

THE EFFECTS OF THE LEAD ON THE SEED GERMINATION, ROOT GROWTH, AND ROOT TIP CELL MITOTIC DIVISIONS OF LENS CULINARIS MEDIK

Yaşar KIRAN*, Ahmet ŞAHİN
Fırat University, Faculty of Science and Arts, Department of Biology 23169,
Elazığ Turkey,
e-mail: ykiran@firat.edu.tr

ABSTRACT

In this study, the effects of lead (PbCl₂) one of the significant environmental pollutant, on seed germination, root growth and mitotic divisions of the root tip cells of lentil (*Lens culinaris* Medik.) were investigated. Different concentrations (0.125, 0.250, 0.500 and 1.000 mM Pb²⁺) of lead were applied. It was observed that there are no significant differences in the germination of seeds that exposed to low lead concentrations. On the other hand, at higher concentrations of lead inhibited germination. In addition, root growth was inhibited according to the control group at all concentrations. In parallel to the increase of the lead concentrations cell division was decreased, several mitotic anomalies such as c-mitosis, lagging chromosomes, multipolar anaphases and Chromosome bridges were increased.

Key Words: Lead, *Lens culinaris*, germination, mitosis, heavy metals

KURŞUNUN LENS CULINARIS MEDIK. TOHURLARININ ÇİMLENMESİ, KÖK GELİŞİMİ VE KÖK UCU HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ MİTOTİK ETKİLERİ

ÖZET

Bu çalışmada, önemli çevre kirleticilerinden biri olan kurşun (PbCl₂)'un mercimek (*Lens culinaris* Medik) tohumlarının çimlenmesi, kök büyümesi ve kök ucu hücrelerinin mitoz bölünmeleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Denemelerde Pb²⁺ un farklı konsantrasyonları (0.125, 0.250, 0.500 ve 1.000 mM) kullanılmıştır. Düşük Pb²⁺ konsantrasyonları ile muamele edilen tohumların çimlenmesinde kontrole göre belirgin bir farkın olmadığı, ancak yüksek konsantrasyonlarda çimlenmenin azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca uygulanan tüm konsantrasyonlarda, kök büyümesi kontrole göre engellenmiştir. Kurşunun konsantrasyon artışına paralel olarak, hücre bölünmesinin azaldığı, c-mitoz, kalgın kromozom, multipolar anafaz ve köprü gibi çeşitli mitotik anormalliklerin arttığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kurşun, *Lens culinaris*, çimlenme, mitoz, ağır metal

1. GİRİŞ

Kurşun (Pb⁺⁺), bütün dünyada doğal kaynaklar içinde çeşitli formlar halinde bulunan ve günümüzde en geniş çaplı ve düzenli olarak açığa çıkan ağır metallere biridir (1). Pek çok çalışma göstermektedir ki önemli miktarda kurşun genellikle toprakta bulunmaktadır. Motorlu taşıtların egzoz gazları, maden ocakları, metal işleyen tesisler, endüstriyel faaliyetler, kurşun ile kirlenmiş atık sular, sanayi atıkları ve tarımda gübreleme gibi pek çok etmen toprak ve bitkilerin maruz kaldığı kurşun kirlenmesinin başlıca sebepleridir (2, 3).

Bitkiler açısından kurşun tehlikesi 1923 yılında otomobil yakıtına kurşuntetraetilen eklenmesinden beri devam etmektedir. O günden bu güne kurşun en tehlikeli ve en yaygın çevresel ağır metal haline gelmiştir. Egzoz

1. INTRODUCTION

Lead exists in many forms in natural sources throughout the world, and is now one of the most widely and evenly distributed heavy metals (1). Numerous studies show that significant amounts of lead are often found in soil. Danger of lead for plants continue when tetraethylen lead were added to automobile fuel in years 1923. Lead emitted by exhaust gases cause to increasing of lead accumulation in the soil near roadside (2-5). Soil and Plants can be contaminated by lead from car exhaust dust and gases from various industrial sources, wastewaters polluted by lead, fertilizer, industrial wastes (6, 7).

Lead has not been shown to be essential in plant metabolism, although it occurs naturally in all plants (2). Plants take the limited amount of lead from soil and

gazları ile saçılan kurşun ve bileşikleri otoyol yakınlarındaki topraklarda kurşun konsantrasyonunun artmasına neden olmaktadır (4-7).

Her ne kadar kurşun bitkilerde doğal olarak bulunsun da bitki metabolizması için gerekli bir element değildir (4). Bitkilerde aşırı kurşun alınımı çeşitli fizyolojik mekanizmalarla engellenmektedir (8), fakat yinede bitkiler topraktan belirli miktarlarda kurşunu almakta ve çeşitli dokularında depolayabilmektedirler (9-11).

Ağır metallerin bitkilere olan etkisi, ekilen ve yetiştirilen bitki türlerine ve toprak tipine göre değişmektedir (12).

