



Kobalt toksisitesinin arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkisi üzerindeki fotokimyasal etkilerinin araştırılması

Investigation of the photochemical effects of cobalt toxicity in barley (*Hordeum vulgare* L.) plants

Ali DOĞRU^{1*} Sezen TOKSOY KÖSEOĞLU²

^{1,2}Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sakarya, Türkiye

¹ <https://orcid.org/0000-0003-0060-4691>, ² <https://orcid.org/0000-0002-1564-9465>

To cite this article:

Doğru, A., & Toksoy Köseoğlu, S. (2025). Investigation of the photochemical effects of cobalt toxicity in barley (*Hordeum vulgare* L.) plants Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 29(2): 356-368

DOI: 10.29050/harranziraat.1667275

*Address for Correspondence:

Ali Doğru
e-mail:
adogru@sakarya.edu.tr

Received Date:

28.03.2025

Accepted Date:

02.06.2025

ÖZ

Bu çalışmada, arpa (*Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97) bitkisinde erken fide döneminde farklı konsantrasyonlardaki kobalt [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0 μM (kontrol), 300 μM , 600 μM and 900 μM] uygulamalarının fotosentetik aktivite üzerindeki kısa süreli etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla Hoagland besin çözeltisi ile hazırlanan su kültüründe yetiştirilen arpa bitkilerinde klorofil a floresansı tekniği ile fotosentetik aktivite ölçümleri yapılmıştır. Sonuçlarımız 300 μM ve 600 μM kobalt uygulamalarının arpa bitkilerinde fotosentetik aktiviteyi olumsuz etkilemediğini göstermiştir. Ancak 900 μM kobalt uygulaması arpa bitkilerinde fotosentetik elektron taşıma reaksiyonlarını önemli ölçüde inhibe etmiştir. Örneğin, düşük F_v/F_o değerleri arpa bitkilerinde Hill reaksiyonunun kobalt toksisitesine karşı çok hassas olduğunu göstermiş olup, bu da FSII'nin donör bölgesindeki oksijen üreten kompleks ile reaksiyon merkezleri arasındaki elektron hareketinin bozulduğunu doğrulamaktadır. Ancak 900 μM kobalt uygulaması altındaki arpa fidelerinde S_m parametresi etkilenmemiştir. Bu durum muhtemelen varsayımsal ve alternatif bir elektron vericisi yardımıyla reaksiyon merkezlerine doğru düzenli bir elektron transferinin belli oranda devam ettiği olasılığını akla getirmektedir. Bu olgu, kobalt toksisitesi altındaki arpa bitkileri için fotosentetik bir tolerans mekanizması olabilir ve bu durum, N parametresinin değişmemiş olmasıyla da desteklenmektedir. Ayrıca arpa bitkilerinde 900 μM kobalt toksisitesi altında F_v/F_m oranının azalması, FSII birimlerinde meydana gelen fotoinhibisyonu açıkça göstermektedir. Arpa bitkisinde 900 μM kobalt uygulaması sonucu artan F_o ve sabit F_m değerleri, FSII ünitelerinin donör bölgesinin akseptör bölgesine göre kobalt toksisitesine daha duyarlı olduğunu doğrulamıştır. TRO/RC , ETo/RC , Dlo/RC ve ϕDo parametrelerindeki değişimler, kobalt toksisitesinin yakalanan ışık enerjisinin fotokimyasal olarak kullanımını engellediğini, ancak ısı olarak dağılmasına neden olduğunu, dolayısıyla arpa bitkisinde fotosentez verimliliğini azalttığını göstermiştir. Sonuç olarak arpa bitkisinde tarımsal verimde azalmaya yol açabilecek kobalt toksisitesinin kritik konsantrasyonunun 600-900 μM arasında olduğu sonucuna varılabilir.

Anahtar Kelimeler: arpa; klorofil a floresansı; kobalt toksisitesi; *Hordeum vulgare*; JIP testi

ABSTRACT

In this study, the short-term effects of different concentrations of cobalt [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0 μM (control), 300 μM , 600 μM and 900 μM] applications on photosynthetic activity in barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97) plants at the early seedling stage were investigated. For this purpose, photosynthetic activity measurements were done using the chlorophyll a



fluorescence technique in barley plants grown in water culture prepared with Hoagland nutrient solution. Our results showed that 300 μM and 600 μM cobalt applications did not adversely affect photosynthetic activity in barley plants. However, 900 μM cobalt treatment significantly inhibited photosynthetic electron transport reactions in barley plants. For instance, Hill reaction was found to be very vulnerable to cobalt toxicity, as demonstrated by the lower F_v/F_o value, therefore confirming the impairment of the electron movement between oxygen-evolving complex on the donor side of PSII and reaction centers in barley plants. However, the parameter S_m remained unchanged in barley seedlings under 900 μM cobalt treatment. This may indicate a putative and regular electron transfer toward reaction centers, probably due to an alternative electron donor. This phenomenon may be a photosynthetic tolerance mechanism for barley plants under cobalt toxicity, which is also supported by the constant level of the parameter N . In addition, the decreased F_v/F_m ratio in barley plants under 900 μM cobalt toxicity clearly indicated the occurrence of the large extent of photoinhibition. The elevated F_o and the constant F_m values in barley plants due to 900 μM cobalt treatment verified that the donor side of PSII units are more susceptible to cobalt toxicity than the acceptor side. Changes in the parameters TR_o/RC , ET_o/RC , DIO/RC , and ϕDo showed that cobalt toxicity inhibited the use of the trapped light energy photochemically but induced its dissipation as heat, therefore decreasing photosynthetic efficiency in barley plants. As a result, it may be concluded that the critical concentration of cobalt toxicity in barley plants is between 600-900 μM , which may result in decrease in agricultural yield.

Key Words: barley; chlorophyll a fluorescence; cobalt toxicity; *Hordeum vulgare*; JIP test

Giriş

Atom yoğunluğu 5 g/cm^3 'ten fazla ve atom numarası 20'den büyük olan metal ve metaloidler ağır metal olarak tanımlanmaktadır (Sönmez ve Kılıç, 2021). Kurşun (Pb), demir (Fe), arsenik (As), civa (Hg), nikel (Ni), çinko (Zn), kadmiyum (Cd), gümüş (Ag), mangan (Mn), bakır (Cu) ve kobalt (Co) gibi ağır metaller atmosferin yanı sıra yeryüzündeki karasal ve sucul ortamların da doğal bileşenidir (Rajkumar ve ark., 2023). Bu elementlerden bazıları bitkiler için esansiyel bazıları da faydalı birer mikroelement olarak kabul edilir.

1735 yılında George Brandt tarafından keşfedilen kobalt; periyodik tabloda 8B grubunda bulunan, atom numarası 27 ve atom ağırlığı 58.93 olan bir ağır geçiş metalidir (Mahey ve ark., 2020). Yer kabuğunun yaklaşık %0.0029'unu oluşturur. Bitkilerle kobalt elementi arasındaki etkileşimin niteliği konusunda literatürde çelişkili bilgiler mevcuttur. Örneğin Lange ve ark. (2017) ve Salam ve ark. (2024) kobalt elementini bitkiler için esansiyel olmayan faydalı bir element olarak tanımlamıştır. Diğer yandan, Li ve ark. (2024) kobaltın simbiyotik azot fiksasyonu yapan bazı mavi-yeşil alg türleri ve baklagillerin köklerindeki nodüllerde bulunan Rhizobia bakterileri için gerekli bir element olmasına rağmen, bitkiler için esansiyel olarak kabul edilmediğini rapor etmiştir. Ancak yapılan bazı araştırmalardan elde edilen

sonuçlar, kobaltın çeşitli gelişmiş bitki türlerinde esansiyel bir element olduğunu kanıtlar niteliktedir. Örneğin C4 ve CAM bitkilerinde CO_2 'nin bikarbonat iyonlarına dönüşümünü sağlayan rekasiyonu katalizleyen karbonik anhidraz enziminin bazı formlarının çinko yerine kobalt elementini kofaktör olarak kullanabildiği bildirilmiştir (Jensen ve ark., 2020). Kobaltın proteaz grubu enzimlerden olan karboksipeptidazların aktif bölgesine çinkoya göre daha etkili bir şekilde bağlandığı ve böylece enzim aktivitesinin etkilenmediği belirtilmiştir (Golubkina ve ark., 2024). Benzer şekilde metionin aminopeptidaz, prolidaz, peroksidaz ve üreaz enzimlerinin aktivitelerinin kobalt elementi etkisiyle arttığı ortaya çıkarılmıştır (Permyakov, 2021). Bu sonuçlar gelişmiş bitkilerde bulunan bazı proteinlerin kobalt içerdiğini ve bazı enzimlerin aktivitesinin de kobalt elementine bağımlı olduğunu göstermektedir.

