştir. Araştırmacı, artan Cu konsantrasyonunun *Alyssum montanum*



**Çizelge 2- Farklı Cu dozu uygulamalarının, çeşit ve çeşit x doz interaksyonlarının transgenik p-S-ScMTII tütün bitkisi ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamalarının kuru ağırlıkları, element konsantrasyonları ve N/P, N/K ve P/K oranları üzerine etkileri**

Table 2- Effects of different Cu doses cultivar and cultivar x dose interactions on aboveground dry biomass element concentrations and N/P, N/K, P/K ratio of transgenic p-S-ScMTII and wild type SR-1 tobacco

Çeşit	Doz (mg L <sup>-1</sup> )	Kuru ağırlık (g bitki <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	Cu (mg kg <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	N (%)	P (%)	K (%)	N/P	N/K	P/K
p-S-ScMTII	0	2.40	23.26	4.93	0.67	7.90	7.36	0.624	0.085
p-S-ScMTII	5	0.62	46.52	3.11	0.42	6.00	7.41	0.518	0.070
p-S-ScMTII	10	0.72	81.86	2.74	0.37	5.80	7.41	0.472	0.064
SR-1	0	2.16	25.86	5.19	0.67	8.10	7.75	0.641	0.083
SR-1	5	0.46	47.98	2.83	0.39	5.70	7.26	0.497	0.068
SR-1	10	0.47	90.78	3.1	0.42	5.70	7.38	0.544	0.074
<i>Doz (mg L<sup>-1</sup>)</i>									
	0	2.28	24.56	5.06	0.67	8.00	7.55	0.633	0.084
	5	0.54	47.25	2.97	0.41	5.90	7.24	0.503	0.070
	10	0.60	86.32	2.92	0.39	5.80	7.49	0.503	0.067
	LSD 0.05	0.22	20.90	0.24	0.05	0.90			
<i>Çeşit</i>									
	p-S-ScMTII	1.25	50.55	3.6	0.48	6.60	7.50	0.545	0.073
	SR-1	1.03	54.88	3.71	0.49	6.50	7.57	0.571	0.075
	LSD 0.05	0.20	2.77	0.20	0.04	0.60			

a, Daghan et al (2012a)'dan alınmıştır.

bitkisinin kök ve yeşil aksamında Ca, Mg, Fe ve K alım ve birikimini etkilendiğini bildirmiştir. Bu durum aşırı Cu uygulamalarının neden olduğu özellikle kök boğazında meydana gelen şiddetli kök zararlanmaları ile ilgili olabilir.

### 3.3. Kadmiyum denemesi

Farklı Cd dozu uygulamalarının p-S-ScMTII ve SR-1 tütün bitkilerinin kuru ağırlıkları ile element konsantrasyonları (Cd, N, P, K) üzerine çeşit doz interaksyonunun etkileri Çizelge 3'de verilmiştir. Her iki bitkide de artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak üretilen kuru madde miktarında önemli düzeyde azalma ortaya çıkmıştır. SR-1 bitkisi daha fazla biyomas üretmesine rağmen bitkiler arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır (Çizelge 3).

Bitkilerin Cd alım potansiyelleri karşılaştırıldığında transgenik tütünün (730 mg kg<sup>-1</sup>) SR-1 bitkisine (612 mg kg<sup>-1</sup>) oranla daha yüksek miktarlarda Cd'yi bünyesinde biriktirebildiği

belirlenmiştir. Nitekim bu durum biyomas üzerine olumsuz olarak yansımıştır. Artan Cd dozlarının Cd alımını arttırdığı transgenik bitkide 10 mg L<sup>-1</sup> dozunda bitkinin Cd konsantrasyonunun 1313 mg kg<sup>-1</sup> e ulaştığı görülmüştür.

