İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

METAL STRESİNDEKİ *POPULUS TREMULA* L. *(*TİTREK KAVAK) X *POPULUS ALBA* L. (AKKAVAK) 717-1B4' DE EKOFİZYOLOJİK ARAŞTIRMALAR

Tuğçe AĞBA

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

Danışman

Doç. Dr. Gülriz BAYÇU KAHYAOĞLU

II. Danışman

Doç. Dr. Domenico MORABİTO

MAYIS, 2013

İSTANBUL

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

METAL STRESİNDEKİ *POPULUS TREMULA* L. *(*TİTREK KAVAK) X *POPULUS ALBA* L. (AKKAVAK) 717-1B4' DE EKOFİZYOLOJİK ARAŞTIRMALAR

Tuğçe AĞBA

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Programı

Danışman

Doç. Dr. Gülriz BAYÇU KAHYAOĞLU

II. Danışman

Doç. Dr. Domenico MORABİTO

MAYIS, 2013

İSTANBUL

2601100217 öğrenci numaralı Tuğçe AĞBA tarafından hazırlanan bu çalışma 22.05.2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Botanik Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Doç. Dr. Gülriz BAYÇU KAHYAOĞLU (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Doç. Dr. Domenico MORABITO (2. Danışman)
Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures
INRA-ARCHE Université d'Orléans / France

Prof. Dr. Doğanay TOLUNAY
İstanbul Üniversitesi
Orman Fakültesi Toprak ve Ekoloji ABD

Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Y. Doç. Dr. Ergül ÇETİN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Doç. Dr. Tamer ÖZCAN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin **23828** numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

İstanbul Üniversitesi'ndeki Lisans ve Yüksek Lisans öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca gösterdiği her türlü destek ve yardımından dolayı değerli danışman hocam Doç.Dr. Gülriz BAYÇU KAHYAOĞLU'na en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Erasmus öğrenci değişim programı ile gittiğim Fransa Orleans Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (Odunsu Bitkiler ve Tarla Bitkilerinin Biyolojisi) Öğretim Üyelerinden 2. Danışmanım Dr. Domenico MORABİTO'ya bilimsel bilgi birikimini bizimle paylaştığı, değerli fikirleriyle bize yol gösterdiği ve tez çalışmalarım boyunca gösterdiği her türlü destek için teşekkürü bir borç bilirim.

İ.Ü Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyelerinden Yard. Doç. Dr. Ergül ÇETİN'e yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmam ve öğrenim yaşamım boyunca her türlü yardımda bulunan lisans, yüksek lisans ve manevi arkadaşım Selin BÜLBÜL ve yüksek lisans arkadaşlarım Seda KARADAĞ ve Istvan CSATARİ'ye; tez çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimine ve İstanbul Üniversitesi Erasmus Öğrenci Değişim Hareketliliği Koordinatörlüğüne teşekkürü bir borç bilirim.

Gerek tez çalışmalarım ve gerekse tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli annem Keziban AĞBA, babam Mahmut AĞBA ile anneannem Özcan BOZDOĞAN, kuzenim Funda İNCE, arkadaşlarım Gül İpek GÜNDOĞAN, Perihan Sinem ÖZDEMİR ve değerli arkadaşım Sedat SEVENCAN'a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Mayıs, 2013 **Tuğçe AĞBA**

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....İ

İÇİNDEKİLER .....İİ

ŞEKİL LİSTESİ V

TABLO LİSTESİ .....Vİİ

SEMBOL LİSTESİ .....Vİİİ

ÖZET .....İX

SUMMARY X

1. GİRİŞ.....1

2. GENEL BİLGİLER.....4

2.1. AĞIR METALLERİN BİTKİLER ……..…….....4
TARAFINDAN ALINIM VE TAŞINIM YOLLARI

2.2. AĞIR METALLERİN BİTKİLER ÜZERİNE ETKİLERİ.....7

2.3.KADMİYUM ELEMENTİNİN ÖZELLİKLERİ……...7

2.4. KADMİYUMUN ELEMENTİNİN BİTKİLER……..8

ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

2.5. METAL STRESİNDEKİ BİTKİDE GÖRÜLEN TOLERANS MEKANİZMALARI ……..…12

2.6. TOPRAK VE TOPRAK KİRLİLİĞİ…….....15

2.7. YEŞİL ISLAH (FİTOREMEDİASYON) NEDİR? …….....19

2.8. YEŞİL ISLAH (FİTOREMEDİASYON) YÖNTEMLERİ…….……20

2.8.1. Fitoekstraksiyon (Bitkisel Özümleme)……..20

2.8.2. Fitodegredasyon (Bitkisel Bozunum)……22

2.8.3. Fitostabilizasyon (Köklerle Sabitleme)……..…...22

2.8.4.Fitovolatilizasyon (Bitkisel Buharlaşma)……..…….22

2.8.5. Rizodegradasyon (Köklerle Bozunum)…….……23

2.8.6. Rizofiltrasyon (Köklerle Süzme)……..……..…23

2.8.7. Hidrolik Kontrol……...……...….....23

2.8.8. Vejetatif Örtü Sistemleri……..……...……..…….23

2.8.9. Kıyı Tampon Şeritleri…….23

3. GEÇMİŞTE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR…….……..…..25

4. MALZEME VE YÖNTEM……...……..27

4.1. BİTKİ MATERYALİ İLE İLGİLİ BİLGİLER……...…….…...28

4.2. BİTKİ YETİŞTİRİLMESİ VE METAL UYGULAMALAR….....29

4.3. BİTKİLERDE GELİŞİMİN ÖLÇÜLMESİ……31

4.4. GAZ DEĞİŞİMLERİNİN ÖLÇÜLMESİ……...……..32

4.5. BİTKİLERİN SU İÇERİĞİ ÖLÇÜMLERİ……...……..35

4.6. BİTKİ VE TOPRAK ÖRNEKLERİNDE ELEMENT ANALİZİ……36

4.7. TRANSLOKASYON FAKTÖRÜ VE BİYOAKÜMÜLATÖR FAKTÖRÜ ……..…….43

5.BULGULAR…….45

5.1. MORFOLOJİK DEĞİŞİMLER……..45

5.2. FİZYOLOJİK DEĞİŞİMLER……...…..46

5.2.1. Kuru ağırlık (KA) ve Su içeriği (Sİ) ……...…...46

5.2.2. Stoma iletkenliği ve CO_2 asimilasyonu.…….…….……49

5.2.3. Yaprak Alanı Sıralaması…….....50

5.2.4. Yaprak Sayısı ve Bitki Uzunluğu……..53

5.2.5. Toplam Yaprak Alanı ……...……..……..54

5.2.6. Radyal Büyüme……...55

5.2.7. Element Analizleri……..……56

6.TARTIŞMA VE SONUÇ…….……...……60

7.KAYNAKLAR…….……..72

ÖZGEÇMİŞ…….…….80

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.1 : Bitki kök yapısı.....**4**

Şekil 2.1.2 : Bitki hücreleri tarafından element taşınım sistemleri.....**5**

Şekil 2.1.3 : Bitki hücrelerinde inorganik ve organik kirleticilerin **6**
tolerans mekanizmaları

Şekil 2.4.1 : Metallerin birbirleri ile olan etkileşimleri.....**10**

Şekil 2.4.2 : Kadmiyumun bitki içerisindeki olası taşınım.....**11**
yolları ve lokalizasyonu

Şekil 2.5.1 : Bitkilerin ağır metale maruz kaldığı zaman **14**
davrandıkları 4 strateji

Şekil 2.6.1 : Topraklardaki kimyasal kirleticilerin ana tipleri.....**16**

Şekil 2.6.2 : Toprak Kirliliğinin Kontrolü Yönetmeliğine göre toprakta izin **17**
verilen maksimum ağır metal içerikleri(kuru toprakta mg/ kg)

Şekil 2.8.a : Fitoremediasyon türleri.....**24**

Şekil 2.8.1.1 : Kurşun metalinin ekstraksiyonu ve metallerin.....**21**
hücrelerdeki hareketi

Şekil 2.8.2.1 : Fitodegredasyon yöntemi.....**22**

Şekil 4.2.1 : Kum içerisinde köklenme , 1lt lik saksı ve 4lt lik saksı.....**30**

Şekil 4.2.2 : Laboratuvar ortamındaki bitki setleri.....**32**

Şekil 4.3.1 : Dendrometre **32**

Şekil 4.4.1.a : LI-COR 6400XT.....**33**

Şekil 4.4.1.b : LI-COR Cihazı ekipmanları.....**34**

Şekil 4.4.1.c : LI-COR CO_2 ve H_2O yolları.....**35**

Şekil 4.6.1.1 : Örnekler ve toprak eleği.....**36**

Şekil 4.6.1.2 : Yaş yakma işlemi cihazı Berghof Mikrodalga.....**37**

Şekil 4.6.1.3: Berghof Mikrodalganın özel teflon tüpleri **38**

Şekil 4.6.1.4: Ultrapure (Elga) deiyonize su cihazı.....**39**

Şekil 4.6.1.5: Filtrelenmiş örnekler…….....**40**

Şekil 4.6.1.6: ICP'de standart belirleme sınırları.…….....**41**

Şekil 4.6.1.7: ICP cihazında kullanılan kalibrasyon solüsyonu,……..**41**
standartlar ve boş solüsyon

Şekil 4.6.1.8.a: İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi ……..**42**
(Perkin Elmer, ICP-OES 7000 DV)

Şekil 4.6.1.8.b: ICP-OES cihaz tablası ve probu.…….....**43**

Şekil 5.1.1 : 2. Cd stresi ile bitkilerde görülen morfolojik bozukluklar…….....**45**

Şekil 5.2.1.1: Periyotlar süresince organlardaki kuru ağırlık miktarları……..**46**

Şekil 5.2.1.2: Periyotlar süresince organlardaki su içerikleri……..... **48**

Şekil 5.2.2.1: Stoma iletkenliği ve CO_2 asimilasyonu……..…….. **49**

Şekil 5.2.3 : Yaprak Alanı Sıralamaları……..……...**51**

Şekil 5.2.4.1: Yaprak Sayıları……..…….**53**

Şekil 5.2.4.2: Bitki Uzunlukları…….…….....**54**

Şekil 5.2.5.1: Toplam Yaprak Alanı…….**55**

Şekil 5.2.6 : Radyal Büyüme…….…….**56**

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Önemli ağır metallerin ekolojik sınıflandırılması ……..... **2**

Tablo 2: Farklı Nitelikteki Materyallerin Kadmiyum İçerikleri ……..……**9**

Tablo 3: Yerkabuğu tabakası ve sedimentlerin element bileşimleri **……..17**

Tablo 4: Türkiye Toprak Kontrolü Yönetmeliği sınır değerlerinin…….....**18**
AB ülkelerinin kendi ülkelerinde kabul edilmiş sınır değerleriyle karşılaştırılması

Tablo 5 : Farklı sürelerde farklı Cd konsantrasyonları uygulanmış…….....**58**
Populus tremula x *P. alba* (717-1B4 genotip) bitkilerinin organlarında element analizleri (mg/kg).

Tablo 6 : Farklı sürelerde farklı Cd konsantrasyonları uygulanmış……**60**
Populus tremula x *P. alba* (717-1B4 genotip) bitkilerinin topraklarındaki element analizi (mg/kg).

Tablo 7 : Toprakta Cd Birikimi, Sınır ve Fitotoksisite Değerleri……**68**

Tablo 8 : Biyokonsantrasyon Faktörü (BCF), Translokasyon faktörü (TF)……**69**
ve Transfer Katsayısı

SEMBOL LİSTESİ

°C: Santigrat

Cd: Kadmiyum

Cr: Krom

Cu: Bakır

Fe: Demir

Hg: Cıva

HNO_3: Nitrik Asit

Cu: Bakır

ml: Mililitre

Ni: Nikel

Mo: Molibden

Pb: Kurşun

ppm: Milyonda bir

T.A. : Taze Ağırlık

K.A. : Kuru Ağırlık

Zn: Çinko

µ: Mikron

ÖZET

METAL STRESİNDEKİ *POPULUS TREMULA* L. *(*TİTREK KAVAK) X *POPULUS ALBA* L. (AKKAVAK) 717-1B4' DE EKOFİZYOLOJİK ARAŞTIRMALAR

Orman ekosistemi, ekonomik ve ekolojik açıdan özel bir önem taşımaktadır. Ancak bu ekosistemin çok yıllık ağaçlarının ve odunsu bitkilerinin stres fizyolojileri tam olarak anlaşılamadığından yeni araştırmalar gereklidir.