Pek çok rapor göstermektedir ki kurşun (Pb^{+2})'a maruz kalan bitkilerde; tohum çimlenmesinde, kök ve gövde uzamasında azalma (13-15), klorofil biyosentezinde inhibisyon (16-19), kloroz (20, 21), fotosentez miktarında azalma (22) bir çok enzimde indüksiyon veya inhibisyon (23, 24), hücre yapısında bozulma, kromozom lezyonları ve bölünme anomalileri (25-30), çekirdekcik zehirlenmesi (14) gibi olumsuzluklar görülmektedir. Sonuç olarak kurşunun bu olumsuz etkileri bitkilerde bozulmalara ve ekosistemde tahribatlara yol açmaktadır (31-32).

Ağır metallerin bitkiler üzerindeki etkileri son yıllarda bir çok araştırma projesine konu olmuştur. Bu tip çalışmalarda ağır metalin çevredeki birikim oranı ve bitkinin türü önemlidir. Bitkilerin ortamdaki elementlere seçici davrandığı, ağır metal eşik doz değerinin bitki türüne ve ağır metal çeşidine göre değiştiği iyi bilinmektedir. Özellikle bitkilerin çevresel stres faktörlerine farklı adaptif mekanizmalar geliştirmesi, bu tip çalışmaların çok sayıda farklı tür üzerinde yapılmasını gerekli kılmaktadır. Biz de bu çalışmada, çevreyi çok geniş çaplı ve düzenli olarak kirleten ağır metal katyonlarından kurşunun, yaptığımız detaylı literatür taramalarında çalışılmadığını tespit ettiğimiz yeni bir tür (*Lens culinaris* Medik) ün tohum çimlenmesi, kök gelişimi ve kök ucu hücrelerinin mitoz bölünmeleri üzerindeki etkilerini belirlemeye çalıştık.

2. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada bir kültür bitkisi olan mercimek (*Lens culinaris* Medik.) tohumları, ağır metal olarak da kurşun (Pb^{++})'un klor tuzu ($PbCl_2$) kullanılmıştır. Mercimek tohumları Elazığ İl Tarım Müdürlüğü'nden, ağır metal tuzu ($PbCl_2$) ise Sigma firmasından temin edilmiştir. Çözeltilerin tamamı bidestile su (pH=6.3) kullanılarak hazırlanmıştır.

Mercimek tohumları deney grubu için hazırlanan farklı (0.125, 0.250, 0.500 ve 1.000 mM) konsantrasyonlardaki Pb^{++} , kontrol grubu ise musluk suyu içerisinde 23-24 °C de karanlık ortamda 24 saat bekletildi. Bu süre sonunda şişme ortamından alınan tohumlardan, 11 cm' lik petripler içerisindeki musluk suyu ile ıslatılan çift katlı filtre kağıtlarının üzerine her bir petriye 30' ar adet ekildi. Bu şekilde ekimi yapılan petripler; 23-24 °C'deki etüve yerleştirildi. Her 24 saatte bir tohumların çimlenme oranları radikula belirimi esasına göre 72 saat süresince tespit edildi. Ayrıca süre sonunda her bir gruptaki tohumların kök uzunlukları da ölçülerek kaydedildi.

accumulate in their tissue (8-10). However, excess lead content interferes with various physiological processes in plants (11).

The effect on plants of heavy metals change according to grown plant species and soil type (12). In response to lead exposure plants shows anomalies such, as seed germination, root and stem elongation (13-15), inhibition of chlorophyll biosynthesis (16-19), chlorose (20, 21), decrease of photosynthesis (22), induction or inhibition of enzymes (23, 24), to break in cell structure, chromosome lesion or division anomalies (25-30), nuclear poison (14). Consequently, negative effects of lead cause to the destruction plants and ecosystem (31, 33).

The effects on plants of heavy metals are topic of many research projects in recent years. Species of plant and accumulation ratio of heavy metal in environment are important in such works. It is known that, plants are selective to elements in surrounding and minimum dose value of heavy metal varies according to heavy metals and plant species. These kind studies are necessary to apply different species, because plants adapt different mechanisms against surrounding stress factors.

In this study, we determined the effects of lead on seed germination, root growth and mitotic division of root tips of lentil (*Lens culinaris*) which has not been studied up to now.

2. MATERIAL AND METHOD

In this study, lentil (*Lens culinaris* Medik) seeds were obtained from Agriculture Directorate of Elazığ City. Lead solutions were prepared from $PbCl_2$ (Sigma) by using of double distilled water (pH 6.7). The experiment was conducted in a temperature adjustable plant growth cabinet.

Lentil seeds were soaked in 150 ml lead solution of 0.0625, 0.125, 0.250, 0.500 and 1.00 mM concentrations and kept in plant growth cabinet for 24h at 23-24 °C in dark. Only double distilled water was used for control group. Then 30 of swollen lentil seed for each Pb solution were planted in 11 mm diameter petri dishes double layer filter paper. Two replicates were made for each concentration. Planted petri dishes were filled with 9 ml of lead solution containing different lead concentrations. Control groups were filled with only distilled water. They were covered and kept into plant growth cabinet for 72h in dark. Petri dishes were checked and added with 1 ml of Pb solutions for a period of 24h. At the same time, the

72 saat sonra her bir gruba ait kök uçları kesilerek; 24 saat asetik asit:alkol (1:3) içerisinde bekletilerek fiksasyon işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra kök uçları, 60 °C'de 1 N HCl ile etüvde 17 dakika hidroliz edildi ve Feulgen reaktifi ile 1 saat boyandı. 15 dakika musluk suyunda bekletilen kök uçlarının uç kısmındaki koyu boyanan 1-2 mm'lik büyüme meristemleri kesildi ve % 45'lik asetik asit ortamında ezme preparatları yapıldı (34).