Kobaltın yer kabuğundaki ortalama miktarının diğer ağır metallere göre çok daha düşük olmasına rağmen bazı antropojenik aktiviteler karasal ve sucul ortamlardaki kobalt konsantrasyonunun ciddi şekilde artmasına yol açmaktadır. Dünya genelinde üretilen toplam kobaltın yaklaşık %15'i sert metallerin işlenmesi ve imalatında kullanılmaktadır (Klasson ve ark., 2016). Tarımsal gübrelerin bilinçsiz kullanımı, atık su deşarjı, sıvı ve katı yakıt emisyonları, artan kobalt madenciliği, pigment ve boya endüstrisinde

kurutma işlemini hızlandırmak için kobaltın kullanımı, mobil piller, televizyonlar, sıvı kristal ekranlar ve bilgisayar monitörleri, çeşitli kozmetik ürünleri, çikolata, tereyağı ve balık gibi çeşitli besinler de doğadaki kobalt kontaminasyonunun temel sebepleri arasındadır (Saaltink ve ark., 2014; Bocca ve ark., 2014; Marin ve ark., 2017). Kobalt toksisitesinin bitkilerde aktif transport mekanizmasını inhibe ettiği, yaprak absisyonunu hızlandırdığı, kök ve gövde büyümesini inhibe ettiği, fotosentetik pigment ve azot metabolizmasını olumsuz yönde etkilediği, fotosentetik etkinliği azalttığı, kromozomlarda yapısal hasarlara neden olarak mitotik aktiviteyi azalttığı, mineral madde beslenmesini bozduğu ve tohum çimlenmesini inhibe ettiği de rapor edilmiştir (Begovic ve ark., 2016; Banerjee ve Bhattacharya, 2021). Ayrıca kobalt biyolojik sistemlerde yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarında rol oynayan bir element olduğu için kobalt toksisitesinin bitki dokularında çeşitli aktif oksijen türlerinin oluşum hızını ve buna bağlı olarak malondialdehit (MDA) ve prolin birikimini indüklediği, antioksidant enzimlerin aktivitelerinin değişmesine yol açtığı da ortaya çıkarılmıştır (Azarakhs ve ark., 2015). Buna rağmen bitkilerde kobalt toksisitesinin etkileri ve kobalt toleransı ile ilgili araştırmalar diğer elementlerle karşılaştırıldığında oldukça sınırlıdır (Salam ve ark., 2024, Nazir ve ark., 2022; Lange ve ark., 2017). Ülkemizdeki tarımsal arazilerde de kobalt miktarının doğal ve endüstriyel faktörler nedeniyle artış gösterdiği belirlenmiştir (Adiloğlu ve Sağlam, 2015; Karaca ve ark., 2014).

Fotosentez, bitki büyümesi ve verimliliği için önemli bir metabolik süreçtir. Ancak, fotosentetik reaksiyonların ağır metal toksisitesi de dahil olmak üzere abiyotik stres faktörleri için birincil hedef olduğu iyi bilinmektedir (Amari ve ark., 2017). Bu nedenle, ağır metal toksisitesinin fotosentetik süreçler üzerindeki etkisinin daha iyi anlaşılması tarımsal verimliliği artırmak için önemlidir. Günümüzde klorofil a floresansının fotosentetik aktiviteyi ölçmek için en modern ve güvenilir teknik olduğu bildirilmiştir (Doğru ve Çakırlar, 2020a ve 2020b; Doğru ve ark., 2021).

Klorofil a floresansı sinyallerinin zamana bağlı değişimlerini ifade eden OJIP eğrisi ve bu değişimler arasındaki etkileşimlerin anlaşılmasını sağlayan JIP testi, bitki biyolojisi ve tarım alanında, fotosentetik aygıtın birçok farklı çevre koşulundaki tepkilerini anlamak amacıyla kullanılmaktadır (Strasser ve ark., 2004; Yusuf ve ark., 2010). Bu test, fotosistem II (FSII)'ye giren ve çıkan enerji akışının, bazı denklemler yardımıyla doğrudan ölçülen ve hesaplanan parametreler vasıtasıyla incelenmesine olanak sağlamaktadır. JIP testinin uygulanması ile ilgili ayrıntılar Doğru (2021) tarafından belirtilmiştir.

Yapılan araştırmalar; kobalt uygulamalarının konsantrasyona bağlı olarak *Lemna minör*, (Sree ve ark., 2015; Begovic ve ark., 2016), *Arabidopsis* (Lange ve ark., 2017) ve mısır bitkilerinde (Salam ve ark., 2024) fotosentetik aktiviteyi inhibe ettiğini; bakla bitkilerinde (Wang ve ark., 2015) ise indüklediğini ortaya çıkarmıştır. Buna göre bu çalışmanın amacı, ülkemizde oldukça yüksek bir üretim potansiyeline sahip olan arpa (*Hordeum vulgare* L. cv. Kalaycı-97) bitkisinde farklı kobalt konsantrasyonlarının fotosentetik aktivite üzerindeki konsantrasyona bağlı etkilerini, düşük kobalt konsantrasyonlarının olumlu yüksek kobalt konsantrasyonlarının ise inhibe edici etkilere yol açabileceği hipotezi üzerinden araştırmaktır. Ayrıca kobalt uygulamalarının olumlu ve olumsuz etkilerinin fotosentetik elektron taşınım sisteminin hangi bileşenleri üzerinde ortaya çıktığı da araştırılmıştır.

Materyal ve Metod

Araştırmada, bitki materyali olarak arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkisine ait Kalaycı-97 adlı tescilli ve sertifikalı genotip kullanılmıştır. Kalaycı-97 iki sıralı, başak ve dane rengi beyaz, orta erkenci, düşük sıcaklık ve yatmaya dayanıklı bir genotiptir. Tohumlar T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilmiştir.

Benzer morfolojiye ve yaklaşık aynı büyüklüğe sahip tohumlar seçilerek kabuk sterilizasyonu sağlamak amacıyla %5'lik sodyum hipoklorit

(NaOCl) çözeltisinde 15 dakika bekletilmiş ve daha sonra 3 kez distile su ile yıkanarak plastik çimlendirme kaplarında bidistile su (15 ml) ile ıslatılmış filtre kağıtları arasına yerleştirilmiştir. Petri kapları 24 °C sıcaklık ve %40-50 oransal neme sahip olan iklim dolabında karanlık ortamda çimlenmeye bırakılmıştır. Üç gün sonra uniform fideler perlit ve ½ oranında seyreltilmiş Hoagland besin çözeltisi içeren 250 ml hacme sahip kaplara transfer edilerek su kültürüne alınmış; 18/25 °C sıcaklık (gece/gündüz), 16/8 saat fotoperiyot (gündüz/gece), %50±5 oransal nem ve 200 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık şiddetine sahip iklim dolabına yerleştirilmiştir. Yedi günlük olan bitkiler dört gruba ayrılmıştır. Birinci gruptaki kontrol bitkileri çalışmanın sonuna kadar ½ oranında seyreltilmiş Hoagland besin çözeltisi ile sulanmıştır. İkinci, üçüncü ve dördüncü gruptaki bitkilere besin çözeltisine karıştırılarak kök yoluyla sırasıyla 300, 600 ve 900 μM kobalt nitrat [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$] çözeltisi uygulanmıştır. Bitki büyütme kaplarındaki çözeltiler, pH ve elektriksel iletkenlik değişimlerini ve alg üremesini önlemek ve yeterli oksijenasyon sağlamak amacıyla iki gün arayla değiştirilmiş ve uygulamaların başlatılmasından beş gün sonra, kobalt elementinin fotosentetik aktivite üzerindeki kısa süreli etkilerini belirlemek amacıyla deneme sonlandırılarak klorofil *a* floresansı ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Klorofil a floresansı ölçümleri

Klorofil *a* floresansı ölçümleri bitkilerin yapraklarında “bitki verimlilik analizatörü” (HandyPEA florometresi, Hansatech Instruments Ltd., Pentney, King’s Lynn, Norfolk, England)

kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ölçümlerde kullanılacak yapraklar yaprak klipsleri kullanılarak 45-60 dakika boyunca oda sıcaklığında karanlık adaptasyonuna maruz bırakılmıştır. Daha sonra yaprak yüzeylerine 3,500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ şiddetinde ışık uygulanmış ve elde edilen parametrelerin değerlendirilmesi PeaPlus ve Biolyzer adlı programlarla uygulanan JIP testi yardımıyla yapılmıştır (Strasser ve ark., 2004; Bussotti ve ark., 2007; Yusuf ve ark., 2010). Klorofil *a* floresansı ve JIP testi ile ilgili terminoloji çizelge 1’ de verilmiştir.