Kadmiyum (Cd), insanlar, hayvanlar ve bitkiler için toksik, yaygın olarak bulunan, biyolojik yarı-ömrü uzun ve kirletici bir ağır metaldir. Bu metal, ağırlıklı olarak endüstriyel prosesler, fosfatlı gübreler ve atmosferik presipitasyonlar sonucunda tarımsal topraklara girebilir ve ardından besin zincirine transfer olabilir. Kavak ağaçlarının, ağır metalleri önemli miktarlarda absorplayarak topraküstü organlarında biriktirebilme yeteneği, substrattaki kirleticilerin uzaklaştırılmasında kullanımlarını sağlamaktadır. Ancak, kavak ağacının organları ve odunsu dokuları arasındaki metal dağılım profilini açıklayan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu amaçla, Cd'un *Populus tremula x Populus alba* (genotip INRA 717-1B4)' daki kümülatif etkilerini anlayabilmek için ardışık iki Cd konsantrasyonu (3.2 mmol ve 16 mmoles Cd) uygulanmıştır. Uygulama süresince, toplam yaprak alanı ve çeliklerin çapı (radyal büyüme) ölçülmüştür. Net fotosentez hızı ve yaprak stoma iletkenliğinin su buharına dönüşümü tamamen gelişmiş yaprak üzerinde saptanmıştır. Farklı zamanlarda yürütülen iki stres uygulamasının sonucunda, genç ağaçların farklı organlarındaki (kök, yaprak ve odun dokuları) iyon dağılımı ICP-OES ile belirlenmiş ve ağaç metabolizmasına etkileri değerlendirilmiştir.

Yapılan analiz sonuçlarına göre her iki periyotta da bitki su içerikleri ve yaprak sayılarında herhangi bir değişim görülmedi. İkinci periyotta kuru ağırlıklarda indirgenme, bodurluk, klorozis, nekrozis, stoma iletkenliğinde bozulma, fotosentez ve radyal büyümede azalma belirlenirken, ilk periyotta değişmedi. Bitki uzunlukları ve yaprak alanları ise her iki periyotta da değişiklik göstermiştir. İyon dağılımlarına göre ise her iki uygulamada da Cd en fazla kökte birikim göstermiştir. Bu sonuçlara göre *Populus*'un fitoremediasyon ve özellikle de fitostabilizasyon için potansiyel bir bitki olabileceğini düşünmekteyiz.

ANAHTAR KELİMELER

Ağır metal**,** Kadmiyum**,** *Populus***,** Stres**,** Fitoremediasyon

SUMMARY

ECOPHYSIOLOGICAL INVESTIGATIONS IN METAL STRESSED *POPULUS TREMULA* L. *(*TREMELOUS POPLAR) X *POPULUS ALBA* L. (WHITE POPLAR) 717-1B4

The forest ecosystem is of particular importance from an economic and ecological perspective. However, the stress physiology of trees, perennial and woody plants, is far from being fully understood. Cadmium is a heavy metal toxic for humans, animals and plants. It is a widespread trace pollutant with a long biological half-life.

Cadmium (Cd) heavy metal enters agricultural soils mainly from industrial processes, phosphate fertilizers and atmospheric deposition, and then it could be transferred to the food chain. The ability of *Populus* to absorb and accumulate significant quantities of heavy metals in aerial parts offers the possibility to use them for removing pollutants from their substrate. However, scarcely any studies have attempted to describe the profile of metal distribution among the tree organs and the wood tissues.

For that purpose, *Populus tremula x Populus alba* (genotype INRA 717-1B4) was exposed to two consecutives Cd concentrations (3.2 mmoles and 16mmoles Cd) in order to better understand the cumulative effects Cd. During the treatment, the total leaf area and the diameter of the cuttings (radial growth) were measured. The net photosynthetic rate and the leaf stomatal conductance to water vapour were also measured on the last fully expanded leaf. At the end of the two stress time courses, we have determined the ion distribution in the different organs (roots, leaves and wood tissues) of young trees by ICP-OES and evaluated their effects on tree metabolism.

According to the results of our analysis, plant water contents and leaf numbers have not shown any change in both Cd application period. In the second application period, we have determined decreases in dry weights and stomatal conductance, stunted growth, chlorosis, necrosis, inhibition in photosynthesis and radial growth. No change was observed in the first period. In both periods, plant lengths and the area of leaves ranged differently. For the distribution of ions in each period, Cd accumulation showed higher accumulation in roots. According to these results, we think that *Populus* might be a good candidate for phytoremediation, especially for phytostabilization.

KEY WORDS

Heavy metal **,** cadmiyum**,** *Populus***,** stress**,** phytoremediation

1. GİRİŞ

Ağır metal tanımı fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm^3'den daha büyük olan metaller için kullanılır. Bu grupta yer alan kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, cıva ve çinko başta olmak üzere altmıştan fazla metal doğaları gereği, yerkürede genellikle karbonat, oksit gibi kararlı bileşik olarak veya silikatlar içinde tutularak bulunurlar (Eren, 2003).

Birçok ağır metal, d-orbitallerinin tamamen dolu olması nedeniyle geçiş elementleridir. Bu d-orbitalleri ağır metal katyonlarına redoks tepkimelerine girebilen veya giremeyen herhangi bir bileşik ile karmaşık yapı oluşturmasını sağlamaktadır. Bu nedenle, ağır metaller birer iz element olarak birçok karmaşık biyokimyasal reaksiyonda önemli rol oynamaktadır. Örneğin Ca(II), Co(II), Cr(VI), Cu(II), Fe(II), K(I), Mg(II), Mn(II), Na(I), Ni(II) ve Zn(II) gibi metaller temeldir ve besiyerlerine eklenmeleri gerekmektedir. Bu metaller, mikrobesin olarak redoks tepkimelerinde, moleküllerin elektrostatik etkileşimlerini kararlı tutmak ve ozmotik basıncı kontrol etmek için enzimlerin bileşenleri şeklinde kullanılırlar. Fakat Ag(I), Al(I), Au(II), Cd(I), Pb(II) ve Hg(II) gibi ağır metallerin biyolojik bir önemleri yoktur ve bu metaller temel değillerdir. Aynı zamanda besinsel değerleri de yoktur (Dönmez ve Kılıç. 2008).

Tablo 1. Önemli ağır metallerin ekolojik sınıflandırılması (Yıldız, 2004)

ELEMENT	**g/cm^3 özgül ağırlık**	**Bitki ve hayvan için gereklilik**	**Kirletici olup olmadığı**
Ag Gümüş	10.5	–	K
Cd Kadmiyum	8.5	–	K
Cr Krom	7.2	G	K
Co Kobalt	8.9	G	K
Cu Bakır	8.9	G	K
Fe Demir	7.9	G	K
Hg Civa	13.6	–	K
Mn Mangan	7.4	G	–
Pb Kurşun	11.3	–	K
Mo Molibden	10.2	G	K
Ni Nikel	8.9	G	K
Pt Platin	21.5	–	–
Tl Talyum	11.9	–	K
Sn Kalay	7.3	–	K
U Uranyum	19.1	G	K
V Vanadyum	6.1	G	K
W Tungstem	19.3	G	K
Zn Çinko	7.1	G	K
Zr Zirkon	6.5	–	–

K:Kirletici
G: Gerekli

Nüfustaki hızlı artış, enerji ve besin yetersizliği, düzensiz kentleşme, insanların aşırı tüketim isteği ve baş döndürücü bir hızla gelişen teknolojik ilerlemeler, çevre kirliliği sorununun önemini iyice hissettirir hale getirmiştir (Sağlam ve Cihangir, 1995). Toprakta ağır metal kirliliği önemli çevresel problemlerden birisidir. Ağır metallerin toprakta birikmesinin sadece toprak verimliliği ve ekosistem fonksiyonları üzerinde

değil aynı zamanda besin zinciri yoluyla havyan ve insan sağlığı üzerinde de önemli etkileri vardır (Asri ve Sönmez, 2006).

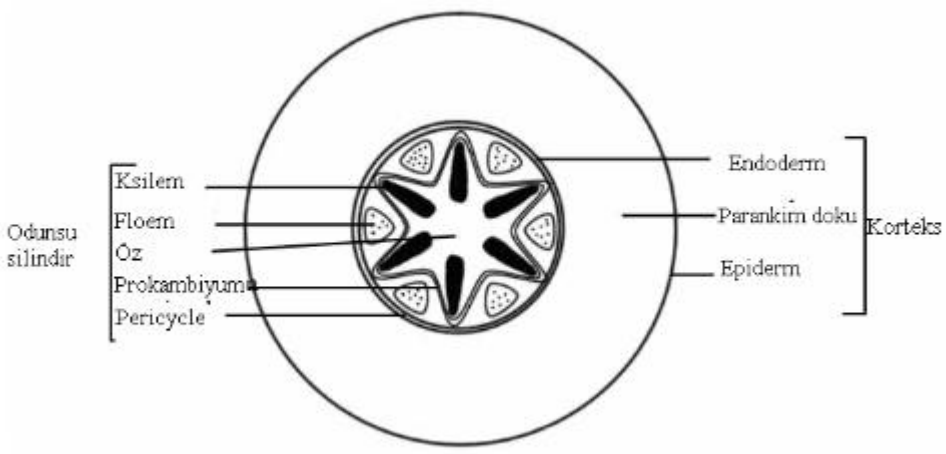
Günümüzde giderek artan bu kirlilik ve etkilerini araştırmak için; bizim çalışmamızda Orleans Üniversitesi (Fransa) LBLGC (Laboratoire de Biologie des Ligneux et des Grandes Cultures / Odunsu Bitkiler ve tarla Bitkilerinin Biyolojisi) Laboratuarında yetiştirilen *Populus tremula* L. (Titrek kavak) X *Populus alba* L. (Akkavak) 717-1B4 hibrit bitkileri kullanılmıştır. Cd stresi altında bitkilerin ağır metal toksisitesi, iyon birikimi, tolerans mekanizması, fitoremediasyon uygulanabilirliği ve/veya ekorestorasyon için kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda bitkilerde Cd birikimi ve diğer elementlerle etkileşimi ile fizyolojik ve ekolojik değişimleri incelenmiştir. Daha önce bu bitkiyle benzer nitelikteki bir çalışmaya rastlanmadığından literatüre yeni bilgi ve görüş kazandıracağı, ayrıca fitoremediasyon çalışmalarına da yeni fikirler ve uygulama alanları sağlayacağı görüşündeyiz.

2.GENEL BİLGİLER

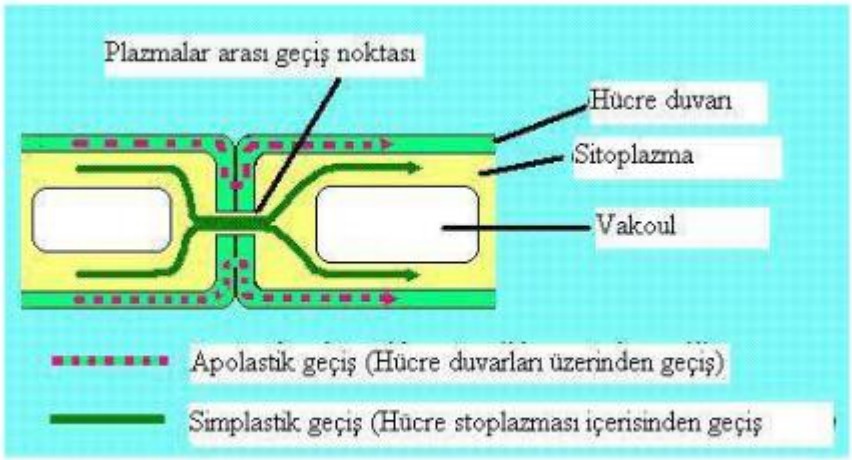
2.1. AĞIR METALLERİN BİTKİLER TARAFINDAN ALINIM VE TAŞINIM YOLLARI

Bitkiler tarafından element alımı, genel olarak bitkinin alım sistemleri ve türe özel gereksinimler dışında toprağın bu elementi bulundurma kapasitesine ve toprak çözeltisindeki kimyasal erişebilirliğine bağlı olarak değişir. Ayrıca katyon değişim kapasitesi ile organik madde içeriği gibi toprak özelliklerine göre de değişir. Elementler, toprakta hareketlenmelerini takiben bitkinin kök hücreleri tarafından tutulur. Önce hücre duvarına bağlanan elementler, daha sonra taşıyıcı sistemler ve hücre içi bağlanma bölgeleri ile düzenlenerek plazma membranından geçer (Şekil 2.1.1). Element iyonlarının alımının kanal proteinleri ve / veya taşıyıcı proteinler tarafından gerçekleştirildiği düşünülmektedir. Plazma membranın iç kısmının (-) yüklü olması katyonların alımı için geçiş üstünlüğü sağlamaktadır (Clemens ve ark., 2002).



Şekil 2.1.1: Bitki kök yapısı.

Bitkiler, kirleticinin çözünürlüğünü ve bitkiye alınımını etkileyen bileşikleri köklerinden serbest bırakabilir. Bitki dokuları içindeki kelatör bileşikler ve organik asitler (sitrat, malat, histidin), organik ve inorganik bileşiklerin taşınımı, etkisizleştirilmesi ve toleransında rol oynayabilir. Köklerdeki kelatlı metaller vakuolde depolanabilir ya da ksilem aracılığıyla gövdeye taşınabilir. Organik bileşikler ise konjuge olabilir, depo edilebilir ya da enzimatik olarak parçalanabilirler. Kökten gövdeye taşınım ilk olarak kök simplastından, ksilem apoplastına membran taşınımı gerektirmektedir (Şekil 2.1.2.).