Sonuçlar ortalamanın standart hatası alınarak değerlendirildi. Bütün İstatistik analizler bilgisayarda SPSS 10.0 Windows programı kullanılarak yapıldı. Veriler çoklu karşılaştırma testi (multiple comparisons, LSD) ile $p < 0.01$ önem seviyesinde karşılaştırıldı..

3. TARTIŞMA VE SONUÇ

Farklı konsantrasyonlardaki kurşun (Pb^{++}) çözeltileriyle muamele edilen ve edilmeyen mercimek tohumlarının çimlenme oranları radikula belirimi esasına göre tespit edilmiş ve sonuçlar tablo 1'de, ayrıca 72 saat sonra ölçülen kök uzunlukları da şekil 1'de verilmiştir.

Tablo 1'in incelenmesinden anlaşılacağı gibi Pb^{++} 'un 0.125 ve 0.250 mM'lık konsantrasyonları tohumların çimlenmelerini etkilememiştir. Fakat 0.500 mM'lık konsantrasyon %2.5 oranında, 1.000 mM'lık konsantrasyon ise %10 oranında tohum çimlenmesini azaltmıştır. Şekil 1'in incelenmesi sonucunda da Pb^{++} konsantrasyonu artışına paralel olarak kök uzunluğunda büyümenin önemli derecede engellendiği görülmektedir.

germination ratios of seeds were also determined by radicle formation bases. At the end of 72h, the root lengths of the germinated seeds were measured with a milimetric ruler.

The root tips of germinated seeds were cut and kept into paradichlorobenzene for 4h. Then they were fixed in acetic acid-alcohol (1:3) for 24h and were transferred in 70 % alcohol and stored in the fridge.

For mitotic preparation, root tips were removed from alcohol and washed with tap water and hydrolised with 1 N HCl, at 60 °C for 17 min. Then it was dyed with Feulgen reactive for 1h (34). After that the root tips were kept in tap water for 15 min. Finally the last parts of root tips which dyed very densely were cut and their crushing prepares in 45 % acetic acid were made.

The results are expressed as means \pm standard error. All statistical analyses were performed using SPSS 10.0 computer program (SPSS Inc.). The data were compared with LSD multiple comparison test using a significant level of $p < 0.01$

3. RESULT AND DISCUSSION

Root of the germinated lentil's lengths was measured after 72 h. The germination percentages of seeds were determined by radicle formation bases of lentil seeds exposed and none exposed to different concentrations of lead (Pb^{++}) and results and root lengths are given in Table 1 and figure 1 respectively. This table shows that seed germination wasn't inhibited with Pb concentration (0.125 and 0.250 mM). However, 0.500 and 1.000 mM concentrations of lead caused 2.5 % and 10 % decrease of seed germination ($P > 0.01$) respectively. Figure 1 show that root growth inhibited by increase of Pb^{++} concentration.

Table 1. The effects of lead (Pb^{++})'on the germination of lentil seeds
Çizelge 1. Kurşun (Pb^{++})' un mercimek tohumları çimlenmesi üzerine etkileri

Treatment/ Uygulama	Germination %/ Çimlenme %		
	24 h	48 h	72 h
PbCl ₂ 0.125 mM	92.5 \pm 1.4	97.5 \pm 1.2	97.5 \pm 1.0
PbCl ₂ 0.250 mM	87.5 \pm 1.7	97.5 \pm 1.0	97.5 \pm 1.4
PbCl ₂ 0.500 mM	85.0 \pm 1.0	95.0 \pm 1.2	95.0 \pm 1.0
PbCl ₂ 1.000 mM	80.0 \pm 1.0	85.0 \pm 1.2	87.5 \pm 1.2
Control	92.5 \pm 2.2	97.5 \pm 2.0	97.5 \pm 1.8

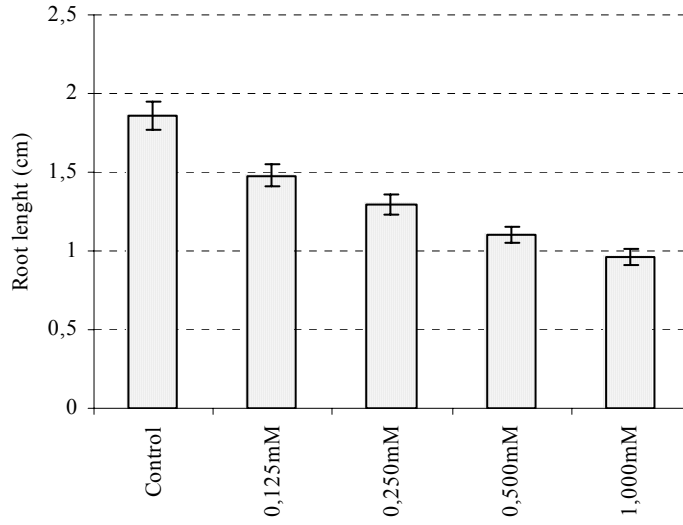


Figure1. Root length of lentil seedlings exposed to lead measured after 72 h

Şekil 1. Kurşuna maruz bırakılan mercimek fidelerinin 72 saat sonra ölçülen kök uzunluğu.