İstatistiksel analizler

Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre birbirinden bağımsız üç tekrar olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin aritmetik ortalama ve standart hataları hesaplanmış, daha sonra verilere SPSS 20.0 paket programı kullanılarak, istatistiki varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulamaların kontrole göre neden olduğu farkın önem kontrolü Duncan testi ile %5 düzeyinde hesaplanmıştır.

Çizelge 1. Bazı klorofil a floresansı ve JIP testi parametrelerinin tanımları (Kumar ve ark., 2020)

Table 1. Definitions of some chlorophyll a fluorescence and JIP test parameters (Kumar et al., 2020)

Parametreler Parameters	Tanımı Definitions
D_{I_0}/RC	FSII reaksiyon merkezleri başına dissipasyon enerjisi akışı
E_{T_0}/RC	FSII reaksiyon mekezleri başına Q_A 'dan sonraki bölgede maksimum elektron taşınımı
TR_0/RC	FSII reaksiyon merkezleri başına yakalanan ve Q_A 'yı indirgeyen maksimum enerji akışı
ABS/RC	FSII reaksiyon merkezleri başına anten klorofilleri için ışık absorpsiyon akışı
RC/ABS	FSII anten klorofilleri başına aktif reaksiyon merkezlerinin yoğunluğu
Alan	Klorofil floresansı eğrisinin üst kısmında bulunan, F_0 ile F_m arasında kalan ve plastokinon (PQ) havuzunun boyutunu yansıtan alan
$\Delta V/\Delta t_0$	Kapalı (indirgenmiş) reaksiyon merkezlerinin birikim hızı
F_m	Tüm FSII reaksiyon merkezlerinin kapalı olduğu durumda maksimum klorofil floresansı yoğunluğu
F_0	Tüm FSII reaksiyon merkezlerinin açık (oksidlenmiş) olduğu durumda minimum klorofil floresansı yoğunluğu
F_v/F_m	FSII'nin maksimum kuantum etkinliği
F_v/F_0	FSII'nin donör bölgesinde bulunan suyu parçalayan sistemin etkinliği (Hill reaksiyonu etkinliği)
N	Floresans yoğunluğunun maksimum değere ulaşmasına kadar geçen süre içerisinde Q_A 'nın indirgenme sayısı
PI_{abs}	Performans indeksi
SFI_{abs}	FSII'nin yapısal ve fonksiyonel durumunun indikatörü
tF_m	F_m 'ye ulaşıncaya kadar geçen süre (ms)
S_M	Tüm reaksiyon merkezlerinin kapanması için gerekli enerji miktarı
Ψ_0	Yakalanan bir ekzitonun bir elektronu Q_A 'dan elektron taşınım sistemine hareket ettirme etkinliği
ϕE_0	Q_A 'dan PQ'ya doğru gerçekleşen elektron taşınımının kuantum verimi
ϕP_0	Primer fotokimyasal olayların maksimum kuantum verimi
ϕD_0	Termal dissipasyonun kuantum verimi
$\phi_0/(1-\phi_0)$	Primer fotokimyasal olaylar için konformasyon terimi
$\Psi_0/(1-\Psi_0)$	Termal (ışığa bağımlı olmayan) reaksiyonlar için konformasyon terimi

Araştırma Bulguları ve Tartışma

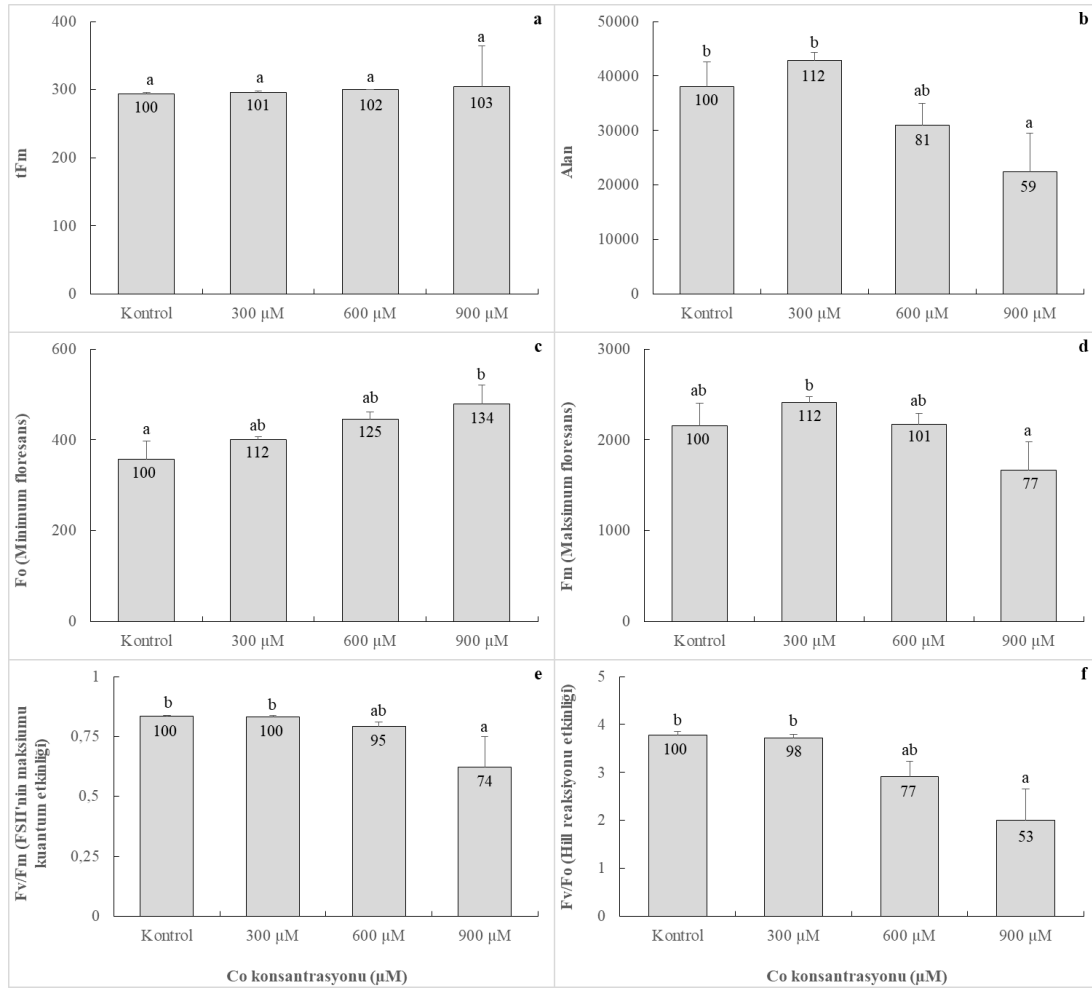
Bitkilerde fotosentetik aktivitenin değerlendirilmesi, çevresel stres faktörlerinin fiziksel varlığının ve yoğunluğunun uygulanabilir yöntemlerle izlenmesi için önemlidir. FSII' de gerçekleşen fotokimyasal reaksiyonlar hakkında önemli bilgiler sağlayan klorofil a floresansı tekniği, bitkilerin FSII' de absorblanan ışık enerjisini elektron taşınım reaksiyonları için ne kadar iyi kullandığının bir ölçüsüdür. Klorofil a floresansı ağır metal toksisitesi de dahil olmak üzere çevresel stres faktörlerinin fotosentetik ağıta verdiği hasarı ve stres altında FSII' nin durumunu ve işlevini analiz etmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Stirbet ve ark., 2018).