Şekil 2.1.2: Bitki hücreleri tarafından element taşınım sistemleri

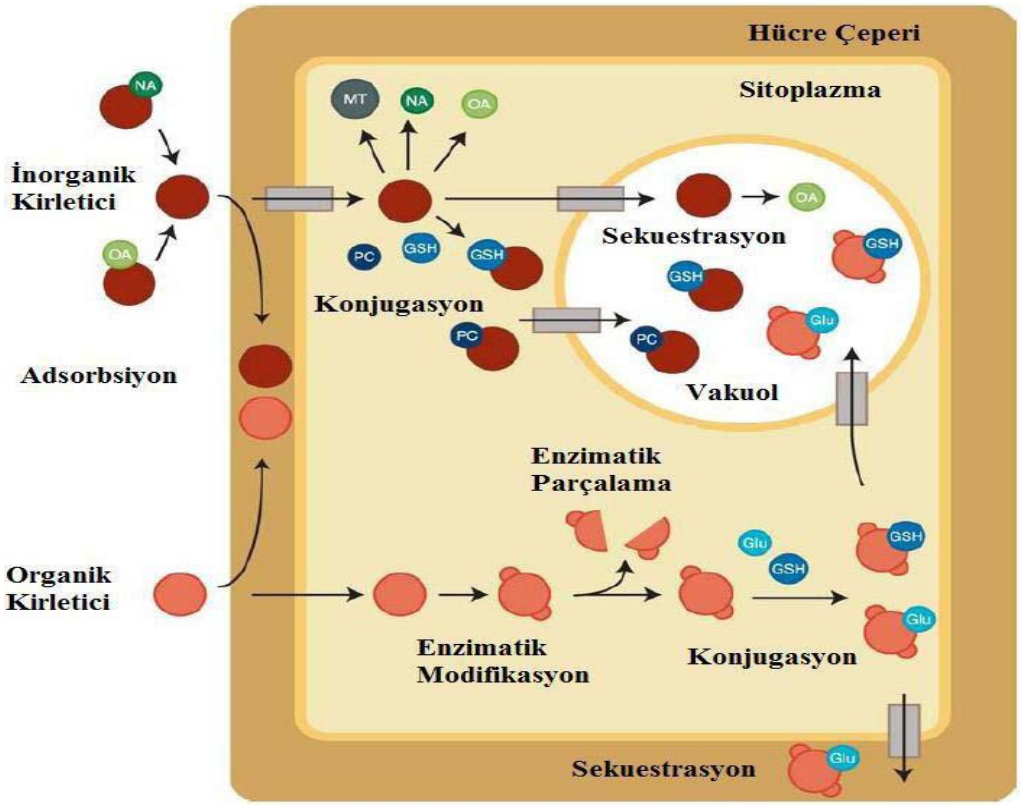
Kök endodermisindeki Kaspari şeridi (hücre çeperinde bulunan geçirgen olmayan suberin tabaka) toprak çözeltisinden ya da kök apoplastından kök ksilemine suda çözünmüş maddelerin geçişini engellemektedir. Organik kirleticiler kök simplastı ve ksilem apoplastı arasındaki zardan basit difüzyonla geçer. Yaprak ksileminden yaprak hücrelerine madde alınımı bir diğer membran taşınım basamağını içermektedir. İnorganik bileşikler spesifik membran taşıyıcı proteinler tarafından alınırlar. Organik bileşikler gövde ksileminden yaprak simplastına basit difüzyonla geçerler. Kirleticiler yaprak simplastına girdikten sonra belli doku ya da hücresel alanlara taşınabilir. Toksik kirleticiler genellikle temel hücresel süreçler ile daha az zararlı olabildikleri yerlerde etkisiz hale getirilirler. Kirleticiler hücresel düzeyde genellikle vakuol ya da hücre çeperinde biriktirilirken, doku seviyesinde ise epidermis ve trikomlarda biriktirilebilirler. Kirleticilerin dokularda etkisiz hale getirilmeleri genellikle kelatörler ya da konjugat formlarıyla bağlanmaları ile olur. Sonuç olarak organik kirleticilerin akümülasyonu, kimyasal modifikasyon, konjugasyon ve etkisizleştirme (sekuestrasyon)

olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır (Şekil 2.1.3). Enzimler ve taşıyıcıların bazı doğal fonksiyonları; flavonoidler, alkaloidler, bitki hormonları ve abiyotik streslere karşı savunma gibi doğal bitkisel bileşiklerin biyosentezini ve taşınımını içermektedir. Parçalama ile fitoremediasyon sadece organik bileşikler için geçerlidir. İnorganik elementler parçalanamazlar ve sadece stabilize edilebilirler, taşınırlar ya da depo edilirler. Kirleticinin alınımı ya da taşınımı;

I. Transformasyon reaksiyonları (oksidasyon, indirgenme, hidroliz)

II. Konjugasyon reaksiyonları

III. Dağıtım (kompartmantasyon) (vakuol, hücre çeperi) (Epa, 2000).



Şekil 2.1.3: Bitki hücrelerinde inorganik ve organik kirleticilerin tolerans mekanizmaları. Detoksifikasyon genellikle konjugasyonu takiben apoplast ve vakuolde kirleticinin daha az zararlı hale getirildiği aktif sekuestrasyonu içerir. kelatörler GSH: glutatyon, Glu: glukoz, MT: metalohiyoninler, NA: nikotianamin, OA: organik asitler, PC: fitokelatinler kısaltmaları olarak aktif taşıyıcılar ise kutu içindeki ok işaretleriyle gösterilmiştir.

2.2. AĞIR METALLERİN BİTKİLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Ağır metallerin çevreye yayılmasına neden olan etmenlerin başında endüstriyel faaliyetler, motorlu taşıtların egzozları, maden yatakları ve işletmeleri, volkanik faaliyetler, tarımda kullanılan gübre ve ilaçlar ile kentsel atıklar gelmektedir (Stresty ve Madhava Rao, 1999). Ekosfere ulaşan ağır metallerden çinko, mangan, kobalt, bakır, nikel ve molibden bitki gelişimi için mutlak gerekli iken alüminyum, vanadyum, arsenik, cıva, kurşun, kadmiyum ve selenyum toksik etkilidir. Bitki gelişimi için mutlak gerekli element olsun veya olmasın ağır metallerin doku ve organlardaki aşırı birikimi bitkilerin vejetatif ve generatif organlarının gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir (Gür ve ark., 2004). Ağır metaller bu toksik etkileri nedeniyle bitkilerde transpirasyon, stoma hareketleri, su alımı, fotosentez, enzim aktivitesi, çimlenme, protein sentezi, membran stabilitesi, hormonal denge gibi birçok fizyolojik olayın bozulmasına neden olmaktadırlar (Kennedy ve Gonsalves, 1987).

Toksisite, metalden metale değişebildiği gibi, organizmadan organizmaya da değişebilmektedir. Olumlu veya olumsuz (toksik) etkiler yalnızca elementin tipi ve konsantrasyonuna bağlı olmayıp değişik türlerin genetik esaslı fizyolojik davranışları ile de ilgilidir (Haktanır ve Arcak, 1998). Asri ve Sönmez'e göre (2006) ise bitki bünyesine ulaşan ağır metaller bitkilerin fizyolojik aktivitelerini engellemekte, verimliliklerini azaltmakta ve ölümlerine neden olmakta dolayısıyla ürün kalite ve miktarının azalmasına yol açmaktadırlar.

2.3. KADMİYUM ELEMENTİNİN ÖZELLİKLERİ

Kadmiyum sembolü **''Cd''**, atom numarası 48 ve atom ağırlığı 112,411g/mol, yoğunluğu 8,7g/cm^3 olan bir geçiş elementidir. Periyodik çizelgenin II B grubunda yer alır. 1817′de Fridrish Strohmeyer tarafından bulunmuştur. Cd yerkabuğunda doğal bir unsurdur fakat doğada saf olarak bulunmaz. Genellikle; oksijen (kadmiyum oksit), klor

(kadmiyum klorür), veya sülfür (kadmiyum sülfat, kadmiyum sülfür) gibi diğer unsurlar ile birlikte bir mineral olarak bulunur. Önemli bir kirletici olmasının nedeni çok düşük dozlarda bile toksik olması ve biyolojik yarı ömrünün uzun olmasıdır (Goyer, 1991; Lyons ve ark., 1996).

Cd, çinko (Zn) üretimine eşlik eden bir metal olarak bilinmektedir. Zn üretiminde ortaya çıkıncaya kadar havaya, yiyeceklere ve suya doğal süreçlerle önemli miktarlarda karışmamıştır. Ancak günümüzde kadmiyum da çevre kirliliğine sebep olan ağır metaller arasında yerini almıştır. Cd endüstriyel olarak nikel/kadmiyum pillerde, korozyona karşı özellikle deniz koşullarına dayanımı nedeniyle gemi sanayinde çeliklerin kaplanmasında, boya sanayinde, PVC stabilizatörü olarak, alaşımlarda ve elektronik sanayinde kullanılır. Ayrıca kirletici olarak fosfatlı gübrelerde, deterjanlarda ve rafine petrol türevlerinde bulunur ve bunların çok yaygın kullanımı sonucunda da önemli miktarda Cd kirliliği ortaya çıkar (Kahvecioğlu ve ark., 2007).

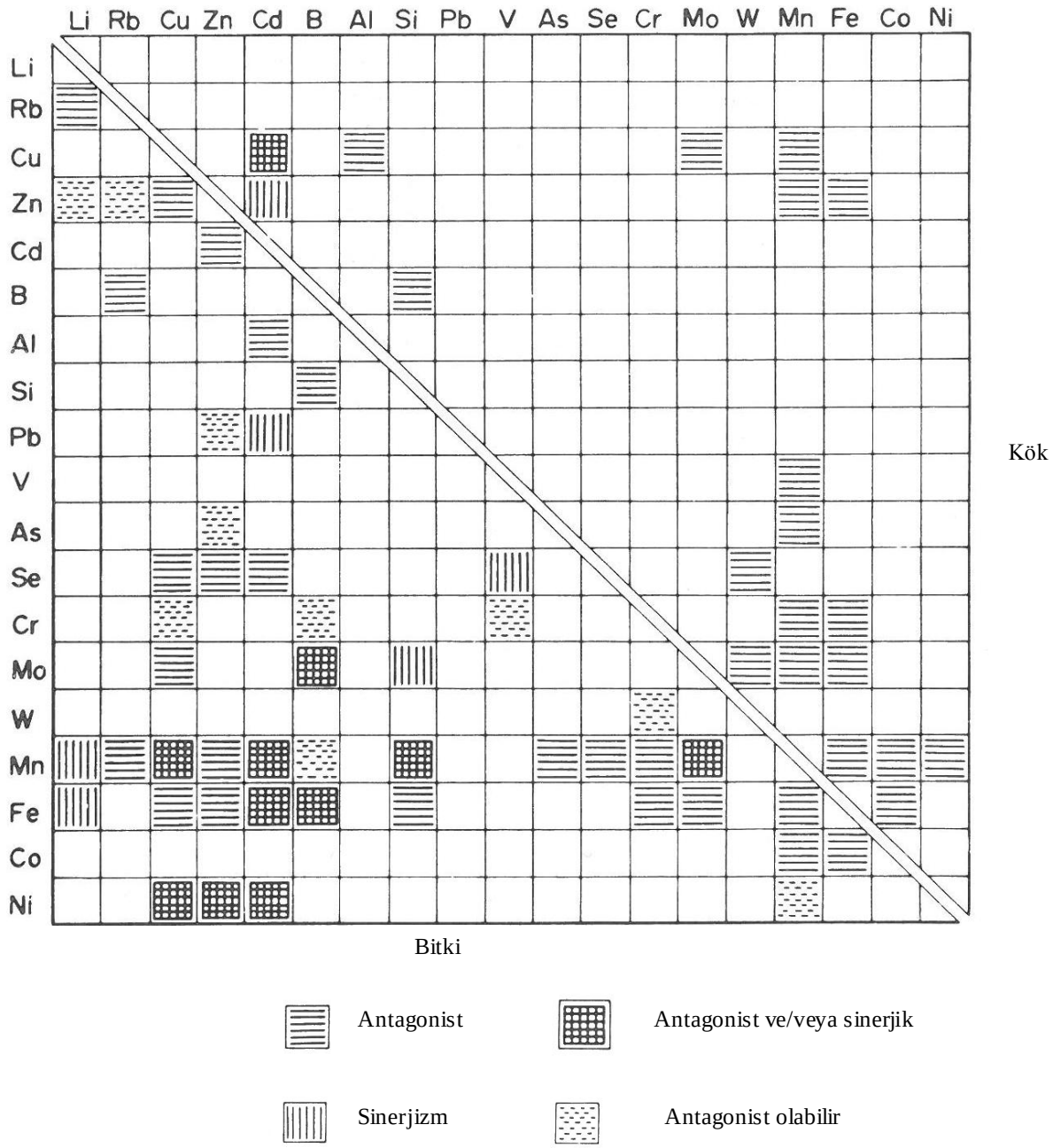
2.4. KADMİYUMUN ELEMENTİNİN BİTKİLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Cd bitki yaşamında daha çok toksik etkileri ile bilinen bir elementtir (Jiang ve Li, 1989; Çatak ve ark, 2000). Bitki yaşamını etkileyen en önemli Cd kaynakları; su boruları, kömür yakılması, tohum aşamasında ve endüstriyel üretim aşamasında kullanılan gübreler ve endüstriyel üretim aşamalarında oluşan baca gazlarıdır (Kahvecioğlu ve ark, 2007) (Tablo 2). Havada normal derişim sınırları arasında bulunan Cd; kuru ve yaş birikim süreçleri sonucunda toprağa, buradan da bitkiler aracılığı ile besin zincirine geçer. Havadaki derişiminin artması sonucunda, topraktaki Cd birikiminin artacağı ve bunun farklılaşarak topraktaki asitleşmeyi fazlalaştırmasıyla bitkiler tarafından alınan Cd miktarının da artacağı belirlenmiştir (Güney, 2007). Toprakta 3 mg/kg, bitki kuru maddesinde ise 1 mg/kg'dan fazla Cd toksik etkilidir (Özbek ve ark, 1995). Bitki ve topraklara ulaşan kadmiyumun büyük kısmı Cd içeren toz zerreciklerinin havadan çökelmesi yolu ile olmaktadır (Haktanır, 1987).