Mitotik indeks hücre bölünme frekansını yansıtır ve kök gelişim oranını belirlemede önemli bir parametre olarak kullanılır (35). Tablo 2'den de görüleceği gibi Pb^{++} konsantrasyonu artışına bağlı olarak mitotik indeks azalmış dolayısıyla bu azalmaya paralel olarak kök uzaması da olumsuz olarak etkilenmiştir.

Mitotik gözlemler sonucunda *Lens culinaris*' in kontrol grubuna ait kök ucu hücreleri ile kurşuna maruz bırakılan kök ucu hücrelerinde meydana gelen anormallikler şekil 2' de verilmiştir. 0.125 mM'lık Pb^{++} ile 24 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 500 hücrenin %'de 26.2'sinde bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; metafaz'da 8 hücrede c-mitoz, 3 hücrede ayrı kalmış kromozom, anafaz'da 2 hücrede multipolar anafaz, 5 hücrede köprü şeklindedir (Tablo 2). 0.250 mM'lık Pb^{++} ile 24 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 500 hücrenin %'de 23.4'ünde bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; profaz'da 3 hücrede mikronukleus, metafaz'da 7 hücrede c-mitoz, 5 hücrede ayrı kalmış kromozom, anafaz'da 1 hücrede multipolar anafaz, 3 hücrede köprü şeklindedir (Tablo 2). 0.500 mM'lık Pb^{++} ile 24 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 500 hücrenin %'de 21.6'sında bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; profaz'da 2 hücrede mikronukleus, metafaz'da 6 hücrede c-mitoz, 8 hücrede ayrı kalmış kromozom, anafaz'da 2 hücrede multipolar anafaz, 4 hücrede köprü şeklindedir (Tablo 2). 1.000 mM'lık Pb^{++} ile 24 saat muamele edilen kök uçlarında sayılan 500 hücrenin %'de 59'unda bölünme görüldü. Bu konsantrasyondaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; profaz'da 7 hücrede mikronukleus, metafaz'da 11 hücrede c-mitoz, 10 hücrede ayrı kalmış kromozom, anafaz'da 3 hücrede multipolar anafaz, 5 hücrede köprü şeklindedir (Tablo 2). Kontrol grubunda sayılan 500 hücrenin %'de 31.8'inde bölünme görüldü. Bu gruptaki anormallikler ve bunların fazlara dağılımı; anafaz'da 1 hücrede multipolar anafaz, 1 hücrede köprü şeklindedir (Tablo 2).

Mitotic index reflects to cell division frequency and used to determine the root growth ratio as significant parameter (35). Table 2 shows that mitotic index was decreased with increase of lead concentration and also root growth was effected negatively. Anomalies in root tips exposed to lead and control group were shown in figure 2. Division was seen in 26.2% of 500 cells belong to root tips applied with Pb^{++} (0.125 mM) for 24 h. Distribution of the abnormalities at phases in this concentration were showed that there were c-mitosis in 8 cells, lagging chromosome in 3 cells, multipolar anaphase in 2 cells and bridge in 5 cells (Table 2). Division was seen in 23.4 % of 500 cells belong to root tips applied with Pb^{++} (0.250 mM) for 24 h. Distribution at phases of abnormalities in this concentration were showed that there were micronucleus in 3 cells of prophase, c-mitosis in 7 cells of metaphase, lagging chromosome in 5 cells, multipolar anaphase in 1 cell and bridge in 3 cells (Table 2). Division was seen in 21.6 % of 500 cells belong to root tips applied with Pb^{++} (0.500 mM) for 24 h. Distribution at phases of abnormalities in this concentration were showed that there were micronucleus in 2 cells of prophase, c-mitosis in 6 cells of metaphase, lagging chromosome in 8 cells, multipolar anaphase in 2 cells and bridge in 4 cells (Table 2). Division was seen in 59 % of 500 cells belong to root tips applied with Pb^{++} (1.000 mM) for 24 h. Distribution at phases of abnormalities in this concentration were showed that there were micronucleus in 7 cells of prophase, c-mitosis in 11 cells of metaphase, lagging chromosome in 10 cells, multipolar anaphase in 3 cells and bridge in 5 cells (Table 2). Division was seen in 31.8 % of 500 cells belong to control group. Distribution at phases of abnormalities in this group was showed that there were multipolar anaphase in 1 cells and bridge in 1 cell (Table 2).