Çalışmamızda 300 μM ve 600 μM kobalt $[Co(NO_3)_2 \cdot H_2O]$ uygulamalarının arpa bitkilerinde klorofil a floresansı ve JIP testi parametreleri üzerinde ilgili kontrollerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişime yol

açmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Ancak 900 μM kobalt uygulaması birçok klorofil a floresansı ve JIP testi parametresinde, arpa bitkilerindeki fotosentetik etkinliğin olumsuz yönde etkilendiğini gösterecek şekilde değişimlere yol açmıştır ($P<0.05$). FSII' nin maksimum kuantum etkinliğini gösteren F_v/F_m oranının uygun çevresel koşullar altında, bitki türü ve uygulanan stres tipinden bağımsız olmak üzere 0.83 civarında olduğu ve bu parametrenin bir stres indikatörü olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Doğru, 2021). Çalışmamızda 900 μM kobalt uygulaması sonucunda F_v/F_m oranının kontrole göre önemli derecede azalması, arpa bitkilerinde kobalt toksisitesi etkisiyle meydana gelen fotoinhibisyonu göstermektedir (Şekil 1e) (Meravi ve Prajapati, 2018). 900 μM kobalt uygulamasının ϕP_0 ve $\phi_0/(1-\phi_0)$ parametrelerinde kontrollerle karşılaştırıldığında neden olduğu azalma da FSII birimlerinde gerçekleşen elektron hareketlerinin ve primer fotokimyasal olayların belli oranda inhibe edildiğini kanıtlamaktadır (Şekil 3b, Şekil 6b).

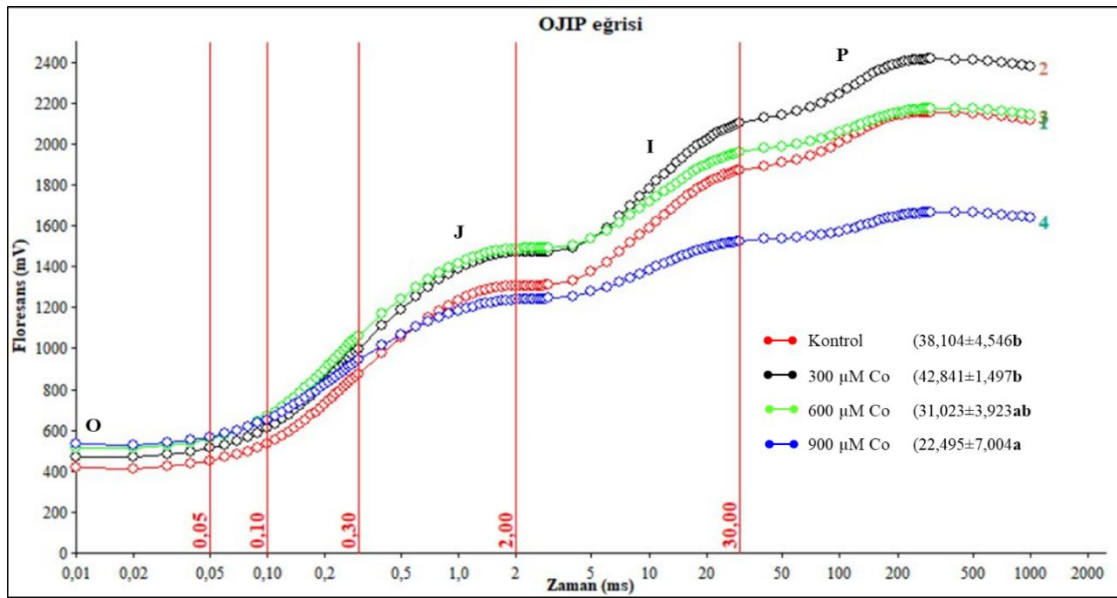
Moustaka ve ark. (2024) FSII' nin ve FSII yapısında bulunan oksijen evölüsyon kompleksinin (OEK) stres faktörlerine oldukça duyarlı olduğunu ve bitkilerde stres cevaplarının araştırılması için kullanılabileceğini bildirmiştir. Yapılan araştırmalar ağır metal toksisitesinin hem FSII aktivitesini ve elektron taşıma reaksiyonlarını hem de OEK' nın aktivitesini etkilediğini ve Fv/Fo oranını azalttığını göstermiştir (Azmat ve ark., 2022). Nitekim, çalışmada kullanılan arpa bitkilerinde Hill reaksiyonunun aktivitesini gösteren Fv/Fo oranı 900 µM kobalt uygulaması sonucunda kontrole göre belirgin derecede

azalmıştır (Şekil 1f). Bu sonuç kobalt toksisitesi etkisiyle arpa bitkilerinde OEK tarafından parçalanmış su molekülü ve açığa çıkarılan elektron miktarının azaldığını göstermektedir. Begovic ve ark. (2016) kobalt toksisitesi altındaki *Lemna minör* bitkilerinde OEK' nın parçalanarak aktivitesini kaybettiğini ortaya çıkarmışlardır. Çeşitli bitki türleri ile yapılan çalışmalar, birçok metal iyonunun OEK' nın bir bileşeni olan protein kompleksinin yapısındaki mangan iyonu ile yer değiştirebileceğini ve böylece OEK aktivitesinin inhibe olduğunu göstermiştir (Küpper ve Andresen, 2016).



Şekil 1. Farklı kobalt [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 300 µM, 600 µM ve 900 µM] konsantrasyonlarının arpa bitkisinde (a) tFm, (b) alan (OJIP eğrisinde Fo ve Fm arasında kalan bölge), (c) Fo, (d) Fm, (e) Fv/Fm ve (f) Fv/Fo üzerine etkisi (farklı harfler uygulamaların Duncan testine göre $P < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu, barların içindeki rakamlar kontrole göre % değişim değerlerini göstermektedir, kontrol=100.)

Figure 1. Effect of different cobalt concentrations on (a) tFm, (b) area (the area between Fo and Fm in the OJIP curve), (c) Fo, (d) Fm, (e) Fv/Fm, and (f) Fv/Fo in barley plants [Columns with different letters mean significant differences between the treatments according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$) and numbers inside the columns indicate % change relative to control, control=100.]

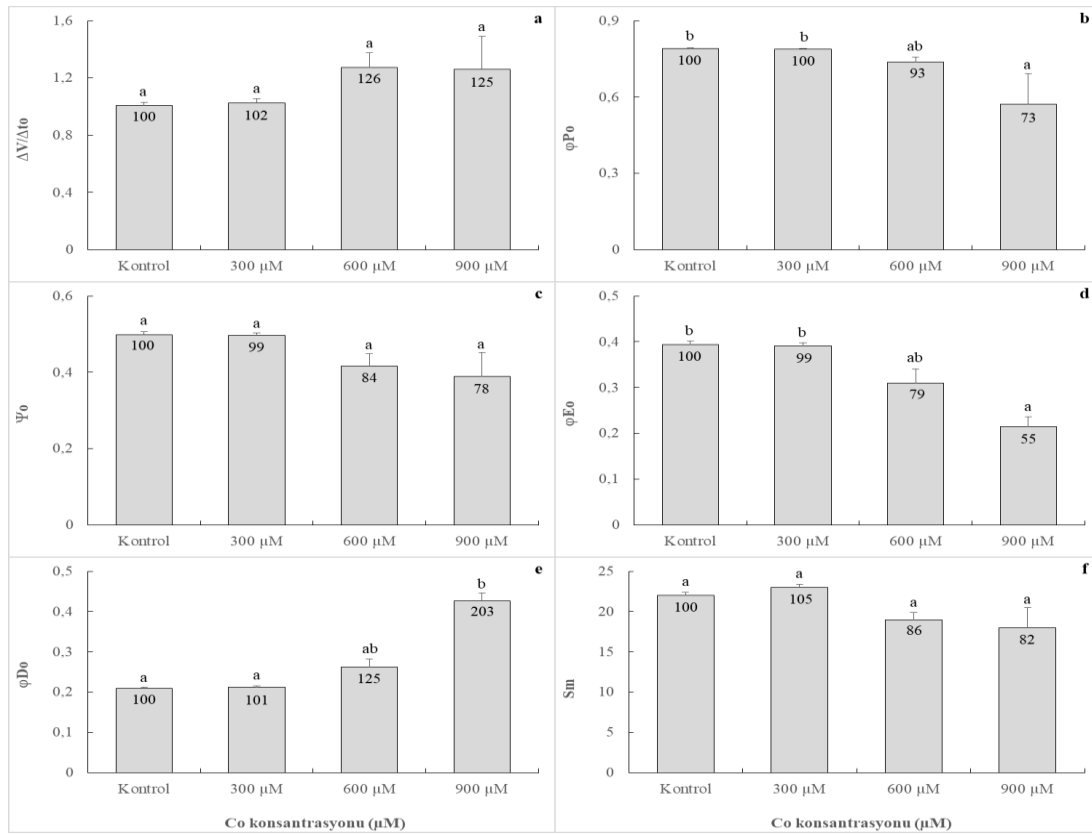


Şekil 2. Farklı kobalt [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 300 μM , 600 μM ve 900 μM] konsantrasyonlarının arpa bitkisinde klorofil *a* floresans indüksiyon (OJIP) eğrisi üzerine etkisi [Parantez içindeki rakamlar alan parametresinin (eğrideki minimum ve maksimum floresans arasındaki alan) ortalama $\pm$ standart hata değerlerini, farklı harfler Duncan testine göre uygulamalar arasındaki önemli farklılıkları ($P < 0.05$) ve sağ taraftaki koyu renkli rakamlar kontrole göre % değişimi göstermektedir, kontrol=100. "O", "J", "I" ve "P" noktaları sırasıyla 50 μs , 1 ms, 10 ms ve 100 ms zamanlarındaki floresans değerlerini ifade etmektedir.]