Tablo2. Farklı Nitelikteki Materyallerin Kadmiyum İçerikleri (Haktanır, 1987).

Materyalin Cinsi	Cd İçerikleri (ppm)
Kömür	1-2
Motor Yağları	0,5
Taşıt Lastikleri	20-90
Süper fosfat	38-48
Ham fosfatlar	31-90
Yer kabuğu (ort.)	0,18
Kirlenmemiş Topraklar	1
Kirlenmiş Topraklar	1-53

Metallerin sorbsiyon verimliliğinde, ortamda bulunan metal çeşidine ve sayısına, bu metallerin kendine has özelliklerine bağlı olarak sinerjik ve antagonistik etki görülmektedir (Tablo 3) (Ting ve ark, 1991,Volesky ve ark, 1993). Yani bir metal diğer bir metalin birikim miktarını sinerjik ve antagonistik şekilde etkileyebilmektedir. (Örneğin bazı alg türlerinde Cd ve Zn'un antagonistik etkisi veya metallerin membran transportunda Ni^{+2} ve Cu^{+2} in sinerjik etkisi gibi)(Şekil 2.4.1).

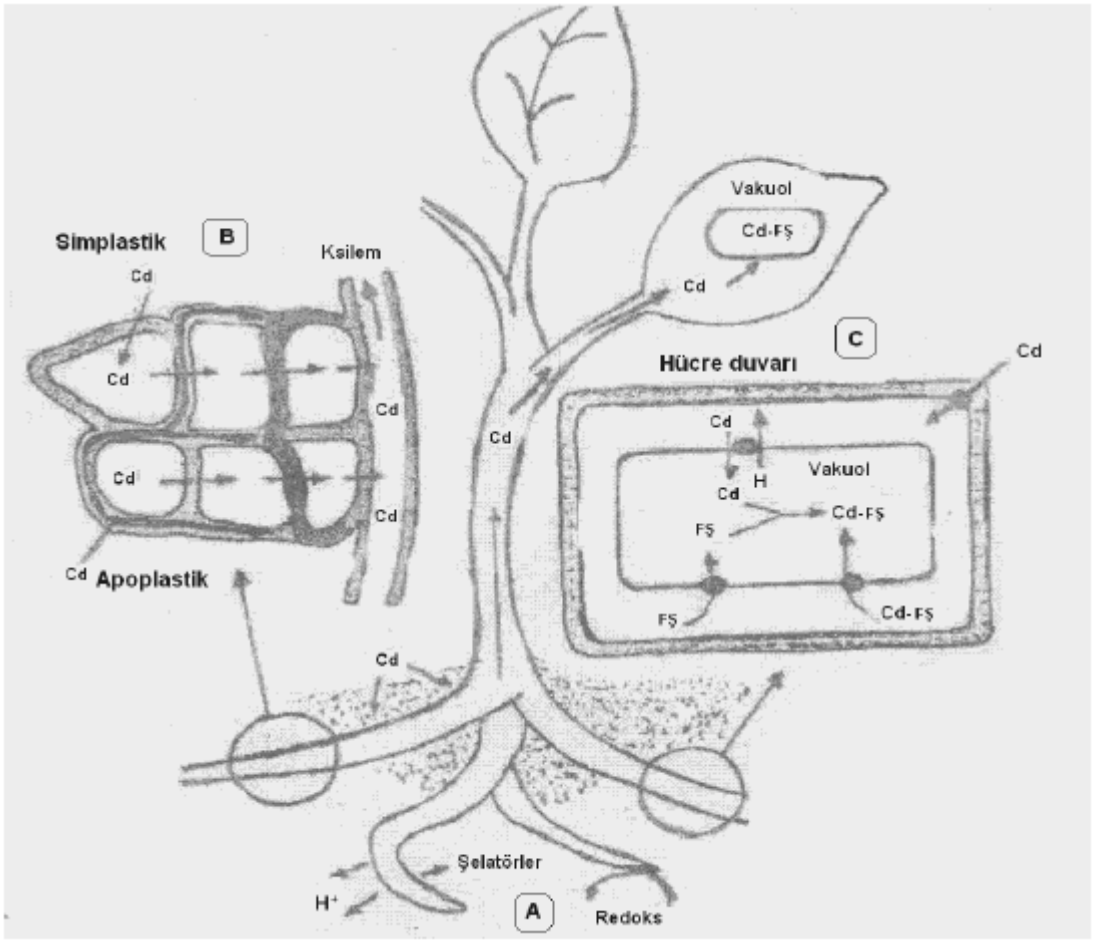


Şekil 2.4.1: Metallerin birbirleri ile olan etkileşimleri.

Topraktan mineral alım kabiliyetine etki edebileceği gibi toprak mikroorganizmalarının da azalmasına neden olabilir (Moreno, 1999). Üstelik Cd yüksek hareketliliğe sahip olması ve bitkide düşük konsantrasyonlarda bulunsa dahi toksik etki etmesinden dolayı en tehlikeli metallerden biridir (Barcelo ve Poschenrieder, 1990). Bitkide farklı taşınabilirlik kabiliyetlerine sahip metal iyonları olmasına rağmen metallerin temelde ilk bulundukları yer köklerdir ve dolayısıyla kökler ilk olası Cd zararına uğrayacak

organlardır. (Sanita ve Gabriella, 1999). Böylece kadmiyum emilimi apoplastik ve simplastik yollarla olur ve kortekse ilişkin dokulara ulaşır (Yang ve ark, 1998; Salt ve ark, 1995a). Daha sonra organik asit ve fitokelatin gibi reseptörler aracılığı ile yukarı ve aşağı dokular arasında taşınımı sağlanır (Senden ve ark, 1992,1994; Salt ve ark, 1995b) (Şekil 2.4.2.). Buna rağmen Cd iyonları temel olarak köklerde biriktirilir ve bitki boyunca azalarak ilerler:

kök>gövde>yaprak>meyve>tohum (Blum, 1997). Yaprak yüzeyinden Cd geçişi ise difüzyon yoluyla mümkün olabilmektedir, bu yolla alınan Cd köklerle alınan kadmiyumla kıyaslanamayacak kadar azdır (Streit ve Stumm, 1993).



Şekil.2.4.2: Kadmiyumun bitki içerisindeki olası taşınım yolları ve lokalizasyonu (Salt ve ark, 1995).

Cd, bitki bünyesinde azot ve karbonhidrat metabolizmalarını değiştirmesi nedeniyle birçok fizyolojik farklılığa neden olmaktadır. Proteinlerin –SH gruplarındaki enzimleri

inaktive etmekte, fotosentezi engellemekte, stomaların kapanmasına, transpirasyon ile su kaybının azalmasına ve klorofil biyosentezinin bozulmasına neden olmaktadır (Sheoran ve ark, 1990). Aşırı kadmiyum dozlarının klorofil biyosentezini bozmasının en önemli nedeni klorofil biyosentezinde görev yapan protoklorofil reduktaz ile aminolevulinik asit sentezini engellemesidir. Ayrıca ağır metallerin serbest radikal oluşumuna yol açtığı ve bu yolla tilakoid membran lipitlerinin oksidatif yıkımına neden olduğu, bu gibi durumlarda ise klorofil yıkımının arttığı ve sentezinin engellendiği bilinmektedir (Zengin ve Munzuroğlu, 2005). Cd'un bitki bünyesine girdiği anda kök ve sürgün büyümesini engellediği gibi çoğu kez yaprak yuvarlanması, klorosis ve nekrozis oluşumuna neden olduğu saptanmıştır Hücre uzaması baskılanmasına bağlı olarak proton pompasında geri dönüşsüz inhibisyon da Cd 'un büyüme üzerine etkisi ile bağlantılıdır (Kieffer ve ark, 2008).

2.5. METAL STRESİNDEKİ BİTKİDE GÖRÜLEN TOLERANS MEKANİZMALARI

Bitkilerin ağır metal toksisitesine karşı toleransları bitki türüne, element türüne, strese maruz kalma süresine ve strese maruz kalan doku veya organın yapısına bağlı olarak değişmektedir (Gür ve ark, 2004). Bu nedenle bitkilerin bu stres koşullarına tepkilerinin ve geliştirdikleri uyum mekanizmalarının bilinmesi gerekmektedir. Bitkilerin ağır metal toksisite tolerans sınırlarının bilinebilmesi için metal tür ve miktarı, yarayışlılığı, zararın şiddeti ve türü ayrıca zarar oluşum süreci göz önüne alınmalıdır. Bu özelliklerin bilinmesi, bitkilerin gelişimi ve canlılığı açısından oldukça önemlidir (Paschke ve ark, 2005).

Stres (baskı) faktörleri, bitkileri yaşamlarının herhangi bir döneminde ortaya çıkarak etkileyen ancak değişik tepkilerin alınmasına yol açabilen diğer bir deyişle özellikleri birbirine benzemeyen bitkileri değişik olarak etkileyen çevresel etmenlerdir. Doğadaki çok çeşitli biyotik ve abiyotik çevre etmenleri bitkilerde strese neden olurlar. Biyotik ve abiyotik stres etmenlerinin etkisi altında bitkilerde ortaya çıkan değişimler de stres olarak tanımlanır. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak

bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, üründe nitelik ve nicelik kaybına (ürün kalitesinin ve miktarının azalmasına), bitkinin veya organların ölümüne yol açabilmektedir.

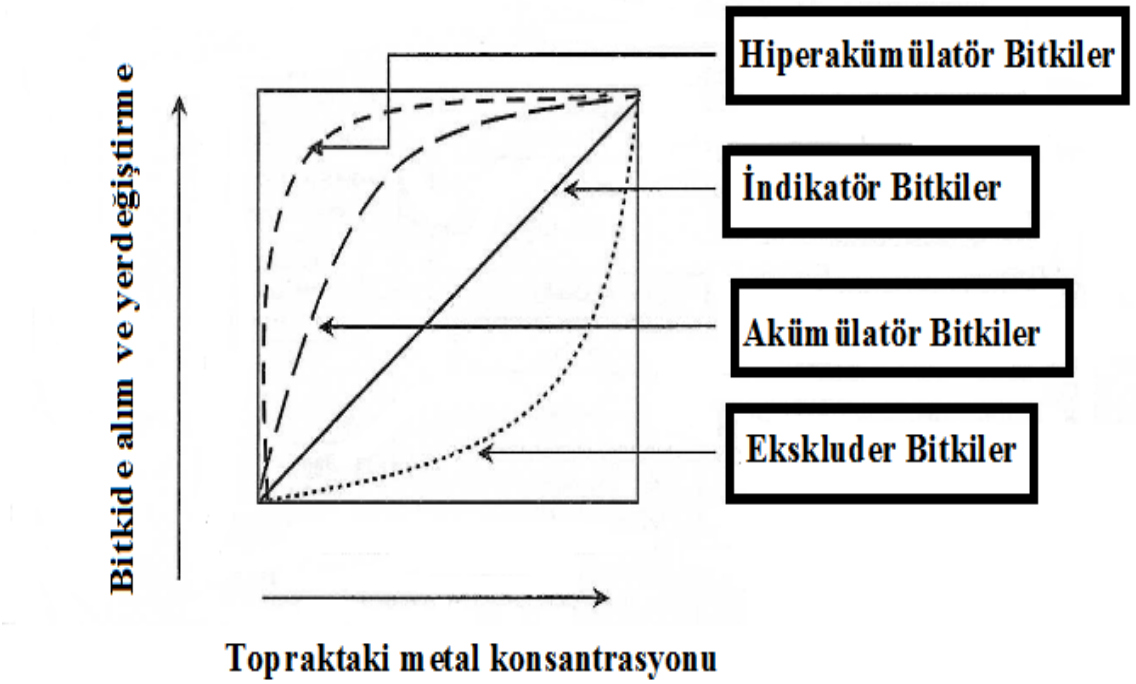
Levitt,(1972)'e göre ise stres, canlı organizma için uygun olmayan herhangi bir çevre faktörüdür. Direnç ise, bir bitkinin stres faktörünün zararlı etkilerine karşı koyabilme kapasitesidir ve Levitt (1980)' e göre ikiye ayrılmaktadır:

1.Stresten kaçınma

2.Strese karşı tolerans gösterme

Kaçınma mekanizmaları membran geçirgenliğinin değişimi, hücre çeperinin metal tutma kapasitesinin artması, metallerle kelat oluşturacak maddelerin salgılanması ile metal alımının sınırlanması esasına dayanmaktadır (Farago ve ark, 1980; Thurman ve Collıns,1983; Baker, 1990; Verkleu ve Schat, 1990).