Table 2. The mitotic effects of lead (PbCl₂) on the root tips of lentil
Çizelge 2. Kurşun (PbCl₂)' un mercimek kök ucu hücrelerindeki mitotik etkileri

Treatment/ Uygulama	Number of cells/ Sayılan toplam hücre	Mitotic İndex/ Mitotik index (%)	Normal dividing cells in/ Normal bölünen hücre (%)	Anormalous dividing cells / Anormal bölünen hücre sayısı				
				Micro- nucleus/ Mikro nukleus	c- mitosis/ c-mitoz	Laggard chromosome in metaphase/ Metafazda ayrı kalmış kromozom	Multipolar anaphase Multipolar anafaz	Anaphase Bridge/ Anafaz köprü
0.125 mM PbCl ₂	500	26.2	113	-	8	3	2	5
0.250 mM PbCl ₂	500	23.4	98	3	7	5	1	3
0.500 mM PbCl ₂	500	21.6	86	2	6	8	2	4
1.000 mM PbCl ₂	500	19.0	59	7	11	10	3	5
Control	500	31.8	157	-	-	-	1	1

Düşük konsantrasyonlarda Pb⁺⁺ ile muamele edilen tohumların çimlenmesinde kontrole göre belirgin bir fark olmadığını, fakat yüksek Pb⁺⁺ konsantrasyonlarda tohumların çimlenmesinin engellendiği *Lupinus luteus* (36), *Sesamum indicum* (29), *Sinapis alba* (32), *Oryza sativa* L. (37), *Lens esculenta* (38), *Raphanus sativus* ve *Lactuca sativa* (33) bitkileriyle yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. 10.000 mg dm⁻³ Pb⁺⁺ konsantrasyonunun *Phaseolis vulgaris*, *Pisum sativum* ve *Brassica napus* var. Zerowy tohumlarında çimlenmeyi önemli oranda engellediği ve bu konsantrasyonun *Pisum sativum*' da çimlenmeyi tümüyle durdurduğu (39) rapor edilmiştir. Pb⁺⁺'un tohum çimlenmesi için belirlenen bu engelleyici etkileri aynı zamanda polen çimlenmesi ve polen tüpü içinde tespit edilmiştir. Bu etki örneğin; *Quercus cerris*, *Picea abies*, *Pinus nigra* (40) ve *Malus sylvestris* (41) polenlerinde gözlenmiştir. Kurşun bitki gelişimi için gerekli bir element değildir, fakat bazı bitkilerde örneğin *Brassica juncea*'da kurşunun 10⁻⁴ M ve 10⁻⁵ M gibi düşük konsantrasyonlarının kök büyümesini teşvik ettiği, ancak aynı konsantrasyonların *Z. mays* ve *Allium cepa*'da kök gelişimini engellediği tespit edilmiştir (42, 43). Godbald ve Kettner Pb⁺⁺ solüsyonları ile muamele edilen *Picea abies* fidelerinin primer, sekonder ve üçüncül kök gelişmelerinde bir azalma olduğunu ve en fazla yan köklerin etkilendiğini (44),

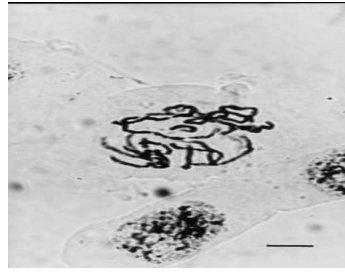
Obvious differentiation was not shown in germination of seeds applied by low concentrations of lead. On the other hand, there are reports on the inhibitory effect of lead on the germination of seeds of the following species: *Lupinus luteus* (36), *Sesamum indicum* (21), *Sinapis alba* (24), *Oryza sativa* L. (37), *Lens esculenta* (38), *Raphanus sativus* and *Lactuca sativa* (33).

There are reports on the inhibitory effect of lead concentrations (10.000 mg dm⁻³ Pb⁺⁺) on the germination of seeds of *Phaseolis vulgaris*, *Pisum sativum* and *Brassica napus* var. zerowy (39). Inhibiting effects of lead for seed germination were observed pollen germination and also pollen tube elongation. For example; this effect was observed on pollens of *Quercus cerris*, *Picea abies*, *Pinus nigra* (40) and *Malus sylvestris* (41).

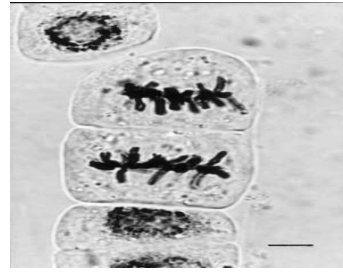
Lead has not been shown to be essential for plants. However, low concentrations of lead (10⁻⁴ M and 10⁻⁵ M) cause to root growth of *Brassica juncea* while root growth of *Z. mays* and *Allium cepa* were inhibited (42, 43).

Godbald ve Kettner, reported to decrease primary, secondary and tertiary root growth of *Picea abies* seedlings applied with Pb⁺⁺ solutions (44).

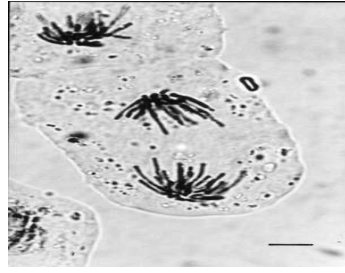
Xiong reported that root growth of *Brassica pekinensis* seedlings applied with 125, 250, 500 and 1000 µg/mL⁻¹ concentrations of Pb(NO₃)₂ decreased 53.11%, 85.65%, 87.61% and 90.08% according to control respectively. Additionally, Seed germination wasn't effected from 125 µg/mL⁻¹ concentrations but 250 µg/mL⁻¹, 500 µg/mL⁻¹ and 1000 µg/mL⁻¹