Figure 2. Effect of different cobalt concentrations on the chlorophyll *a* fluorescence induction curve (OJIP) in barley plants [Numbers in the parenthesis indicate mean values of the parameter area (area between F_o and F_m in the curve) $\pm$ standart error and different letters mean significant differences between the applications according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$), and bold numbers at the right side indicate % change relative to control, control=100. Points "O," "J," "I," and "P" represent the fluorescence values at 50 μs , 1 ms, 10 ms, and 100 ms, respectively.]

Tüm reaksiyon merkezlerinin indirgenmesi için gerekli enerji miktarını ifade eden S_m parametresi çalışmamızda kobalt uygulamaları sonucunda kontrole göre önemli bir değişim sergilememiştir (Şekil 3f). Bu sonuç F_v/F_o parametresinde gözlenen azalma ile birlikte değerlendirildiğinde, kobalt toksisitesinin arpa bitkilerinde sistemde taşınacak elektron miktarını azaltmasına rağmen reaksiyon merkezlerine uygun şekilde elektron hareketinin devam ettiğini göstermektedir. Toth (2023) stres koşulları altındaki bitkilerde OEK' da fonksiyon kaybının gözlemlendiği bazı durumlarda reaksiyon merkezlerine doğru elektron

hareketinin devam etmesini sağlayan askorbik asit, hidroksil amin, tetrametil fenilen diamin ve Mn iyonları gibi alternatif elektron donörlerinin bulunduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu durumda kobalt toksisitesine maruz kalan arpa bitkilerinde fotokimyasal bir tolerans mekanizması olarak FSII reaksiyon merkezlerinin elektron gereksiniminin su dışındaki bazı elektron donörleri tarafından karşılanmış olması söz konusu olabilir. Nitekim çalışmamızda kobalt toksisitesi uygulanan arpa bitkilerinde N parametresinin kontrole göre değişim göstermemesi de bu fikri desteklemektedir (Şekil 4a).

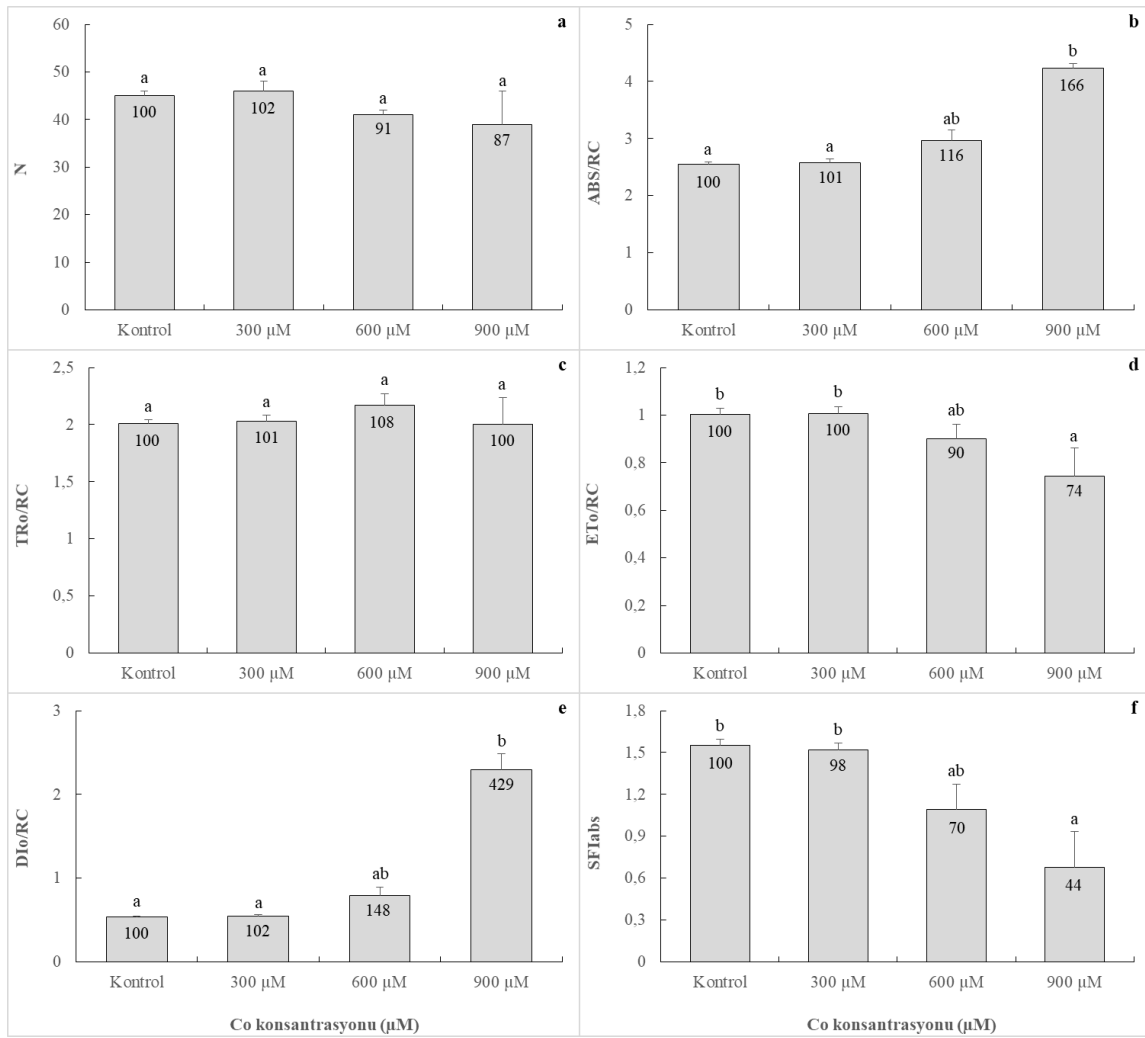


Şekil 3. Farklı kobalt [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 300 μM , 600 μM ve 900 μM] konsantrasyonlarının arpa bitkisinde (a) $\Delta V/\Delta t_0$, (b) ϕP_0 , (c) Ψ_0 , (d) ϕE_0 , (e) ϕD_0 ve (f) S_m üzerine etkisi (farklı harfler uygulamaların Duncan testine göre $P < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu, barların içindeki rakamlar kontrole göre % değişim değerlerini göstermektedir, kontrol=100.)

Figure 3. Effect of different cobalt concentrations on (a) $\Delta V/\Delta t_0$, (b) ϕP_0 , (c) Ψ_0 , (d) ϕE_0 , (e) ϕD_0 , and (f) S_m in barley plants [Columns with different letters mean significant differences between the treatments according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$) and numbers inside the columns indicate % change relative to control, control=100.]

F_v/F_m [$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$] oranındaki değişimler F_0 ve F_m parametrelerindeki değişimlerle orantılıdır. Çeşitli stres faktörlerinin F_0 parametresindeki artıştan sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Doğru, 2021). Örneğin Meravi ve

Prajapati (2018), inaktif durumdaki FSII reaksiyon merkezlerinin oranındaki artışın F_0 parametresinin artmasına yol açabileceğini rapor etmiştir.