Tolerans mekanizmaları ise, hücrede metal-bağlayan bileşiklerin(fitokelatin) oluşumu, metallerin vakuol ve hücre çeperi gibi belli bölmelerde birikimi, enzim sentezinin artması veya enzim yapısının değiştirilmesi gibi hücre metabolizmasında meydana gelen değişiklikler ile kökten gövdeye taşınmanın sınırlanmasını da içermektedir (Baker, 1978). Bitkiler topraktaki yüksek metal konsantrasyonunu tolere etmek için etkili mekanizmalar geliştirmişlerdir (Şekil 2.5.1) (Baker ve Walker, 1990).



Şekil 2.5.1 Bitkilerein ağır metale maruz kaldıgı zaman davrandıkları 4 strateji.

- **İndikatör bitkiler**

Bu bitkiler topraktaki metalleri toprak üstü dokularında biriktirirler. Dokulardaki birikim topraktaki metal miktarını belirtir. Bir ekosistemde, en küçük çevresel değişimlere bile duyarlı olması nedeniyle, çevre koşulları konusunda bilgi sağlayan ve çevresel tehlikelerle ilgili erken uyarılarda bulunan türlerdir.

- **Ekskluder (metal tutucu) bitkiler**

Geniş bir alandaki toksik metallerin alınımını sınırlayan bitkilere ekskluder bitkiler denir. Birçok ekskluder bitki kirlenmiş topraklarda sadece canlı kalmaz, ayrıca yüksek ağır metal konsantrasyonu içeren topraklarda çok az bir miktar bünyelerinde bulundurarak canlı kalabilirler (Wenzel ve ark, 2003). Ekskluder bitkiler bulunduğu ağır metallerle kirlenmiş topraktan toksik sınırlarının altında ya ağır metal bulundurur ya da yüksek konsantrasyondaki ağır metalleri köklerinde bulundurup toprak üstü kısımlara iletmezler.

- **Akümülatör bitkiler**

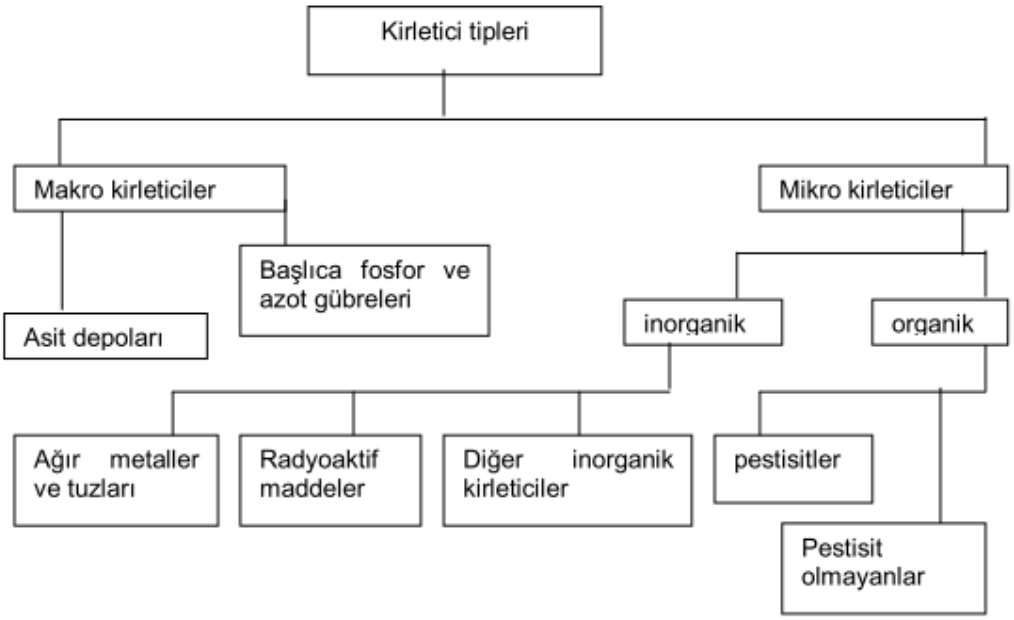
Bünyesinde toksik septomları göstermeden topraktaki metal konsantrasyonu yansıtan bitkilere akümülatör bitkiler denir. Topraktaki konsantrasyon bitkidekinden çok daha fazladır.

- **Hiperakümülatör bitkiler**

Bu bitki türleri topraktaki metallerden veya metal akümüle etmeyen bitkilerden çok daha yüksek seviyede metal bulundururlar. Yapraklarında kuru ağırlık olarak %0,1 Ni, Co, Cu, Cr, Pb veya % 1 Zn'den fazla metal içeren bitkiler hiperakümülatör olarak tanımlanır (Baker, 1995). Hiperakümülatör bir bitki 10 ppm' den fazla Hg, 100 ppm' den fazla Cd, 1000 ppm' den fazla Co, Cr, Cu ve Pb ve 10000 ppm' den fazla Ni ve Zn' yu bünyesine alabilmektedir (Lasat, 2000).

2.6. TOPRAK VE TOPRAK KİRLİLİĞİ

Toprak, ana materyal adını verdiğimiz kayaçların, organik atıkların uzun bir süreç içinde birçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik olay ve etkenlerle parçalanıp ayrışması sonucu ortaya çıkan ve dinamikleri devam eden doğal bir varlıktır. Topraklar; insan, bitki ve hayvanların üzerinde durdukları, insanların yaşamlarını devam ettirecekleri tek yerdir (Türkoğlu,. 2006). Toprak kirliliğine sebep olan doğal ve insan aktivitelerine bağlı olarak topraklara karışan kirleticileri genel olarak; organik (pestisidler, hormonlar) ve inorganik (ağır metaller vb.) bileşikler ve radyoaktif atıklar şeklinde gruplandırabiliriz. Toprakta; fiziksel, kimyasal, fizikokimyasal, biyokimyasal ve biyolojik olayların karmaşıklığı içerisinde doğal bir denge vardır. Bütün bunlar sınırlı kaynaklar olması nedeniyle toprakların insanların geleceği açısından büyük önem taşıdığını, toprak kirliliğinin özellikle insan ve çevre sağlığı açısından son derece önemli bir çevre sorunu olduğunu göstermektedir. Ana kaynakları ve atıkların bırakıldığı sahayı içine alan kirliliğin ana nedeni insan aktiviteleri ile toprağa bırakılan kirleticilerdir (Şekil 2.6.1).



Şekil 2.6.1 Topraklardaki kimyasal kirleticilerin ana tipleri (Mirsal, 2004).

Makro Kirleticiler

Bunlar genellikle gübre tuzları ve iyonlarıyla hem de asit yağmurlarıyla toprağa katılırlar. Bitkiler genellikle tüm besleyici bileşiklerini yeniden elde edemezler. Geri alma derecesi esas olarak hem toprak ve bitki karakteristiklerine hem de gübre tiplerine bağlıdır. Stigliani ve Anderberg, (1993)'e göre muhtemel fosfatlı gübrelemeden dolayı 1970 (350g/da) ve 1990 (700g/da) arasında Rhine havzası topraklarındaki kadmiyum konsantrasyonu iki kat artmıştır.

Mikro Kirleticiler

Mikro kirleticiler olarak değerleri normal geçmiş değerlere nazaran daha yüksek ise topraklarda ağır metallerin toplu olarak bulunduğu anlaşılır. Ağır metaller genellikle 5 g/cm3 den daha büyük bir atomik yoğunluk ile metaller ve metalloidler olarak uygulanır. Bu elementlerin çoğunluğu bitki ve/veya hayvan beslenmesi için gereklidir. Bitki metabolizması için gerekli olanlar burada; bor, bakır, demir, mangan, molibden, silisyum ve kadmiyum olarak verilebilir(Tablo 3) (Tablo 4) (Şekil 2.6.2).

Tablo 3: Yerkabuğu tabakası ve sedimentlerin element bileşimleri. (% değerlerin dışındakiler ppm olarak alınmıştır) (Salomons ve Förstner, 1984).

Element	Ana kabuk	Ana sediment	Ortalama ayrışma	Deniz dibi kil	Sığ su sed.	Nehir suyu sed.	Kum taşı	Kireç taşı	toprak
Demir	4.1%	4.1%	4.7%	6.5%	6.5%	4.8%	2.9%	1.7%	3.2%
Titanyum	0.6%	0.4%	0.5%	0.5%	0.5%	0.6%	0.4%	0.03%	0.5%
Vanadyum	160	105	130	120	145	170	20	45	108
Krom	100	72	90	90	60	100	35	11	84
Nikel	80	52	68	250	35	90	9	7	34
Çinko	75	95	95	165	92	350	30	20	60
Bakır	50	33	45	250	56	100	30	5.1	26
Kobalt	20	14	19	74	13	20	0.3	0.1	12
Kurşun	14	19	20	80	22	150	10	5.7	29
Kalay	2.2	4.6	6.0	1.5	2	--	0.5	0.5	5.8
Kadmiyum	0.11	0.17	0.22	0.42	--	1	0.05	0.03	0.6
cıva	0.05	0.19	0.18	0.08	--	--	0.29	16	0.1

Ağır Metal	Topraktaki Sınır Değerler (mg/kg K.A.)
Kurşun	100
Kadmiyum	3
Krom	100
Bakır	100
Nikel	50
Cıva	2
Çinko	300

Şekil 2.6.2: Toprak Kirliliğinin Kontrolü Yönetmeliğine göre toprakta izin verilen maksimum ağır metal içerikleri (kuru toprakta mg/ kg).

Tablo 4: Türkiye Toprak Kontrolü Yönetmeliği sınır değerlerinin AB ülkelerinin kendi ülkelerinde kabul edilmiş sınır değerleriyle karşılaştırılması (mg/kg K.A.)

Ağır Metal	Belçika		Almanya	Danimarka	Fransa	Finlandiya
Ppm	Flanders	Wallonia				
Cd	1,2	2	1,5	0,5	2	0,5
Pb	120	100	100	40	100	60
Cu	109	50	60	40	100	100
Ni	55	50	50	15	50	60
Cr	78	100	100	30	150	200

Ağır Metal	İrlanda	Lüksemburg	Polonya	İskoçya	İngiltere	Türkiye
Cd	1	1-3	3	0,4	3	1
Pb	50	50-300	300	40	300	50
Cu	50	50-140	100	40	135	50
Ni	30	30-75	75	30	75	30
Cr	---	100-200	200	60	---	100

2.7. YEŞİL ISLAH (FİTOREMEDİASYON) NEDİR?

Ağır metallerle kirlenmiş alanların iyileştirilmesinde (remediasyon) kullanılan geleneksel mühendislik yöntemleri pahalı olmaktadır (Salt, 1995; Glass, 2000). Bu nedenle, mevcut remediasyon teknikleri yerine düşük maliyetli ve çevre dostu olan yeşil ıslah'a (fitoremediasyon) yoğunlaşılmıştır (Arshad ve, 2008; Shi ve, 2009). Yeşil ıslah genel olarak toprakta ve/veya suda bulunan kirleticilerin bazı bitkiler tarafından degradasyona ve ekstraksiyona uğratılarak hareketsizleştirilmesi ve bitkinin bünyesine alınması şeklinde tanımlanır. Meagher (2000) ve McIntyre (2003)'e göre bitkilerin veya bitki ürünlerinin kirlenmiş alanları restore veya stabilize etmek için kullanımı, kirliliğin bitki tarafından seçilerek çıkarılması, ayrılması ve arındırılması olarak bilinmekte ve bitkilerin organik veya inorganik maddeleri giderimi, akümüle etmesi, depolaması veya parçalaması gibi doğal yetenekleri avantaj olarak kullanılmaktadır (Meagher, 2000; McIntyre, 2003). Kieffer ve ark, (2008)'na göre ise bitkilerin önemli miktardaki ağır metali kendi yüzeylerinde (özellikle topraküstü dokularında) absorbe etme ve biriktirme işlemleri ile kirletici maddeleri uzaklaştırma kabiliyetlerine fitoremediasyon denir (Kieffer ve ark, 2008).

Fitoremediasyon terimini kelime anlamı olarak ele aldığımızda, bitki anlamındaki "phyto" ile ıslah anlamındaki "remediation" kelimelerinden türetilmiş olup ve 1991'de terminolojiye girmiştir. Bu terim ingilizcede phytoremediation, bioremediation, botanical remediation ve green remediation olarak da anılmaktadır (EPA, 2000).