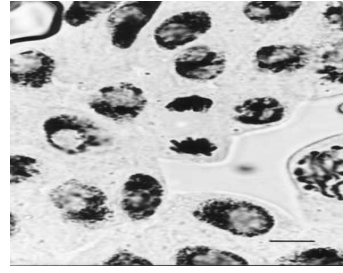
a. Prophase/ Profaz



b. Metaphase/ Metafaz

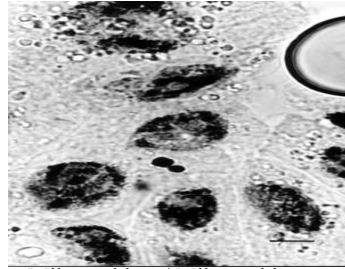


c. Anaphase/ Anafaz

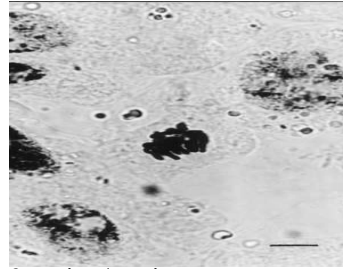


d. Telophase/ Telofaz

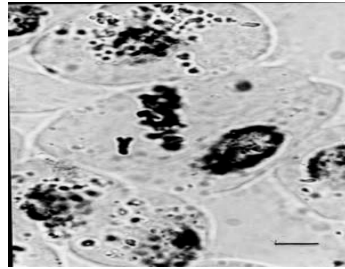
Mitotic stages in root tip cells of the seeds belonging to the control groups/
Kontrol grubuna ait tohumların kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme safhaları



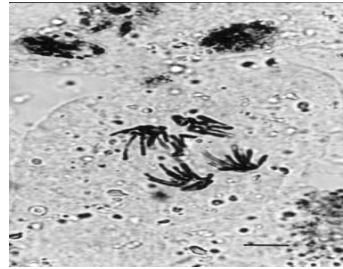
e. Mikronukleus/ Mikronukleus



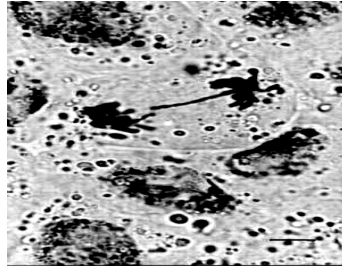
f. c-mitoz/ c-mitoz



g. Laggard chromosome/ Kalgın kromozom



h. Multipolar anaphase/ Multipolar anafaz



i. Bridge/ Köprü

Figure 2. Mitotic abnormalities caused of various concentration of lead ($PbCl_2$) (Magnification 10 μm)

Şekil 2. Kurşunun çeşitli konsantrasyonlarının neden olduğu mitotik anormallikler (Mikroskop Büyütmesi 10 μm)

Xiong Pb(NO₃)₂ 125, 250, 500 ve 1000 µg/mL⁻¹ çözeltileriyle muamele ettiği *Brassica pekinensis* Rupr. fidelerinin kök gelişimlerinde kontrole göre sırasıyla; %53.11, %85.65, %87.61 ve %90.08' lik bir azalmanın olduğunu, tohum çimlenmesinin ise 125 µg/mL⁻¹ konsantrasyondan etkilenmediğini fakat 250 µg/mL⁻¹ lik konsantrasyonun %34.33, 500 µg/mL⁻¹ lik konsantrasyonun %43.33 ve 1000 µg/mL⁻¹ lik konsantrasyonun ise %56.67 oranında engellediğini bildirmişlerdir (45). PbCl₂' nin farklı konsantrasyonlarıyla (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 ve 8.0 mM) muamele edilen *Triticum aestivum* L. ve *Cucumis sativus* L. cv. tohumlarının çimlenmelerinde, kök, koleoptil ve hipokotil büyümelerinde konsantrasyon artışına bağlı olarak belirgin bir azalmanın olduğu rapor edilmiştir (46). Kurşunun bitkilerin meristematik hücrelerdeki mitoz bölünme frekansını azaltıp, kromozomal anormalliklere neden olduğu bilinmektedir (14, 47, 48, 49, 50). Pb(NO₃)₂' in farklı konsantrasyonlarının (10⁻² M~ 10⁻⁷ M) *Zea mays* ve *Allium cepa*' da kök uzamasını engellediği, mitotik indeksi ve normal bölünen hücre sayısını azalttığı, c-mitoz'a, kromatitlerde köprü'ye ve kromozomlarda yapışmalara neden olduğu (14,51), ayrıca Pb⁺⁺' un 10⁻³ M ve 10⁻² M gibi yüksek konsantrasyonlarında *Z.mays* kök ucu hücrelerindeki çekirdek muhtevasının sitoplazma içerisine dağıldığı rapor edilmiştir (14).

Bu çalışmadan elde edilen bulgular mercimek bitkisinde, kurşun stresine kök büyümesinin çimlenmeye göre daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Mercimeğin kurşun kirliliğine toleranslı bir bitki olmadığını ortaya koymaktadır. Çalışılmış diğer bitki türlerinde olduğu gibi kurşunun önemli bir tarım bitkisi olan mercimekte de tohum çimlenmesi ve kök büyümesini engellediği, mitotik indeksi azalttığı ve çeşitli mitotik anormalliklere sebep olduğu görülmektedir.