Şekil 4. Farklı kobalt [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 300 μM , 600 μM ve 900 μM] konsantrasyonlarının arpa bitkisinde (a) N, (b) ABS/RC, (c) TRO/RC, (d) ETO/RC, (e) DIO/RC ve (f) SFlabs üzerine etkisi (farklı harfler uygulamaların Duncan testine göre $P < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu, barların içindeki rakamlar kontrole göre % değişim değerlerini göstermektedir, kontrol=100.)

Figure 4. Effect of different cobalt concentrations on (a) N, (b) ABS/RC, (c) TRO/RC, (d) ETO/RC, (e) DIO/RC, and (f) SFlabs in barley plants [Columns with different letters mean significant differences between the treatments according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$) and numbers inside the columns indicate % change relative to control, control=100.]

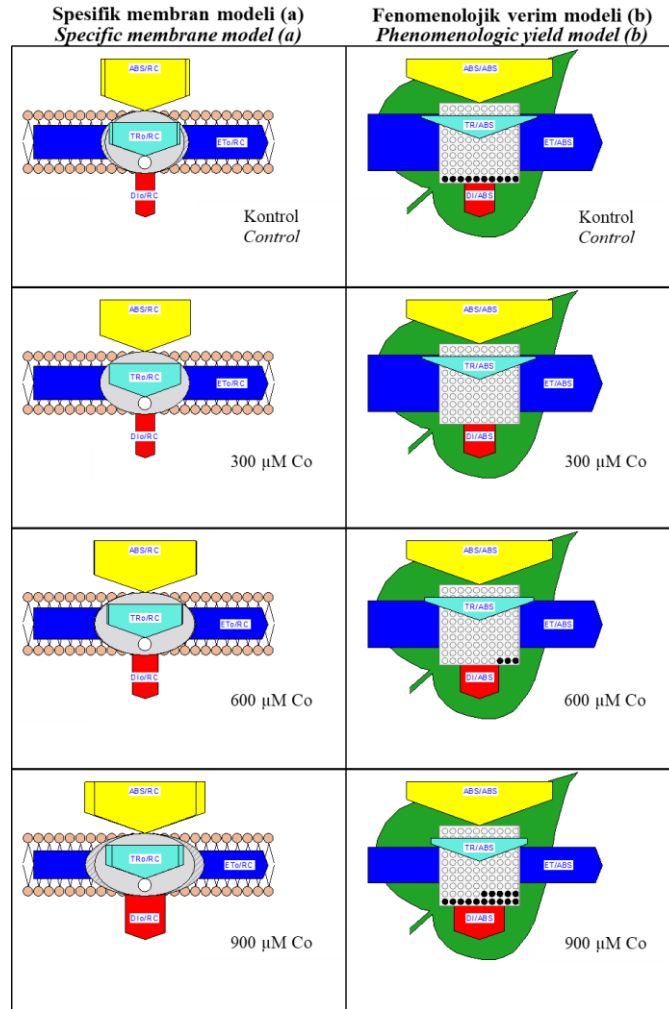
Doğru (2021) ise, kinon A (Q_A)' dan kinon B (Q_B)' ye doğru gerçekleşen elektron taşınım hızının yavaşlaması ve/veya FSII'nin ışık enerjisini yakalama etkinliğinin azalması sonucu F_o değerinin arttığını göstermiştir. Çalışmamızda 900 μM kobalt uygulaması sonucunda arpa yapraklarındaki F_o değerinin kontrole göre önemli derecede arttığı belirlenmiştir (Şekil 1c). Buna göre 900 μM kobalt uygulamasının arpa bitkisinde FSII reaksiyon merkezlerine zarar verdiği ve elektron taşınımının kuantum verimini azalttığı söylenebilir. Çalışmamızda 900 μM kobalt uygulaması sonucu arpa bitkisinin yapraklarında ϕE_o ve RC/ABS parametrelerinde gözlenen azalma ve ABS/RC parametresinde gözlenen artış da bu fikri desteklemektedir (Şekil 3d, Şekil 6a,

Şekil 4b ve Şekil 5b).

Bunun dışında FSII' nin yapısında bulunan kapalı (indirgenmiş) reaksiyon merkezlerinin birikim hızını ifade eden $\Delta V/\Delta t_o$ parametresi çalışmada uygulanan kobalt konsantrasyonlarından kontrole karşılaştırıldığında önemli derecede etkilenmemiştir (Şekil 3a). Bu durumda 900 μM kobalt uygulanan arpa bitkilerinde FSII reaksiyon merkezlerinin oksidasyon/redüksiyon döngüsünün belirli oranda devam ettiği sonucuna varılabilir. Ancak genel olarak değerlendirildiğinde, çalışmada kullanılan arpa bitkilerinde FSII' nin donör bölgesindeki elektron taşınım reaksiyonlarının 900 μM ' lık kobalt toksisitesinden olumsuz yönde etkilendiği

söylenbilir. Çalışmamızda kullanılan kobalt konsantrasyonları arpa bitkilerinde Fm parametresini kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak etkilememiştir (Şekil 1d). Stres koşulları altındaki bitkilerde Fm parametresinde gözlenen azalmanın FSII' nin akseptör bölgesindeki elektron

taşınımının belli derecede inhibe edilmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Doğru ve Çakırlar, 2020b). Buna göre çalışmada kullanılan arpa bitkilerinin FSII birimlerinin akseptör bölgelerinin yapısal ve fonksiyonel olarak kobalt toksisitesine belli oranda toleranslı olduğu sonucu çıkarılabilir.



Şekil 5. Farklı kobalt [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 300 μM , 600 μM ve 900 μM] konsantrasyonlarının arpa bitkisinde bazı JIP testi parametreleri üzerine etkisinin (a) spesifik membran modeli ve (b) fenomenolojik verim modeli ile gösterimi [(b)' de boş daireler hasar görmemiş, koyu renkli daireler ise hasar görmüş reaksiyon merkezlerini göstermektedir.]

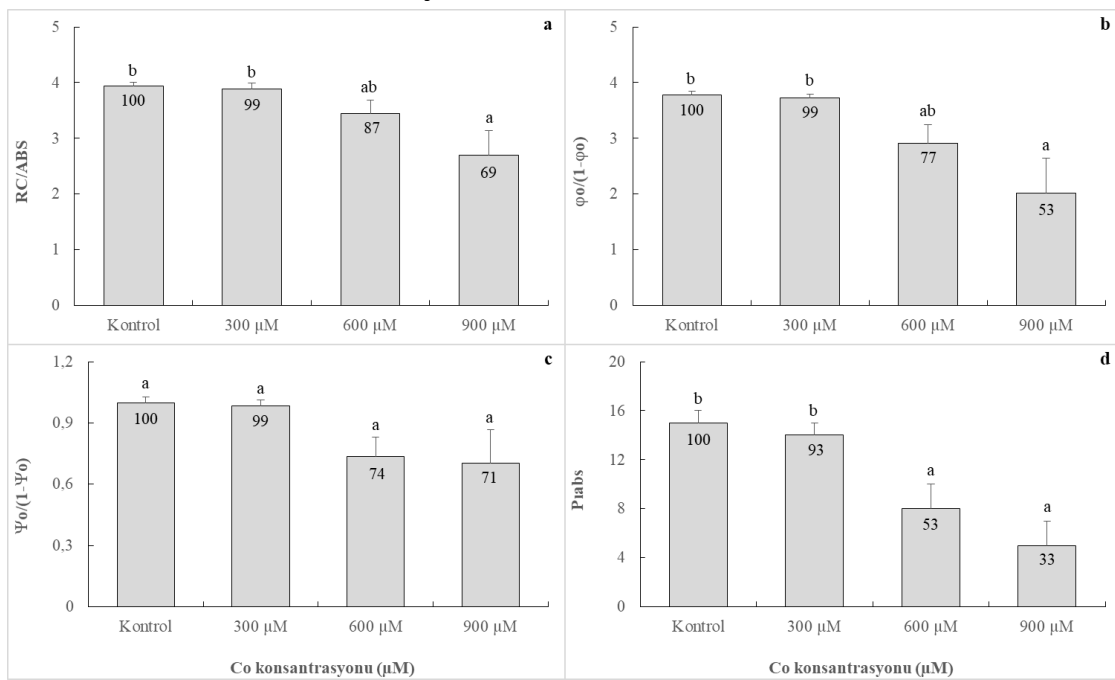
Figure 5. Presentation of some JIP test parameters by (a) specific membrane model and (b) phenomenological yield model in barley plants under cobalt toxicity [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 300 μM , 600 μM ve 900 μM]. [In (b), empty circles indicate the intact reaction centers, while dark circles indicate the damaged reaction centers.]