Türkçe' de "Yeşil Islah" olarak kullanılan bu ifade bitki temel alınarak çevreyi ıslah etme teknolojileridir. Bu teknoloji ile organik ve inorganik maddeler bitki kullanılarak kirlilik oluşturduğu alandan bertaraf edilebilmektedir (Henry, 2000). Sistem doğal ve yapay ortamlarda kullanılabilir. Yani kirlilik etmeni, bulunduğu yerde veya başka bir ortama taşınarak bertaraf edilebilir. Sonuç olarak, bitki tarafından kimyasal maddelerin alınımını ve dağıtımını etkileyen faktörlerden bazılarını şu şekilde sıralayabiliriz ;

1. Bileşiğin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Sudaki çözünürlüğü, molekül ağırlığı, oktanol:su katsayısı, buhar basıncı gibi)
2. Çevresel özellikler (sıcaklık, pH, organik yapı, toprak nem içeriği gibi)
3. Bitki özellikleri (kök sistemi ve enzim tipleri gibi).

Birçok hiperakümülatör türün fitoremediasyon potansiyeli yavaş büyüme hızı, düşük biyokütle ve genellikle belirli bir habitatla sıkı bir ilişki nedeniyle sınırlanmaktadır (Chaney, 2005). Bu nedenle derin kök sistemi, hızlı büyüme oranı ve ağır metal toleransı gibi fitoremediasyon için gerekli özelliklere sahip bitkilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bitkiler tarafından alınan bir kısım metaller, bitki bünyesindeki enzimler aracılığıyla bozunmakta ve kimyasal formları değişikliğe uğramaktadır. Çoğu metaller ise herhangi bir bozunmaya uğramadan bitkinin yaprak ve saplarında birikerek, bitkinin hasadıyla ortamdan uzaklaşmaktadırlar. Mobilizasyon ve topraktan metal iyonlarının alınımı, metal-ligand komplekslerinin oluşumu ve vakuollerde detoksi-fikasyon, simplastik veya apoplastik yol ile gövde dokusuna translokasyon, hücrelerde alıkonma ve ağır metallerin metabolik açıdan daha az aktif hücrelere aktarılması ile ilişkili işlevler genetik değişikliklerin hedefini oluşturmaktadır (Clemens, 2002). Bu bağlamda, bitkilerde hiper-akümülasyonu sağlayan moleküler ve genetik mekanizmaların anlaşılması, fitoremediasyon yeteneğine sahip bitkilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır.

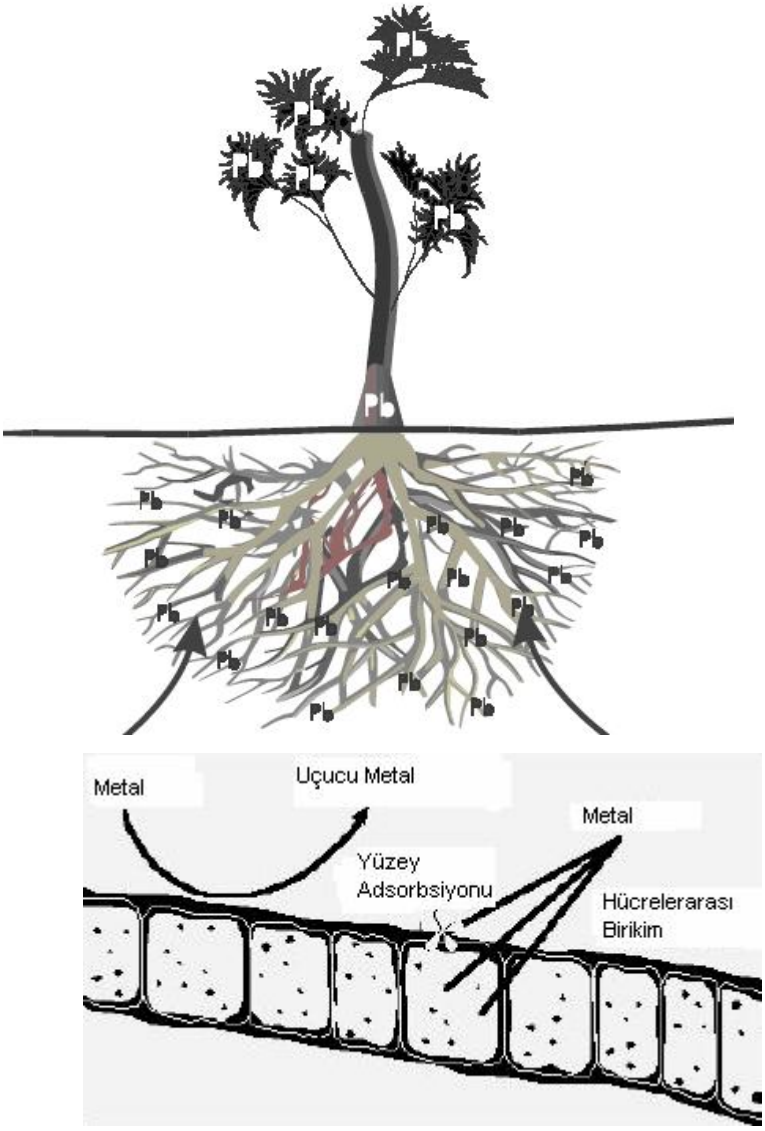
2.8. YEŞİL ISLAH (FİTOREMEDİASYON) YÖNTEMLERİ

Organik ve inorganik kirleticilerin bitkiler kullanılarak giderilmesi teknolojisine genel olarak verilen bir isim olan fitoremediasyon kapsamında kullanılan bitkilere ve giderilecek kirleticilere bağlı olarak farklı yöntemler bulunmaktadır. Söz konusu olan yöntemler şunlardır (Şekil 2.8.a);

2.8.1 Fitoekstraksiyon (Bitkisel özümleme); Özellikle inorganik kirleticilerin bitkinin kökleri tarafından alınması ve bir kısmının toprak üstü aksamına (sap ve yaprak) taşınarak biriktirilmesi yöntemidir. Bu bitkiler diğer bitkilere oranla bünyelerinde 100 kata kadar daha fazla kirlilik etmeni biriktirebilirler. Bu teknoloji, daha çok ağır metalle kirlenmiş topraklarda uygulanmaktadır.

Fitoekstraksiyon yöntemi sonucunda hasat edilen bitki kalıntıları; kurutularak, yakılıp kül haline getirilerek, kompost haline getirilmesi amacıyla çürütülmesi yoluyla

sınırlandırılarak veya biyolojik metal madeni halinde yeniden dönüşüme sokularak izole edilebilir (Memon ve ark, 2000). Bu yöntemde kirlilik taban suyuna geçmişse bitki köklerinin ulaşabileceği derinlik dikkate alınmalıdır (Pivetz, 2001). Bu yöntemle topraktan alınan elementler ; Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn ' dir (Şekil 2.8.1.1).

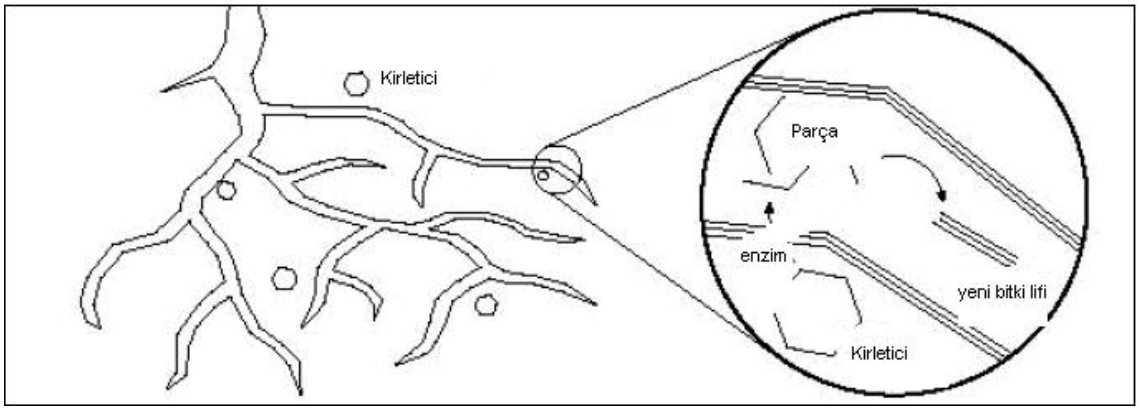


Şekil 2.8.1.1: Kurşun metalinin ekstraksiyonu ve metallerin hücrelerdeki hareketi.

2.8.2 Fitodegredasyon (Bitkisel bozunum)

Fitotransformasyon olarak da bilinen fitodegradasyon, bitkiler tarafından alınan organik kirleticilerin metabolik proseslerden geçerek, bitkiler tarafından üretilen enzimler gibi

bileşiklerin etkisi yoluyla bozunması yöntemidir. Ana mekanizma kirleticilerin bitkiler tarafından alınması ve bitki bünyesinde metabolize olmasıdır (Şekil 2.8.2.1). Genel olarak yüzey ve yeraltı sularının arıtılmasında kullanılır. En önemli avantajı ise indirgenme veya bozunmanın fizyolojik olaylar doğrultusunda bitki içinde olması ve mikroorganizmalara bağlı olmamasıdır.



Şekil 2.8.2.1: Fitodegredasyon yöntemi.

2.8.3 Fitostabilizasyon (Köklerle sabitleme)

Kirleticilerin hareketsizleştirilmesi, kökler tarafından biriktirilmesi, köklerin yüzeyine yapışması veya bitkinin kök bölgesinde çökelmesi şeklinde gerçekleşmektedir. Ayrıca bitki kökleri tarafından rüzgar ve su erozyonu, sızma ve toprak dispersiyonu yoluyla kirleticilerin muhtemel hareketinin engellenmesi olarak da tanımlanır. Alan bitkilendirildiği için ekosistemdeki restorasyon zenginleştirilir. Kök derinliği sistemin etkinliği bakımından çok önemlidir. Örneğin kavak kökleri 150-300 cm derinlikler için düşünülebilir. Hibrit bir kavak Güney Dakota (ABD) 'daki bir çalışmada ilk yıl 12 m büyüme kaydederek bünyesinde tahmin edilenden çok daha yüksek miktarda As ve Cd biriktirmiştir (Pivetz, 2001) (Şekil 2.8.a).

2.8.4 Fitovolatilizasyon (Bitkisel buharlaşma)

Organik (klorlu çözücüler) ve inorganik (Hg, Se) kirletici etmenlerin bitki bünyesine alınarak, yapısının atmosfere verilecek şekilde değiştirilmesi ve atmosfere verilmesidir.

En önemli avantajı çok zehirli bileşiklerin (örneğin civalı bileşikler) daha az zehirli formlara dönüşmesidir (Şekil 2.8.a). *Populus* ve *Salix* gibi ağaç türleri etkin fitoremediasyon özelliklerinden dolayı sıklıkla bu teknikte kullanılmaktadır (Pulford ve Watson, 2003).

2.8.5 Rizodegradasyon (Köklerle bozunum)

Degradasyon, mikroorganizmalar tarafından veya bitki köklerinin etkisi ile oluşuyorsa bu olay rizodegradasyon olarak isimlendirilir. Rizodegradasyon topraktaki kök bölgesinde, organik kirleticilerin mikroorganizma faaliyetleri sonucu ayrışmasıdır.

2.8.6 Rizofiltrasyon (Köklerle süzme)

Rizofiltrasyon; biyotik ve abiyotik işlemlere bağlı olarak kirleticilerin köklerin içine alınması veya bitki köklerinin üzerine (adsorpsiyon) yapışıp kalmasıdır. Burada temel olan kirleticilerin bitki üzerinde veya içinde hareketsizliğin sağlanmasıdır.

2.8.7 Hidrolik kontrol

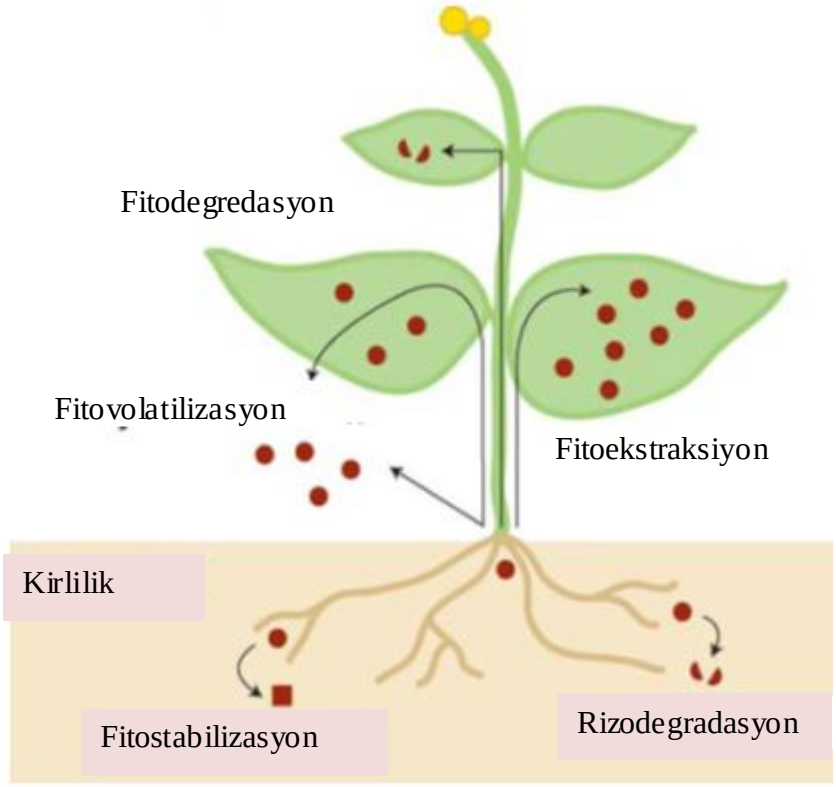
Bitki kullanarak yer altı sularında kirlilik etmenlerinin birikmesini ve taşınmasını engellemek veya kontrol altında tutulmasıdır. Bu sistemde daha önce bahsedilen yeşil ıslah kategorilerinin birden fazlası bir aradadır.