KAYNAKLAR/ REFERENCES

1. Nriagu, J. O., "Toxic metal pollution in Africa", *Sci. Total Environ.*, 121:1-37 (1992).
2. Kabata-Pendias, A. and Pendias, H., *Trace Elements in Soils and Plants*, **CRC Press Inc.**, Boca Raton, FL. (1984)
3. Ward, N., Brooks, R. R. and Roberts, E., "Heavy metal pollution from automotive emissions and its effects on roadside soil and pasture species in New Zealand", *Environmental Science and Technology*, 11: 917-921 (1977).
4. Yassoglou, N., Kosmas, C., Asimakopoulos, J. and Kalliaoun, C., "Heavy metal contamination of roadside soils in the Greater Athens area", *Environmental Pollution*, 47:293-304 (1987).
5. Ho, Y. B. and Tai, K. M., "Elevated levels of lead and other metals in roadside soil and grass and their use to monitor aereal metal depositions in Hong Kong", *Environmental Pollution*, 49: 37-51 (1988).
6. Lepp, N. W., "Effect of Heavy Metal on plants", *Applied Science*, Vol. 2, London (1981).
7. Zakrzweski, S., *Principles of Environmental Toxicology*, **American Chemical Society**, Washington, DC (1991).
8. Nwosu, J. U., Harding, A. K. and Linder, G., "Cadmium and Lead uptake by edible crops grown in a silt loam soil", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54: 570-578 (1995).
9. Sawidis, T., Marnasidis, A., Zachariadis, G., Stratis, J., "A study of air pollution with heavy metals in Thessaloniki city (Greece) using trees as biological indicators", *Arch Environ Contam Toxicol*, 28:118-124 (1995).

concentrations inhibited to seed germination in ratio 34.33%, 43.33% and 56.67% respectively (45).

Seed germination, root, coleoptiles and hypocotyls growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus* applied with different concentrations of PbCl₂ (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5 and 8.0 mM) were decreased depend on to increasing concentration (46). It is known that lead caused to decrease of mitotic division frequency and chromosomal abnormalities in meristematic cells of plants (14, 47, 48, 49, 50).

Different concentrations of Pb(NO₃)₂ (10⁻² M~ 10⁻⁷ M) inhibited root growing of *Zea mays* and *Allium cepa* and reduced mitotic index, normal divided cell number. Additionally It caused to c-mitosis, bridge in chromatids and chromosome sticks (14, 51) However, Nuclear contain of *Zea mays* root tips cells dispersed into cytoplasm in high concentrations of lead (for example 10⁻³ M and 10⁻² M) (14).

The result of this study showed that root growing is more sensitive than seed germination in lentil against to lead stress. Lentil plant isn't tolerant to lead contamination It is determined that lead inhibited the seed germination, root growth and decreased mitotic index in addition, caused various mitotic anomalies in lentil as being in the other plant species.

10. Xiong, Z. T., "Heavy metal contamination of urban soils and plants in relation to traffic in Wuhan city, China", *Toxicol Environ Chem*, 61 (1997 b).
11. Balsberg, A. M., "Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants", *Water, Air and Soil Pollution*, 47: 287-319 (1989).
12. Alloway, B.J.; Davis, B.E., "Heavy metal content of plants on soils contaminated by lead mining", *J. Agric. Sci.*, 76: S.321 (1971).
13. Fargasova A., "Effect of Pb, Cd, Hg, As and Cr on germination and root growth of *Sinapis alba* seeds", *Bull Environ Contam Toxicol.*, 52:452-456 (1994).
14. Liu, D. H., Jiang, W. S., Wang, W., Zhao, F. M., Lu, C., "Effects of lead on root growth cell division and nucleolus of *Allium cepa*", *Environ. Pollut.*, 86: 1-4 (1994).
15. Lane, S. D., Martin, E. S., "Further observations on the distribution of lead in juvenile roots of *Raphanus sativus*", *Z. Pflanzenphysiol.*, 97: 145-152 (1980).
16. Hampp, R. and Lenzian, K., "Effects of lead ions on chlorophyll synthesis", *Naturwissenschaften*, 61: 218-219 (1974).
17. Jana, S., Dalal, T. and Barua, B., "Effects and relative toxicity of heavy metals on *Cuscuta reflexa*", *Water, Air and Soil Pollution*, 33: 23-27 (1987).
18. Sinha, S. K., Srivastava, H. S. and Tripathi, R. D., "Influence of some growth regulators and cations on the inhibition of chlorophyll biosynthesis by lead in maize", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 51: 241-246 (1993).
19. Miranda, M. G. and Ilangiovan, K., "Uptake of lead by *Lemna gibba* L. influence on specific growth rate and basic biochemical changes", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56: 1000-1007 (1996).
20. Johnson, M. S., McNeilly, T., Putwain, P. O., "Revegetation of metalliferous mine spoil contaminated by lead and zinc", *Environ. Pollut.*, 12: 261-277 (1977).
21. Johnson, W. R., Proctor, J., "A comparative study of metal levels in plants from two contrasting lead mine sites", *Plant Soil*, 46: 251-257 (1977).
22. Bazzaz, F. A., Rolfe, G. L., Windle, P., "Differing sensitivity of corn and soybean photosynthesis and transpiration to lead contamination", *J. Environ. Qual.*, 3:156-158 (1974).
23. Van Assche, F. and Cliisters, H., "Effects of metals on enzyme activity in plants", *Plant, Cell and Environment*, 13:195-206 (1990).
24. Hampp, R. and Lenzian, K., "Effects of lead ions on chlorophyll synthesis", *Naturwissenschaften*, 61:218-219 (1974).
25. Ramel, C., "The effect of metal compounds on chromosome segregation", *Mut. Res.*, 21:45-46 (1973).
26. Wierzbicka, M., "Disturbances in cytokinesis caused by inorganic lead", *Environ. Exp. Bot.*, 29:123-133 (1989).
27. Wierzbicka, M., "Resumption of mitotic activity in *Allium cepa* L root tips during treatment with lead salts", *Environ. Exp. Bot.*, 34:173-180 (1994).
28. Balsberg, A. M., "Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants", *Water, Air and Soil Pollution*, 47:287-319 (1989).
29. Kumar G., Singh R. P., "Sushila Nitrate assimilation and biomass production in *Sesamum indicum* L seedlings in a lead enriched environment", *Water Air Soil Pollut*, 66:163-171 (1991).
30. Xiong Z. T., "Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L.", *Environ Pollut*, 97 (1997 c).