Kadmiyumun artan dozlarıyla bitkilerin yeşil aksamının N, P ve K konsantrasyonlarında istatistiki olarak önemli derecede bir azalma gözlenmiştir. Yüksek Cd konsantrasyonlarında transgenik tütünün yeşil aksamında bulunan N, P ve K miktarları sırasıyla % 38.4, % 18.6 ve 24.1 oranında azalırken, SR-1 bitkisinde bu azalmaların miktarı % 40.0, % 25.0 ve % 31.5 şeklinde gerçekleşmiştir. Bitkilerin N ve K alımları arasındaki fark önemli olmamasına rağmen P alımları arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 3). N/P ve N/K oranları her iki bitkide de Cd konsantrasyonuna bağlı olarak azalma gösterirken P/K oranının fazla değişmediği görülmektedir (Çizelge 3).

**Çizelge 3- Farklı Cd dozu uygulamalarının, çeşit ve çeşit x doz etkileşimlerinin transjenik p-S-ScMTII ve transjenik olmayan SR-1 tütün bitkilerinin yeşil aksamalarının kuru ağırlıkları, element konsantrasyonları ve N/P, N/K ve P/K oranları üzerine etkileri**

Table 3- Effects of different Cd doses, cultivar, and cultivar x dose interactions on aboveground dry biomass, element concentrations and N/P, N/K, P/K ratio of transgenic p-S-ScMTII and wild type SR-1 tobacco

Çeşit	Doz (mg L <sup>-1</sup> )	Kuru ağırlık (g bitki <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	Cd (mg kg <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	N (%)	P (%)	K (%)	N/P	N/K	P/K
p-S-ScMTII	0	3.69	0.00	4.04	0.43	9.71	9.400	0.416	0.044
p-S-ScMTII	5	2.24	879	3.10	0.36	7.37	8.610	0.421	0.049
p-S-ScMTII	10	1.61	1313	2.49	0.35	7.59	7.110	0.328	0.046
SR-1	0	4.23	0.00	4.02	0.44	9.84	9.140	0.409	0.045
SR-1	5	2.67	787	2.51	0.33	7.24	7.610	0.347	0.046
SR-1	10	2.29	1050	2.41	0.33	6.74	7.300	0.358	0.049
<i>Doz (mg L<sup>-1</sup>)</i>									
	0	3.96	0.00	4.03	0.43	9.77	9.372	0.412	0.044
	5	2.46	833	2.81	0.35	7.31	8.029	0.384	0.048
	10	1.95	1181	2.45	0.34	7.16	7.206	0.342	0.047
	LSD 0.05	0.76	96.4	0.32	0.03	0.58			
<i>Çeşit</i>									
	p-S-ScMTII	2.52	730	3.21	0.38	8.22	8.447	0.391	0.046
	SR-1	3.07	612	2.98	0.66	7.94	4.515	0.375	0.048
	LSD 0.05	0.62	78.7	0.26	0.03	0.47			

a, Dağhan et al (2010b)'den alınmıştır.

Kadmiyum stresi koşullarında N metabolizmasının enzimleri olan nitrat redüktaz ve nitrit redüktazın aktiviteleri azalmaktadır. Bu durum bitkilerin nitrat asimilasyonunu azaltmaktadır (Gouia et al 2000). Yapılan bir çalışmada 50 µM Cd uygulanan domates yaprak ve köklerinin nitrat içeriği kontrol bitkilerine göre % 24 ve % 62 oranında daha düşük bulunurken, toplam amino asit miktarının arttığı belirlenmiştir (Chaffei et al 2004). Bir başka çalışmada ise, buğday fidelerinin yetiştirildiği ortama Cd ilave edilmesinin bitkilerin K ve nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) alımını azalttığı ve sürgün gelişimini engellediği belirlenmiştir (Öktüren et al 2007).

Kadmiyum stresi altında bitkilerin su ve iyon alımının azalmasının en önemli nedeni kök büyüme ve gelişmesini engellemesidir. Ayrıca Cd stresi altındaki bitkilerde stomaların kapanması nedeniyle transpirasyonla su kaybı azalmakta ve Cd taşınması engellenmektedir (Öktüren & Sönmez 2006). Bu durum diğer besin elementlerinin de bitkinin üst