2.8.8 Vejetatif örtü sistemleri

Vejetatif örtü, kirleticilerin toprak yüzeyindeki uzun süreli ve kendiliğinden yetişen bitki sistemi ile kontrol altına alınması yöntemidir. Vejetatif örtü topraktan buharlaşarak su kaybını engelleyici olarak veya ıslah edici olarak iki tiptir.

2.8.9 Kıyı tampon şeritleri

Genellikle akarsulara doğru akan yer altı kirleticileri veya akarsu içerisindeki kirleticilerin giderilmesi için akıntı boyunca akarsuların kıyılarına şeritler halinde uygun bitkilerin ekilmesi işlemidir. Bu ıslah ile kirliliğin çevreye yayılmaması, taban suyuna karışmaması gibi görevler üstlenir. Sistem erozyonu kontrol eder ve sedimenti de azaltır. Bu yöntemle en çok gübreler ve pestisitlerin giderilmesi konuları incelenmiştir. Kavaklar bu amaçla en sık kullanılan bitkiler arasındadır.



Şekil 2.8.a: Fitoremediasyon türleri.

Fitoremediasyon çalışmalarında Kavak (*Populus*) kullanıyoruz çünkü; ağaç türleri değerlerine ek olarak, *Populus* (Kavak) cinsi üyeleri karbon tutma, besin döngüsü, biyofiltrasyon ve mevcut farklı habitat lokalizasyonları dahil olmak üzere bir çok

ekolojik hizmet sunar ve yaygın odunsu bitki biyoteknolojisi için bir model organizma olarak kullanılırlar.

Kavak genomunun sıralaması önemli nitelikteki araştırmalar için uzun bir liste eklemiştir. Bu kolay dönüşüm; yüksek kapasiteli vejetatif çoğalma, hızlı büyüme ve yüksek biyokütle üretimi, genom büyüklüğü, ılımlı ve geniş ifade sıralarının birleşimlerini içerir. Salicaceae familyası üyeleri (ör: Söğüt ve Kavak) son yıllarda ağır metal alımında gösterdikleri iyi potansiyel ve birçok tarım çalışmalarında kullanılmaya başlanmalarından bu yana (Kieffer, 2008) kirli alanlarda fitoremediasyon uygulaması için uygun ve umut verici adaylar olarak gösterilmektedir (Durand ve diğ. 2009).

Populus spp. yüksek su kullanımı ve derin kök sistemlerinden dolayı fitoremediasyon uygulamaları için uygundur. Kavakların su kullanımı özellikle nehir ve dere kenarlarındaki alanların iyileştirilmelerinde önemlidir. Terleme ile hidrolik kontrol sağlanabilir ve kirleticiler uzaklaştırılabilir *(*Zalesny, 2006*)*.

3. GEÇMİŞTE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Doğan ve Saygıdeğer (2009) farklı derişimlerdeki Cd (0, 0.01, 0.1 ve 1 mg L^{-1}) etkisinde 96 saat bırakılan *Ceratophyllum demersum* L.'de meydana gelen bazı fizyolojik ve morfolojik değişiklikleri araştırmışlar ve kadmiyum uygulamasının düşük derişimlerinde dikkate değer morfolojik değişim göstermezken, yüksek derişimde yapraklarda dökülmeler ve kısmi doku yumuşamalarının olduğunu gözlemlemişlerdir. Kadmiyumun 0.01, 0.1 ve 1mg L^{-1} derişimlerinde yetiştirilen makrofit dokularının Cd derişimleri kontrole göre sırasıyla 15.4, 33.5 ve 160.0 kat arttığı belirlenmiştir. Toplam çözülebilir şeker ve protein miktarları Cd uygulaması tarafından azltılmıştır. Prolin ve sistein aminoasitlerinde belirlenen artışar bunların Cd stresinde rollerinin olduğunu göstermiştir. Toplam askorbat miktarındaki en yüksek artış % 91.5 ile 1 mg Cd L^{-1} 'lik derişimde belirlenmiştir. Diğer yandan lipid peroksidayonunda artışların olması, Cd stresinin membranlarda oksidatif hasara neden olduğunu göstermiştir.

Zengin ve Munzuroğlu (2003) Fasulye fidelerinin kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine civa ($HgCl_2$) ve kadmiyum ($CdCl_2.H_2O$)'un etkilerini araştırmışlardır.
Civa ve kadmiyum uygulaması fidelerin kök, gövde ve yaprak büyümesini önemli oranlarda engellemiş, bu ağır metallerin konsantrasyonlarındaki artış ile kök, gövde ve yaprak büyümesinin inhibisyon oranı arasında bir paralellik saptanmıştır. Fidelerin ağır metale maruz kalma süresinin uzaması kök, gövde ve yaprak büyümesindeki azalmanın daha fazla olmasına yol açtığı belirtilmiştir. Kadmiyum ve civa stresine kök büyümesinin daha duyarlı olduğu, bunu gövde ve yaprak büyümesinin takip ettiği gözlenmiştir. Bu iki ağır metalden civanın kadmiyuma göre daha toksik olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar istatistik açıdan $p<0.05$ ve $p<0.01$ düzeylerinde önemli bulunmuştur.

Chardonnens'in (1998) *Silene vulgaris* (nakil) bitkisinin kadmiyuma duyarlı ve kadmiyumu tolere edebilen iki farklı ekotipinde yaptığı çalışmada duyarlı olan bitki türünün yapraklarındaki kadmiyum oranı daha yüksek çıkmıştır. Ayrıca kadmiyum birikiminin her iki ekotipte de alt epidermis bölgesinde olduğu tespit edilmiştir

Bayçu'nun 1992 yılında yaptığı araştırmada otoyol kenarlarında yetişen *Allianthus altissima* (kokarağaç) yaprakları ile aynı bölgedeki toprak örneklerinde Cd ve Pb konsantrasyonları belirlenmiştir.10 araştırma bölgesinden elde edilen sonuçlara göre yaprak ve toprak örneklerindeki Cd ve Pb konsantrasyonları otoyol ve endüstriyel alanlara yaklaştıkça artış göstermektedir. Yapraklarda ölçülen Cd' un toprakta ölçülen Cd dan daha fazla, toprakta ölçülen Pb' nin yapraktan daha fazla olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmanın devamında kum kültürü ve bitki odası şartlarında yetiştirilen ve Cd uygulanan *A. altissima* bitkisinin organlarında toksik etkiler incelenmiş ve ortamdaki Cd' un büyük bölümünün köklerde ve sırasıyla gövde ve yapraklarda biriktiği belirlenmiştir. Bitkilerin taze ve kuru ağırlığı, gövde büyümesi ve klorofil miktarı özellikle yüksek konsantrasyonlarda olumsuz etkilenmiştir.

Yine Bayçu'nun (1995) *Ailanthus altissima* 'da yaptığı çalışmalarda ağaç türlerinde yetişme ortamındaki Cd konsantrasyonu arttıkça köklerdeki Cd birikimi de artmıştır. Bununla beraber, ortamdaki Cd konsantrasyonunun artışı ile Cd alımının düşmesi de iyon transfer faktörünün etkilendiğini göstermektedir.

Kahle'nin (1993) *Acer rubrum, Pinus strobus* ve *Picea abies* ile yaptığı araştırmalara göre 16mg/l Cd çözeltisinde yetiştirilen bitkilerden *Acer* köklerinde 677.2, *Pinus*' da 815.8, *Picea*' da 697.8 ppm Cd birikmiştir. Bu bitkilerin köklerinin bodurlaştığı, yeni köklerin ve kök tüylerinin gelişmediği, su alımının indirgendiği, hücre membranlarının zarar gördüğü ve hücre bölünmesi ile hücre büyümesinin olumsuz etkilendiği ileri sürülmetedir. Ayrıca, Cd etkisiyle besin elementlerinin alımının da inhibe olmuştur.

Ayhan (2006) bazı mısır *(Zea mays L.)* çeşitlerinde ağır metal (Cd, Pb) stresinin etkilerini araştırmıştır. İki aşamalı olan bu deneyin ilk aşamasında tohumlar erken fide evresinde farklı konsantrasyonlarda metale maruz bırakılmış ve kök ve koleoptil uzunluklarında önemli derecede azalma belirlenmiştir. İkinci aşamada ise belirlenen fideler perlit kültür ortamında yetiştirilmiş ve yine farkı konsantrasyonlara maruz bırakılmıştır. Deneme sonunda Cd ve Pb ' nin mısır çeşitlerinin kök ve gövde uzunluklarında önemli derecede inhibisyona neden olduğu belirlenmiş, her iki ağır metal içinde dayanıklı çeşitlerin yapraklarında az dayanıklı çeşide göre daha az ağır metal biriktirdikleri saptanmıştır. Ayrıca metal konsantrasyonuna bağlı olarak yaprak pigmentlerinin klorofil miktarlarınında azaldığı bildirilmiştir.

Doğan (2005) farklı derişimlerdeki Cd ve NaCl ile bunların kombinasyonlarının etkisinde 96 saat bırakılan *Ceratophyllum demersum* L.'de meydana gelen bazı fizyolojik ve morfolojik değişiklikler araştırmış Cd, NaCl ve Cd+NaCl uygulamalarının düşük derişimlerinde dikkate değer morfolojik değişim olmadığını, yüksek derişimlerde ise yapraklarda dökülmeler ve kısmi doku yumuşamalarının olduğunu belirtmiştir.

4. MALZEME VE YÖNTEM

Deneyde kullanılmak üzere Orleans Üniversitesi (Fransa) INRA Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından hibritlenen *Populus tremula X Populus alba* (genotype INRA 717-1B4) ' den yararlanılmıştır.

4.1 BİTKİ MATERYALİ İLE İLGİLİ BİLGİLER

Materyalin sınıflandırılması;

Alem: Plantae- Bitkiler
Bölüm: Magnoliophyta- Kapalı Tohumlular
Sınıf: Magnoliopsida- İki Çenekliler
Takım: Malpighiales
Familya: Salicaceae- Söğütgiller
Cins: Populus
Tür: *P. canescens*
İkili adı: *Populus x canescens* (Aiton) Smith

Salicaceae (Söğütgiller)

İki evcikli, dik duruşlu ağaçlar, çalılar, nadiren sürünücü çalımsılar. Yapraklar basit ve alternat, çiçekler sarkık amentumlarda, her bir çiçek bir braktenin koltuğunda ve tek eşeylidir. Periant bulunmaz. Erkek çiçeklerde stamenler 2-çok, dişi çiçeklerde pistil 1, ovaryum üst durumlu, 1 lokuluslu, 2-4 karpelli, ovüller çok, anatrop, plasentasyon paretal. Meyve 2-4 valfle açılan 1 kapsula şeklindedir. Kozmopolit olup çoğunlukla ılıman iklimlerde yayılış gösteren 4 cins ve yaklaşık 340 türü vardır. Ülkemizde 2 cins ve 27 türü bulunur. Kerestesinden kağıt hamuru, kibrit, kutu ve dallarından sepet yapılır (Wikipedia, 11 Aralık 2012 19:20).

Boz kavak (*Populus* × *canescens*)

Söğütgiller (Salicaceae) familyasından 20 m'ye kadar boylanan Akkavak (*Populus alba*) ve Titrek kavak (*Populus tremula*) doğal melezidir.

Her iki kavak türünün özelliklerini taşımaktadır. Kabuk grimsi veya mavimsi gri, pürüzsüz, gövde dibi pürüzlüdür. Tacı dağınıktır. Sürgünler silindirik olup uca doğru sivrilir, çoğu kez tüysüzdür. Kısa sürgünler kahverengimsi keçemsi tüylüdür. Tomurcuklar yumurtamsı kahverengi tüylüdür.

Kısa sürgündeki yapraklar kısa saplı; uzun yapraklı, yumurtamsı-dairemsi, yumurtamsı-eliptik veya rombik (dikdörgen biçiminde) yumurtamsı dairemsidir; uzunluğu 4-8 x 3,5-6 cm her iki yüzeyi tüysüz veya alt yüzü bazen seyrek keçemsi tüylüdür. Yaprakların dip kısmı kama biçiminde veya yuvarlak, kenarları girintili dişli; ucu yuvarlaktır. Uzun sürgündeki yaprakların sapı gri olup keçemsi tüylüdür. Yaprak ayası geniş eliptik alt yüzeyi gri keçemsi tüylü, üst yüzeyi ise yeşil, tüysüz veya seyrek tüylü düzensiz dişlidir.