31. Lamersdorf, N. P., Godbold, D. L. and Knoche, D. "Risk assessment of some heavy metals for growth of Norway spruce", *Water, Air and Soil Pollution*, 57/58:535-543 (1991).
32. Fargasova, A., "Effect of Pb, Cd, Hg, As and Cr on germination and root growth of *Sinapis alba* seeds", *Bull Environ Contam Toxicol*, 52:452-456 (1994).
33. Nwosu, J. U., Harding, A. K. and Linder, G., "Cadmium and Lead uptake by edible crops grown in a silt loam soil", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54:570-578 (1995).
34. Sharma, A. K. and Sharma, A., "Chromosome Techniques-Theory and Practice, second ed", *University Park Press*, Baltimore, MD, p.575 (1982).
35. Jiang, W., Liu, D., "Effects of Pb²⁺ on root Growth, Cell Division, and Nucleolus of *Zea mays* L.", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 65:786-793 (2000).
36. Wozny, A. Zatorska, B., Mlodzianowski, F., "Influence of the lead on the development of lupin seedlings and ultrastructural localization of this metal in the roots", *Acta Soc. Bot. Pol.*, 51:345-351 (1982).
37. Mukherji, R. and Maitra, P., "Growth and metabolism of germination rice (*Oryza sativa* L.) seeds as influenced by toxic concentrations of lead", *Z. Pflanzenphysiol*, 81:26-33 (1977).
38. Ayaz, F. A. and Kadioğlu, A., "Ağır Metallerin (Zn, Cd, Cu, Hg) Çimlenen *Lens esculenta* L. Tohumlarındaki Çözünür Protein Bantları Üzerine Etkileri", *Tr. J. of Bot.*, 21 (2):85-88 (1997).
39. Wierzbicka, M. Obidzinska, J., "The effects of lead on seed imbibitions and germination in different plant species", *Plant Science*, 137:155-171 (1998).
40. Holub, Z. and Ostrolucka, G., "The effects cadmium and lead on pollen germination and pollen tube growth in *Quercus cerris*, *Pinus nigra* and *Picea abies*", *Biologia (Bratisl.)*, 38:393-400 (1984).
41. Jackson, J. F. and Linskens, H. F., "Metal ion induced unscheduled DNA synthesis in metabolism by cadmium and lead", *Plant Physiol.*, 54:122-124 (1982).
42. Dou, Z. X., "The pollution in soil and its effects on plants", *Agro-Environ., Prot*, 7(3):38-39 (1988).
43. Jiang, W. S. and Liu, D. H., "Effects of Pb²⁺ on root growth, cell division and nucleolus of *Bressica juncea* L.", *Israel J. Plant Sci.*, 47:153-156 (1999).
44. Godbold, D. L. and Kettner, C., "Lead influences root growth and mineral nutrition of *Picea abies* seedlings", *J. Plant Physiol.*, 139:95-99 (1991).
45. Xiong, Z.-T., "Lead Uptake and Effects on Seed Germination and Plant Growth in a Pb Hyperaccumulator *Brassica pekinensis* Rupr.", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 60:285-291 (1998).
46. Munzuroğlu, O. and Geçkil, H., "Effects of Metals on seed Germination, Root Elongation, and Coleoptile and Hypocotyl Growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 43:203-213 (2002).
47. Lerda, D., "The Effect of Lead on *Allium cepa* L.", *Mutation Research*, 281 (2): 89-92 Feb (1992).
48. Lane, S. D., Martin, E. S., Garrod, J. F., "Lead toxicity effects on indole-3-acetic-induced cell elongation", *Plant*, 144:79-84 (1978).
49. Levan, A., "Cytological reaction induced by inorganic salt solutions", *Nature*, 156:751 (1945).
50. Wierzbicka, M., "Mitotic disturbances induced by low doses of inorganic lead", *Caryologia*, 41:143-160 (1988).
51. Jiang, W., Liu, D., Hou, W., "Hyperaccumulation of lead by roots, hypocotyls, and shoots of *Brassica juncea*", *Biologia Plantarum*, 43 (4): 603-606 (2000).