aksamlarına taşınmasını engellemektedir. Zira bu taşınma sürecinde su, ana taşıyıcıdır. Diğer taraftan Cd bitki bünyesinde N ve karbonhidrat metabolizmalarını değiştirmesi nedeniyle birçok fizyolojik değişikliğe neden olmaktadır. Bu metal, proteinlerin -SH gruplarındaki enzimleri inaktive etmekte, stomaların kapanmasına, transpirasyon ile su kaybının azalmasına ve klorofil biyosentezinin bozulmasına neden olmaktadır (Sheoran et al 1990). Bir başka çalışmada ise buğday fidelerinin yetiştirildiği ortama 0.04 mM Cd uygulamasının bitkilerin kontrole göre NO<sub>3</sub><sup>-</sup> alımını % 60, K alımını ise, % 56 azalttığı saptanmıştır (Veslov et al 2003). Yukarıda bahsedilen etkilerin tamamı bitki besin elementlerinin büyüme ortamlarından alınmasını olumsuz olarak etkileyen faktörlerdir. Çalışılan elementler içerisinde en fazla etkilenen element % 40'a yaklaşan bir ortalama değer ile N olmuştur. Zira Cd toksisitesi durumunda bu elementin hem taşınma süreci hem de metabolizmasında önemli problemler ortaya çıkmaktadır.

### 3.4. Nikel denemesi

Artan dozlarda Ni uygulaması ile p-S-ScMTII ve SR-1 tütün bitkilerinin kuru ağırlıkları, N, P ve K konsantrasyonlarında azalma görülürken, Ni konsantrasyonunda bir artış gözlenmiştir (Çizelge 4). Artan Ni dozu ile birlikte biyomas, N, P ve K konsantrasyonu önemli şekilde azalırken; bitkilerin Nikonsantrasyonu önemli derecede artış göstermiştir. Transgenik ve SR-1 bitkileri karşılaştırıldığında, bitkilerin Ni, K, P konsantrasyonları arasındaki farklar önemli iken diğer parametreler arasındaki farklar önemli bulunmamıştır.

Artan Ni dozuyla transgenik tütünün yeşil aksamında bulunan N, P ve K miktarları sırasıyla % 71.6, % 50.8 ve % 65.8 oranında azalırken, SR-1 bitkisinde bu azalmaların miktarı % 64.3, % 52.7 ve % 67.1 şeklinde gerçekleşmiştir. Artan Ni konsantrasyonlarında N/P, N/K ve P/K oranları belirgin bir değişim göstermemiştir. Ancak 5 mg Ni L<sup>-1</sup> uygulamasındaki oranlar diğer uygulamalardan farklı olmuştur (Çizelge 4).

Günümüzde mutlak gerekli elementlerden biri olarak kabul edilen Ni'nin tarım topraklarındaki konsantrasyonu genelde çok azdır. Ancak, serpantin gibi ultra bazik püskürük kayalardan oluşan toprakların Ni içeriği 100-5000 mg Ni kg<sup>-1</sup> arasında değişmektedir (Kacar & Katkat 2006). Kritik toksik düzey duyarlı bitkilerde > 10 mg kg<sup>-1</sup> kuru madde ve orta düzeyde duyarlı bitkilerde ise > 50 mg kg<sup>-1</sup> kuru maddedir (Özbek et al 1993). Nikel, yüksek şelatlaşma eğilimine sahip olup, bitkilerdeki enzimlerde ve fizyolojik aktif merkezlerde bulunan ağır metallere yer değiştirir. Nikel üreaz ve birçok hidrogenaz enzimlerinin metal yapı maddesidir. Bu nedenle Ni içerikleri az olan bitkiler üre şeklinde uygulanan azotlu gübreden yararlanamadıkları gibi üre, bu bitkilere toksik etki de yapmaktadır (Kacar & Katkat 2006). Fasulye bitkisine 0.1, 0.3 ve 0.5 mM dozlarında Ni uygulanan bir çalışmada bitkinin klorofil a, klorofil b, karotenoidler, total pigment I ve total pigment II miktarının azaldığı belirlenmiştir. 0.1 mM Ni uygulanan fidelerin yapraklarındaki

**Çizelge 4- Farklı Ni dozu uygulamalarının, çeşit ve çeşit x doz interaksiyonlarının transgenik p-S-ScMTII tütün bitkisi ve transgenik olmayan SR-1 tütün bitkileri yeşil aksamlarının kuru ağırlıkları, element konsantrasyonları, N/P, N/K ve P/K oranları üzerine etkileri**