Çalışmamızda 900 μM kobalt uygulaması arpa bitkilerinde alan parametresinin kontrole göre önemli derecede azalmasına yol açmış, tFm parametresini ise etkilememiştir (Şekil 1a ve b, Şekil 2). Buna göre 900 μM kobalt uygulanan arpa bitkilerinde OEK' dan PQ havuzuna doğru gerçekleşen elektron hareketinin yavaşladığı söylenebilir. Oukarroum ve ark. (2015) de *Lemna minör* bitkisinde yaptıkları çalışmada benzer

sonuçlar elde etmişlerdir. Çalışmamızda ilgili kontrol değerleri ile karşılaştırıldığında kobalt uygulamaları arpa bitkisinde TRo/RC parametresini etkilememiş (Şekil 4c ve Şekil 5a), 900 μM kobalt uygulaması ise ETo/RC parametresini azaltırken (Şekil 4d ve Şekil 5a), ϕDo ve Dlo/RC parametrelerini artırmıştır (Şekil 3e, Şekil 4e ve Şekil 5a). Bu sonuçlar kobalt uygulamalarının arpa bitkisinde yakalanan ışık

enerjisi miktarını değiştirmedigini, elektron taşınım reaksiyonlarında kullanılan ışık enerjisi miktarını azaltıp ısı olarak ortama verilen ışık enerjisi miktarını artırdığını göstermektedir. Buna göre 900 μM kobalt uygulamasının arpa bitkisinde ışık enerjisinin fotokimyasal mekanizmalarda kullanım oranını azalttığı ve fotosentetik verimi azalttığı söylenebilir. Diğer yandan kobalt uygulamalarının arpa bitkisinde $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ parametresi üzerinde istatistiksel bir değişime neden olmaması, ışığa bağımlı olmayan CO_2 fiksasyon reaksiyonlarının kobalt toksisitesinden etkilenmediğini göstermiştir (Şekil 6c). Plabs; RC/ABS, ϕPo ve Ψ_o parametreleri yardımıyla hesaplanan ve fotosentetik elektron taşınım

reaksiyonlarının genel fizyolojik durumunu ifade eden bir parametredir. Çalışmada sadece 600 μM ve 900 μM kobalt uygulamaları, Plabs parametresinin kontrole göre belirgin derecede azalmasına neden olmuştur (Şekil 6d). Bu sonuç, kobalt toksisitesi altında Plabs parametresinde gözlenen azalmanın öncelikli olarak primer fotokimyasal olaylardaki inhibisyon kaynaklandığını göstermektedir. SFlabs parametresinde meydana gelen değişimlerden 900 μM kobalt uygulamasının arpa bitkilerindeki FSII birimlerinde yapısal ve fonksiyonel deformasyonlara yol açtığı sonucuna varılabilir (Şekil 4f).



Şekil 6. Farklı kobalt [$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 300 μM , 600 μM ve 900 μM] konsantrasyonlarının arpa bitkisinde (a) RC/ABS, (b) $\phi\text{Po}/(1-\phi\text{Po})$, (c) $\Psi_o/(1-\Psi_o)$ ve (d) Plabs üzerine etkisi (farklı harfler uygulamaların Duncan testine göre $P < 0.05$ seviyesinde farklı olduğunu, barların içindeki rakamlar kontrole göre % değişim değerlerini göstermektedir, kontrol=100)

Figure 6. Effect of different cobalt concentrations on (a) RC/ABS, (b) $\phi\text{Po}/(1-\phi\text{Po})$, (c) $\Psi_o/(1-\Psi_o)$, and (d) Plabs in barley plants [Columns with different letters mean significant differences between the treatments according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$) and numbers inside the columns indicate % change relative to control, control=100.]

JIP testi, OJIP klorofil a floresans geçişlerinin zamana bağlı ve nicel olarak analiz edilmesini ve fotosentetik elektron taşınım reaksiyonlarının belirli zaman noktalarındaki değişikliklerin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır. Çalışmamızda kontrol, 300 ve 600 μM kobalt uygulanan arpa bitkileri klorofil a floresan geçişleri (OJIP eğrisi) açısından tipik bir polifazik artış göstermiştir (Şekil 2). OJIP eğrisinde "O-J" fazı, fotosentetik elektron

taşınım reaksiyonlarında primer elektron akseptörü olan Q_A 'da meydana gelen elektron akışını; "J-I" fazı Hill reaksiyonunun etkinliğini; "I-P" fazı ise ferredoksinin indirgenme durumu ile FSI ve FSII miktarının birbirine oranını göstermektedir (Kumar ve ark., 2020; Lotfi ve ark., 2020). Kontrol bitkileri ile 300 μM kobalt uygulanan arpa bitkilerinde OJIP eğrisi ve farklı fazların morfolojileri çok büyük benzerlik

göstermekte ancak sadece sayısal olarak ve istatistiksel anlamda önemli olmayan bir farklılık sergilemektedir (Şekil 2). Ancak 600 μ M kobalt uygulanan arpa bitkilerinde sadece “I-P” fazı kontrolle karşılaştırıldığında morfolojik olarak değişmiş, “I” ve “P” pikleri zayıflamıştır. Bu sonuç, istatistiksel bir fark gözlenmesi de, 600 μ M kobalt uygulaması sonucunda arpa bitkilerindeki Hill reaksiyonu etkinliğinin azalmaya başladığını göstermektedir. 900 μ M kobalt uygulaması ise arpa bitkilerinde OJIP eğrisinin “J-I” ve “I-P” fazlarının morfolojik olarak kontrol bitkilerine göre değişmesine, özellikle “I” ve “P” piklerinin zayıflamasına neden olmuştur (Şekil 2). Bu sonuçlar 900 μ M kobalt uygulamasının arpa bitkilerinde Hill reaksiyonu etkinliğinin azalmasına ve buna bağlı olarak elektron taşınımının FSII’ den sonraki basamaklarını ve FSI yapısındaki ferredoksinin indirgenme oranını olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir.

Sonuçlar

Sonuç olarak, çalışmamızda kullandığımız 300 ve 600 μ M kobalt konsantrasyonlarının arpa bitkilerinde genel olarak fotosentetik aktivite üzerinde olumsuz bir etki yapmadığı, gözlenmiştir. Ancak 900 μ M kobalt uygulaması arpa bitkilerinde primer fotokimyasal olayları, Hill reaksiyonunun etkinliğini ve Q_A ’ya doğru ve Q_A ’dan sonraki elektron taşınım reaksiyonlarını belli oranda inhibe etmiştir. Ayrıca reaksiyon merkezlerinde yapısal hasar yol açarak ve absorblanan ışık enerjisinin elektron taşınım reaksiyonları yerine fotokimyasal olmayan mekanizmalarla tüketilmesine neden olarak fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir. Ancak kobalt toksisitesi altında arpa bitkilerinde fotokimyasal olmayan mekanizmaların aktifleşmesi savunma mekanizmasının bir bileşeni de olabilir. Bu noktanın aydınlatılması için farklı fizyolojik ve biyokimyasal analizlerin yapılması gerekmektedir. Son olarak, çalışmada kullanılan arpa bitkileri için kobalt toksisitesi eşik değerinin 600-900 μ M arasında bir konsantrasyona karşılık geldiği söylenebilir. Bu değer Poacea familyası

üyeleri olan diğer tahıl türleri için de yaklaşık olarak bir referans değeri olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bu önermenin yapılacak çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal analiz ve ölçümlerle test edilmesi gereklidir.

Çıkar çatışması

Makale yazarları arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar katkısı

Makale yazarları çalışmanın tüm aşamalarında eşit oranda katkı sağlamıştır.

Kaynaklar

- Adiloğlu, S., & Sağlam, M. T. (2015). Karayolu kenarlarındaki tarım arazilerindeki topraklarda ekstrakte edilebilir kobalt (Co) içerikleri. *AKÜ FEMÜBİD.*, 15, 24-29.
- Amari, T., Ghnaya, T., & Abdely, C. (2017). Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction. *South Afr. J. Bot.*, 111, 99-110.
- Azarakhsh, M. R., Asrar, Z., & Mansouri, H. (2015). Effects of seed and vegetative stage cysteine treatments on oxidative stress response molecules and enzymes in *Ocimum basilicum* L. under cobalt stress. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 15, 651-662.
- Azmat, R., Saleem, A., Ahmed, W., Qayyum, A., El-Serehy, H. A., & Ali, S. (2022). The investigation of the impact of toxicity on oxygen-evolving complex in *Spinacia oleraceae*. *Antioxidants*, 11(9), 1802.
- Banerjee, P., & Bhattacharya, P. (2021). Investigating cobalt in soil-plant-animal-human system: dynamics, impact and management. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 21, 1-16.
- Begovic, L., Mlinaric, S., Dunic, J. A., Katanic, Z., Loncaric, Z., Lepedus, H., & Cesar, V. (2016). Responses of *Lemna minor* L. to short term cobalt exposure the effect on photosynthetic electron transport chain and induction of oxidative damage. *Aqua. Toxicol.*, 175, 117-126.
- Bocca, B., Pino, A., Alimonti, A., & Forte, G. (2014). Toxic metals contained in cosmetics: a status report. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 68, 447-467.
- Bussotti, F., Strasser, R. J., & Schaub, M. (2007). Photosynthetic behaviour of woody species under high ozone exposure probed with the JIP test: a review. *Environ. Pollut.*, 147, 430-437.
- Doğru, A. (2021). Effects of heat stress on photosystem II activity and antioxidant enzymes in two maize cultivars. *Planta*, 253, 85-99.
- Doğru, A., & Çakırlar, H. (2020a). Effects of leaf age on chlorophyll fluorescence and antioxidant enzymes activity in winter rapeseed leaves under cold acclimation conditions. *Braz. J. Bot.*, 43, 11-20.

- Doğru, A., & Çakırlar, H. (2020b). Is leaf age a predictor for cold tolerance in winter oilseed rape plants? *Func. Plant Biol.*, 47(3), 250-262.
- Doğru, A., Altundağ, H. & Dündar, M. Ş. (2021). The effect of nickel phytotoxicity on photosystem II activity and antioxidant enzymes in barley. *Acta Biol. Szeged.*, 65(1), 1-9.
- Golubkina, N., Sheshnitsan, S., Koshevarov, A., Pirogov, N., Plotnikova, U., Tallarita, A. V., Murariu, O. C., Merlino, L., & Caruso, G. (2024). Peculiarities of plant mineral composition in semi-desert conditions. *Int. J. Plant Biol.*, 15(4), 1229-1249.
- Jensen, E. L., Maberly, S. C., & Gontero, B. (2020). Insights on the functions and ecophysiological relevance of the diverse carbonic anhydrases in microalgae. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 2922.
- Karaca, Ü. Ç., Uyanöz, R. & Karaarslan, E. (2014). Konya Çumra yöresi topraklarında doğal Rhizobium popülasyonu. *Toprak Bil. Bitki Besl. Derg.*, 2(1), 19-26.
- Klasson, M., Bryngelsson, I. L., Pettersson, C., Husby, B., Arvidsson, H., & Westberg, H. (2016). Occupational exposure to cobalt and tungsten in the Swedish hard metal industry: air concentrations of particle mass, number, and surface area. *Ann. Occup. Hyg.*, 60, 684-699.
- Kumar, D., Singh, H., Raj, S., & Soni, V. (2020). Chlorophyll *a* fluorescence kinetics of mung bean (*Vigna radiata* L.) grown under artificial continuous light, *Biochem. Biophys. Rep.*, 24, 100813.
- Küpper, H., & Andresen, E. (2016). Mechanisms of metal toxicity in plants. *Metallomics*, 8, 269-285.
- Lange, B., van der Ent, A., John, A., Baker, M., Echevarria, G., Mahy, G., Malaisse, F., Meerts, P., Pourret, O., Verbruggen, N., & Faucon, M. P. (2017). Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. *New Phytol.*, 213(2), 537-551.
- Li, Y., Liu, Q., Zhang, D. X., Zhang, Z. Y., Xu, A., Jiang, Y. L., & Chen, Z. C. (2024). Metal nutrition and transport in in the process of symbiotic nitrogen fixation. *Plant Commun.*, 5(4), 100829.
- Lotfi, R., Ghassemi-Golezani, K., & Pessarakli, M. (2020). Salicylic acid regulates photosynthetic electron transfer and stomatal conductance of mung bean (*Vigna radiata* L.) under salinity stress. *Biocat. Agric. Biotechnol.*, 26, 101635.
- Mahey, S., Kumar, R., Sharma, M., Kumar, V., & Bhardwaj, R. (2020). A critical review on toxicity of cobalt and its bioremediation strategies. *SN Appl. Sci.*, 2, 1279.
- Marin, S., Pardo, O., Baguena, R., Font, G., & Yusa, V. (2017): Dietary exposure to trace elements and health risk assessment in the region of Valencia, Spain: a total diet study. *Food Addit. Contam. Part A*, 34, 228-240.
- Meravi, N., & Prajapati, S. K. (2018). Temporal variation in chlorophyll fluorescence of different tree species. *Biol. Rhythm Res.*, 49, 1-7.
- Moustaka, J., Sperdouli, I., İsgören, S., Şaş, B., & Moustakas, M. (2024). Deciphering the mechanism of melatonin-induced enhancement of photosystem II function in moderate drought-stressed oregano plants. *Plants*, 13(18), 2590.
- Nazir, A., Wahid, A., Nawaz, S., Gulshan, A. B., Leghari, S. K., Hussain, F., Nijabat, A., Khan, M. A., Awan, A. N., Shafqat, U., & Naseem, Z. (2022). Vicissitudes in morphological and photosynthetic attributes in maize (*Zea mays*) plant by elevating the cobalt concentration in soil. *GU. J. Phytosci.*, 2(1), 000-000.
- Oukarroum, A., Bussotti, F., Goltsev, V., & Kalaji, M. H. (2015). Correlation between reactive oxygen species production and photochemistry of photosystems I and II in *Lemna minor* L. plants under salt stress. *Env. Exp. Bot.*, 109, 80-88.
- Permyakov, E. A. (2021). Metal binding proteins. *Encyclopedia* 1, 261-292.
- Rajkumar, V., Lee, V. R., & Gupta, V. (2023). Heavy Metal Toxicity. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560920/>.
- Saaltink, R., Griffioen, J., Mol, G., & Birke, M. (2014). Geogenic and agricultural controls on the geochemical composition of European agricultural soils. *J. Soils Sediments*, 14, 121-137.
- Salam, A., Rehman, M., Qi, J., Khan, A. R., Yang, S., Zeeshan, M., Ulhassan, Z., Afridi, M. S., Yang, C., Chen, N., Fan, X., & Gan, Y. (2024). Cobalt stress induces photosynthetic and ultrastructural distortion by disrupting cellular redox homeostasis in maize. *Environ. Exp. Bot.*, 217, 105562
- Sönmez, O., & Kılıç, F. N. (2021). Heavy metal pollution in soil and removal methods. *Turk. J. Agric. Eng. Res.*, 2(2), 493-507.
- Sree, K. S., Keresztes, A., Mueller-Roeber, B., Brandt, R., Eberius, M., Fischer, W., & Appenroth, K. J. (2015). Phytotoxicity of cobalt ions on the duckweed *Lemna minor* morphology, ion uptake, and strach accumulation. *Chemosphere*, 131i 149-156.
- Stirbet, A., Lazár, D., Kromdijk, J., & Govindjee, G. (2018). Chlorophyll *a* fluorescence induction: can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses? *Photosynth.*, 56, 86-104.
- Strasser, R. J., Tsimilli-Mitchael, M., & Srivastava. A. (2004). Analysis of chlorophyll fluorescence transient. (AIPH) Chlorophyll *a* Fluorescence, 19, 321-362.
- Toth, S. Z. (2023). The functions of chloroplastic ascorbate in vascular plants and algae. *Int. J. Mol. Sci.*, 24(3), 2537.
- Wang, J. B., Tang, Y. L., Xu, J., Xu, G. C., Zou, Y., & Chen, H. (2015). Accumulation and distribution of cobalt in broad bean and its effects on the photosynthesis and antioxidant enzyme activities. *Acta Bot. Boreal.-Occid. Sin.*, 35, 963-970.
- Yusuf, M. A., Kumar, D., Rajwanshi, R., Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Govindjee, & Sarin, V. B. (2010). Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll fluorescence measurements. *Biochim. Biophys. Acta*, 1797, 1428-1438.