Table 4- Effects of different Ni doses, cultivar, and cultivar x dose interactions on aboveground dry biomass, element concentrations and N/P, N/K, P/K ratio of transgenic p-S-ScMTII and wild type SR-1 tobacco

Çeşit	Doz (mg L <sup>-1</sup> )	Kuru ağırlık (g bitki <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	Ni (mg kg <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	N (%)	P (%)	K (%)	N/P	N/K	P/K
p-S-ScMTII	0	5.17	0.00	3.67	0.59	4.88	6.22	0.752	0.121
p-S-ScMTII	5	2.44	72.4	1.04	0.29	1.67	3.59	0.623	0.174
p-S-ScMTII	10	1.52	128	1.78	0.35	2.31	5.09	0.771	0.152
SR-1	0	6.00	0.00	3.78	0.55	5.07	6.87	0.746	0.108
SR-1	5	3.34	71.4	1.35	0.26	1.67	5.19	0.808	0.156
SR-1	10	1.66	86.9	1.79	0.31	2.70	5.77	0.663	0.115
<i>Doz (mg L<sup>-1</sup>)</i>									
	0	5.59	0.00	3.72	0.57	4.98	6.53	0.747	0.115
	5	2.89	71.9	1.19	0.27	1.67	4.41	0.713	0.162
	10	1.59	108	1.78	0.33	2.51	5.39	0.709	0.131
	LSD 0.05	0.39	9.1	0.22	0.03	0.20			
<i>Çeşit</i>									
	p-S-ScMTII	3.04	66.9	2.16	0.41	2.95	5.27	0.732	0.139
	SR-1	3.67	52.8	2.30	0.37	3.15	6.22	0.730	0.117
	LSD 0.05	3.32	7.4	0.18	0.02	0.16			

a, Dağhan & Köleli (2012b)'den alınmıştır.



klorofil a, klorofil b, total pigment I ve II miktarları kontrol fidelerine göre sırasıyla % 27.8, % 19.3, % 18.9 ve % 22.4 oranlarında; 0.5 mM Ni dozunda ise, % 35.1, % 26.4, % 25.2 ve % 29.4 oranlarında azalmıştır (Zengin & Munzuroğlu 2005). *Brassica juncea* bitkisinin Ni akümülayon ve toksisitesinin bitki kuru ağırlığı arasındaki ilişkinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, 100 µM Ni uygulaması sonucunda bitkilerin kuru ağırlığında bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Alam et al 2007).

Nikel diğer besin elementleri gibi (K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Na vb.) bitki büyümesi için gerekli olan ve mikro besin elementi grubunda yer alan bir elementtir. Nikel elementi, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu ve Zn ile benzer özelliklere sahiptir. Bu yüzden bitki sisteminde Ni, söz konusu elementlerle absorpsiyon, alım ve kullanımda yarış halinde olabilir. Bu yarış sonucunda Ni'in eşik seviyesinin üzerinde alınması, diğer metallerin absorpsiyonunu engelleyerek, konsantrasyonlarının azalmasına ve hatta bitkide bu elementlerin noksanlıklarının görülmesine neden olabilir (Chen et al 2009; Yusuf et al 2011). Brune & Deitz (1995) yaptıkları bir çalışmada, arpa bitkisinde toksik düzeydeki Ni konsantrasyonlarının bitkideki Ca, Fe, K, Mg, Mn, P ve Zn içeriğini önemli miktarda azalttığını tespit etmişlerdir. Bu bulgular Ni'nin transgenik ve SR-1 üzerinde tespit edilen sonuçlarla uyum içerisinde.

#### 4. Sonuçlar

Bu çalışmada kullanılan ağır metallerin artan dozları hem transgenik p-S-ScMTII hem de transgenik olmayan SR-1 tütün bitkisinde biyomas üretimini önemli derecede azaltmıştır. Bu azalmanın temel nedenleri arasında; bu elementlerin toksik seviyelerde bitki dokularında birikmesi veya bitkinin büyüme ve gelişmesini sağlayan metabolizmaların bozulmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir. Zn, Cu, Cd ve Ni ağır metallerinin artan eşdeğer dozları bitkilerin N, P ve K alımını azaltmıştır. Bu elementler arasında bu üç makro besin elementinin alımını en çok etkileyen ağır metalin Ni olduğu belirlenmiştir. Bakır elementinin etkisi daha çok bitkilerin kök yapısını bozmasıyla ilgili iken, diğer

elementlerde metabolik olaylara olan etkilerin de önemli olduğu kanaatine varılmıştır.

#### Teşekkür

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 108-O-161 nolu proje kapsamında desteklenmiştir. TÜBİTAK'a ve tütün tohumlarını sağladığı için RWTH Aachen Üniversitesi, Moleküler Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Rainer Fischer'e teşekkür ederiz.

#### Kaynaklar

- Alam M M, Hayat S, Ali B & Ahmad A (2007). Effect of 28-homobrassinolide treatment on nickel toxicity in *Brassica juncea*. *Photosynthetica* **45**:139-142
- Brune A, & Deitz K J (1995). A comparative analysis of element composition of roots and leaves of barley seedlings grown in the presence of toxic cadmium, molybdenum, nickel and zinc concentrations. *Journal of Plant Nutrition* **18**: 853-868
- Cakmak I & Marschner H (1993). Effect of zinc nutritional status on superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean leaves. In: N. J. Barrow (Eds), *Plant Nutrition from Genetic Engineering Field Practice*, Kluwer, The Netherlands. pp: 133-137
- Chaffei C, Pageau K, Suzuki A, Gouia H, Ghorbel M H & Masclaux-Daubresse C (2004). Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon esculentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy. *Plant and Cell Physiology* **45**(11): 1681-1693
- Chaney R L (1993). Zinc phytotoxicity. In: A D Robson (Eds), *Zinc in soil and plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherland
- Chen C, Huang D & Liu J (2009). Functions and toxicity of nickel in plants: recent advances and future prospects. *Clean* **37**(4-5): 304-313
- Daghan H (2004). Phytoextraction of heavy metal from contaminated soils using genetically modified plants. PhD Thesis, RWTH-Aachen University, Germany
- Daghan H, Arslan M, Koleli N, Uygur V & Eren A (2010a). Evaluation of zinc accumulation ability of transgenic and non transgenic tobacco. In: *Second International Symposium on Sustainable Development (ISSD 2010)*,

- 8-9 June, International Burch University, Sarajevo Bosnia Herzegovina, 3: 94-102
- Daghan H, Arslan M, Uygur V, Koleli N & Eren A (2010b). The cadmium phytoextraction efficiency of ScMTII gene bearing transgenic tobacco plant. *Biotechnology and Biotechnology Equipment* **24**(3): 1974-1978
- Dağhan H (2011). Doğal kaynaklarda ağır metal kirliliğinin insan sağlığı üzerine etkileri. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi* **16**(2): 15-25
- Daghan H, Uygur V, Arslan M & Koleli N (2012a). Copper removal by ScMTII transgenic and wild type tobacco in hydroponic system-a comparative study. *Revista de Chemie* **63**(12): 1193-1197
- Dağhan H & Köleli N (2012b). Nikel ile kirlenmiş toprakların fitoekstraksiyonu için transgenik ve transgenik olmayan tütün bitkisinin karşılaştırmalı değerlendirilmesi. *Ekoloji* **84**: 90-97
- Doumett S, Lamperi L, Checchini L, Azzarello E, Mugnai S, Mancuso S, Petruzzelli G & Bubba M (2008). Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: influence of different complexing agents. *Chemosphere* **72**: 1481-1490
- Gouia H, Gorbil M H & Meyer C (2000). Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of the nitrate assimilation pathway in bean. *Plant Physiology and Biochemistry* **38**:629-638
- Jones J B Jr, Wolf B & Mills H A (1991). Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide, Micro-Macro Publishing, Athens, GA
- Kacar B (1984). Bitki Besleme Uygulama Kılavuzu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:900, Ankara
- Kacar B & Katkat V (2006). Bitki Besleme. Nobel Yayınları, No:849, Ankara
- Kacar B (2012). Temel Bitki Besleme. Nobel Yayınları, No:206, Ankara
- Kitagishi K & Yamane I (1981). Heavy metal pollution in soils of Japan. In: K Kitagishi & Yamane I (Eds), *Japan Science Society Press*, Tokyo
- Lanaras T, Moustakas M, Symeonidis L, Diamantoglou S & Karataglis S (1993). Plant metal content, growth responses and some photosynthetic measurements on field-cultivated wheat growing on ore bodies enriched in Cu. *Physiology Plantarum*, **88**: 307-314
- Lee C W, Choi J M, & Pak C H (1996). Micronutrient toxicity in seed geranium (*Pelargonium x hortorum* Baley). *Journal of American Society Horticulture Science* **121**: 77-82
- Marschner H (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2<sup>nd</sup> edition, Academic Press, London, UK
- Nagajyoti P C, Lee K D & Sreekanth T V M (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters* **8**: 199-216. DOI 10.1007/s10311-010-0297-8
- Neilson J W, Artiola J F & Maier R M (2003). Characterization of lead removal from contaminated soils by non toxic washing agents. *Journal of Environmental Quality* **32**: 899-908
- Nouri J, Khorasani N, Lorestani B, Karami M, Hassani A H & Yousefi N (2009). Accumulation of heavy metals in soil and uptake by plant species with phytoremediation potential. *Environmental Earth Science* **59**(2): 315-323
- Ouzounidou G (1994). Copper-induced changes on growth, metal content and photosynthetic function of *Alyssum montanum* L. plants. *Environmental Experiment Botany* **34**(2): 165-172
- Öktüren F A & Sönmez S (2006). Ağır metal toksisitesinin bitki metabolizması üzerine etkileri. *Derim* **23**(2): 36-45
- Öktüren F A, Sönmez S & Çıtak S (2007). Kadmiyumun çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Derim* **24**(1): 32-39
- Özbek H, Kaya Z, Gök M & Kaptan H (1993). Toprak Bilimi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No: 73, Ders Kitapları Yayın No:16, Adana
- Prasad K V S, Pardha Saradi P & Sharmila P (1999). Concerted action antioxidant enzyme and curtailed growth under zinc toxicity in *Brassica juncea*. *Environmental Experiment Botany* **42**: 1-10
- Reilly A & Reilly C (1973). Copper-induced chlorosis in *Becium homblei* (De Wild.) DuVign and Plancke. *Plant and Soil* **38**: 671-674
- SAS (1997). Statistical Analysis System, Base SAS Software Reference Card. Version 6.12. USA: Cary, N.C., SAS Institute Inc., pp. 211-253
- Sheoran I S, Singal H R & Singh R (1990). Effect of cadmium and nickel on photosynthesis and enzymes of the photosynthetic carbon reduction cycle in Pigeon Pea (*Cajanus cajan* L.). *Photosynthesis Research* **23**: 345-351

- Shi Q, Li C & Zhang F (2006). Nicotine synthesis in *Nicotiana tabacum* L. induced by mechanical wounding is regulated by Auxin. *Journal of Experimental Botany* **57**(11): 2899-2907
- Stoyanova Z & Doncheva S (2002). The Effect of zinc supply and succinate treatment on plant growth and mineral uptake in Pea plant. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **14**(2): 111-116
- Veselov D, Kudoyarova G, Symonyan M & Veselov St (2003). Effect of cadmium on ion uptake, transpiration and cytokinin content in wheat seedlings. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* Special Issue: 353-359
- Wallace A & Cha J W (1989). Interactions involving copper toxicity and phosphorous deficiency in bush bean plants grown in solutions of low and high pH. *Soil Science* **147**: 430-431
- Wang H, Shan X Q, Wen B, Zhang S & Wang Z J (2004). Responses of antioxidative enzymes to accumulation of copper in a copper hyperaccumulator of *Commoelina communis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **47**: 185-192
- Yusuf M, Fariduddin Q, Hayat S & Ahmad A (2011). Nickel: an overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology* **86**: 1-17
- Zengin K F & Munzuroğlu Ö (2005). Fasulye 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