Erkek kedicikler (bazı bitki türlerinde görülen çiçek durumu tipi) 5-8 cm'dir. Stamenler 8-10 adettir. Dişi kedicikler 5-10 cm; ovaryum tüysüz olup kısa saplıdır. Kapsül 3-4 mm, uzun yumurtamsı olup 2 kapakçıklıdır (Tohumlu Bitkiler Sistematiği, Ege Üniversitesi Yayınları).

4.2. BİTKİ YETİŞTİRİLMESİ VE METAL UYGULAMALARI

Populus tremula x Populus alba (genotype INRA 717-1B4) hibritinin köklü çelikleri 1 yaşındaki kesme gövdelerden elde edilmiştir. Düğüm bölümleri; 15 cm uzunluğunda, 11 ± 1mm çapında ve her gövde 1 tomurcuk içermektedir. Kesimler 30 dakika indol-3 bütirik asid (1.2 $g \cdot L^{-1}$) ile muamele edilmiştir. 1 ay kum içerisinde kök oluşana kadar bekletilmiştir *(*Kruse, 2003*)*. Köklenmenin meydana geldiği her kesme gövde, yaprak büyümesi olacak şekilde 1L lik turba yosunu (Peat moss) ve kum (25:75 %, v/v, pH 6.9) karışımlı saksılara gövde ve yaprak büyümesi için aktarılmıştır. 2 ay sonra bitkiler 4L lik saksılara aktarılmıştır (Şekil 4.2.1).





Şekil 4.2.1: Kum içerisinde köklenme. 1lt lik saksı. 4lt lik saksı.

3 ay süren büyüme süreci sonunda bitkiler budanmış ve laboratuar ortamına alınmıştır. 1. stres periyodunu başlatmak amacıyla 8 bitki 2 sete ayrılmıştır. 1.set kontrol seti olarak belirlenirken 2.set metal stresi çalışılmak üzere kullanılmıştır. Kadmiyum uygulaması bir defaya mahsus olmak üzere stres periyodunun başında 2. set saksılarına 3.2mmol Cd eklenmesi ile oluşturulmuştur. 51 gün süren 1.stres periyodu boyunca haftada 3 kez terleme ile kaybedilen suya denk olarak bitkiye su temin edilmiştir. Laboratuvardaki ortam şartları 16 saat/gün için sıcaklık 21 ± 1 °C ye ayarlanmıştır. Nem oranı %75 ± %5 ve ışık parlaklığı 1000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.2.2).

2. stres periyodu için de 1. stres periyodunda uygulanan büyüme şartları sağlanmış ve 16 bitki kullanılmıştır. Bunlar 2 sete ayrılmış ve yine sadece bir defaya mahsus olmak üzere periyodun başında 2.sete metal stresi çalışmak üzere 16mmol Cd uygulanmıştır. 88 gün süren 2. periyot boyunca aynı büyüme şartları sağlanmıştır.

A B





Şekil 4.2.2.A: Laboratuvar ortamındaki kadmiyuma maruz 2.set bitkilerinden biri. B: Laboratuvar ortamındaki bitki setlerinin genel görünümü.

4.3. BİTKİLERDE GELİŞİMİN ÖLÇÜLMESİ

Her iki periyot içinde tüm saksılarda bulunan bitkilerin toplam yaprak alanları belirlenen ve tekrarlanan süre boyunca cetvel yardımıyla manuel olarak ölçülmüştür. Toplam yaprak alanı (cm^2); yaprak alanı ve maksimum yaprak genişliği arasındaki binominal ilişki kullanılarak kavak türüne özel oluşturulmuş formülle belirlenmiştir *(Brignolas et* al. 2000). $\boldsymbol{La = (0.71 \times Lw^2) + (1.114 \times Lw)}$. (La: Yaprak alanı ($cm^2$) Lw: Yaprak genişliği (cm)' dir.

Gövde büyümesi (cm) ; aksiler gövde uzunluğu belirlenen ve tekrarlanan süre boyunca cetvel yardımıyla manuel olarak ölçülmüştür.

Yaprak sayısı 3mm üzerinde genişliğe sahip tüm yapraklar belirlenip manuel olarak sayım yapılarak ölçülmüştür.

Çeliklerin çaplarının artımının (ikincil büyüme) değerlendirilmesi tüm deneyler boyunca Morabito ve arkadaşları tarafından bulunan otomatik nokta dendrometresi (dendrometre: ağaçların boyutlarını özellikle yüksekliğini ölçen alet) vasıtasıyla ölçülmüştür (Morabito, 2006) (Şekil 4.3.1). Dendrometre ile her 15 dakika da bir gövde büyümesini ölçen sistem büyüme seviyesini bilgisayar monitörüne aktarmış ve buradaki değişimlerden yararlanılarak istatistiksel analizler yapılmıştır.



-A- -B-

Şekil 4.3.1.A:Dendrometre (Morabito ve diğ. 2006).
B:Dendrometrenin ölçtüğü değerleri gösteren monitör ve program.

4.4 GAZ DEĞİŞİMLERİNİN ÖLÇÜLMESİ

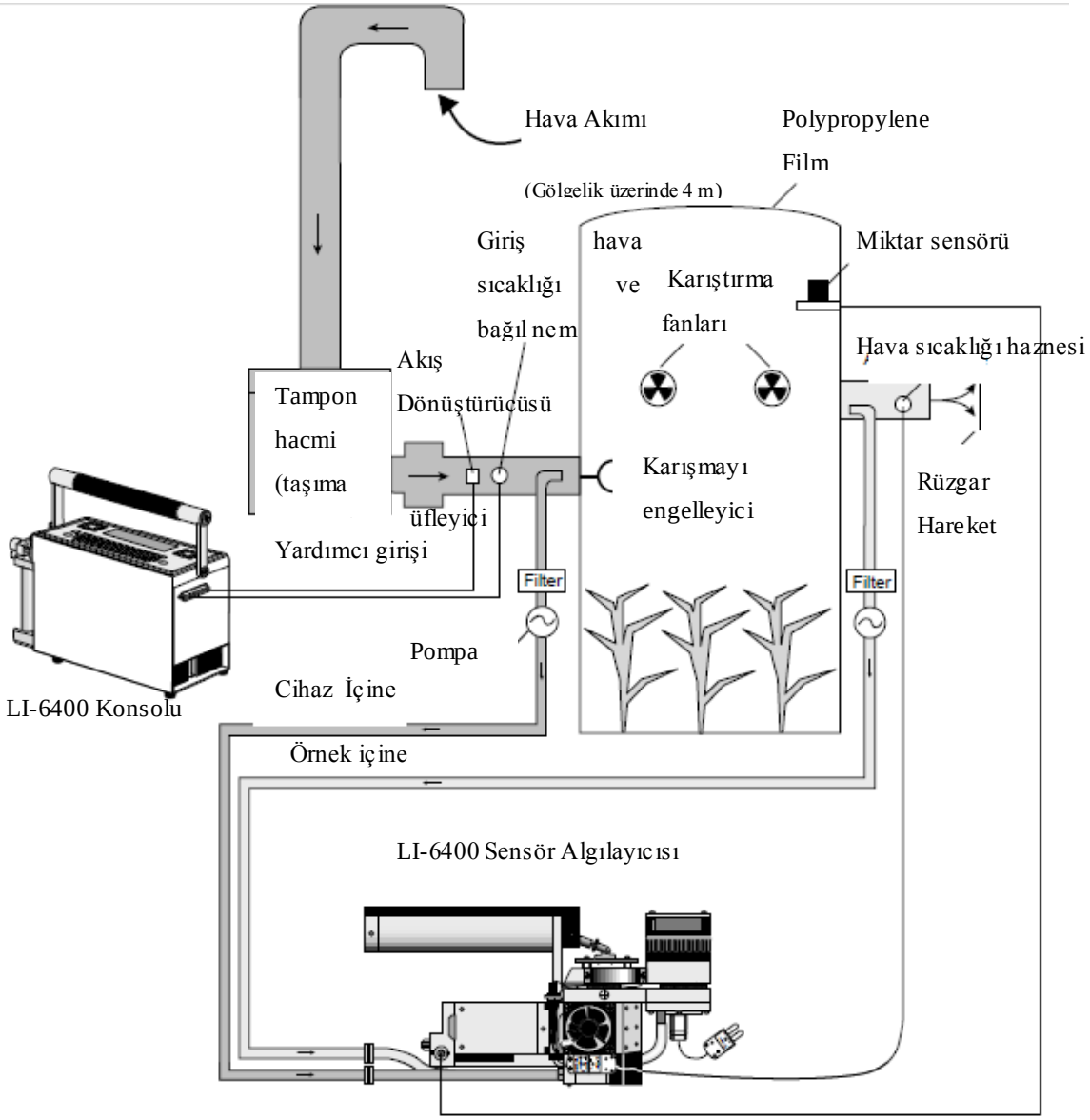
Bitkilerin en önemli işlevlerinden olan CO_2 özümsemesi ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$) ve su buharına göre yaprağın stoma iletkenliği (gs, H_2O $mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$), spesifik taşınabilir fotosentez sistemi olan LI-COR 6400XT (LI-COR A.Ş., Lincoln, Nebraska) ile ölçülmüştür (Şekil 4.4.1 a,b,c). Bu sistem ardışık belirlenen aralıklarla belirli süre boyunca uygulanan ölçümlerde kararlı gölge akımı ile sızıntı ve su emilimi tarafından tanıtılan hataları en az düzeye indirmektedir. Laboratuvar ortamında çevresel koşulları sağlanan bitkilerimizin ölçümleri haftanın belirlenen 2 gününde günlük aydınlık periyodun takibi ile yaklaşık 6 saat sonra yapılmış ve stres

periyodları boyunca bu şekilde devam etmiştir. Ölçümler bitki üzerinde belirlenen yaprağa (genel olarak üstte büyüyen en küçük yapraktan başlayarak 9 ile 12. Yapraklar arasından seçilmiştir) portatif çemberin yerleştirilmesi ile gerçekleşmiş ve cihaz ayarları (1000 µmol (foton) m^{-2} s^{-1} , 20° C sıcaklık, 400 µmol m^{-2} s^{-1} CO_2, 500 µmol m-2 s hava akışı) ile ölçüm takibi cihaz monitöründen gerçekleştirilmiştir.



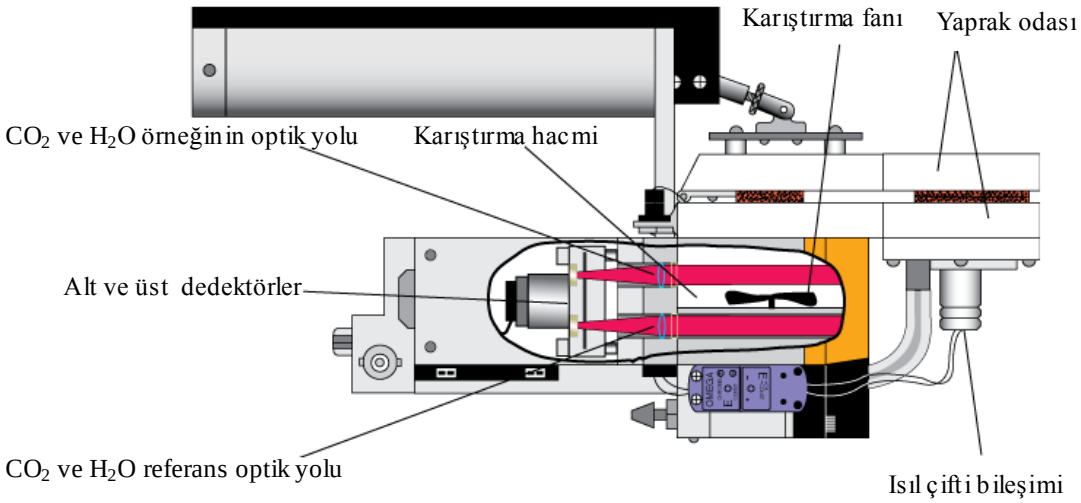
-A- -B-

Şekil 4.4.1.a: LI-COR 6400XT LI-COR Konsolu (A) ve LI-COR Sensör Algılayıcısı (B).



-C-

Şekil 4.4.1.b LI-COR Cihazı ekipmanları.



Şekil 4.4.1.c. LI-COR CO_2 ve H_2O yolları.

4.5. BİTKİLERİN SU İÇERİĞİ ÖLÇÜMLERİ

Bitkiler her iki stres periyodu sonunda budanmış ve her bitkiye ait organlar (kök, çelik, gövde ve yaprak) tek tek tartılmış ve belirlenen yaş ağırlıkları veri olarak kaydedilmiştir. Ağırlıkları belirlenen organlar alüminyum paketlere yerleştirilmiş ve üzerlerine gerekli bilgiler ile tarih yazılmıştır. Örnekler sıvı azota maruz bırakılarak dondurulmuş ve -80^0 C de saklanmıştır. Bitkinin bünyesine kattığı maddeleri belirlemek için kuru ağırlık üzerinden çalışmalar yapılmış ve bitkinin mevcut hali içerisindeki madde miktarları belirlenmeye çalışılmıştır. Bu yüzden örnekler 75^0C de yaklaşık 3-4 gün etüve konularak kurutulmuş ve kuru ağırlık tespiti için tekrar tartılmıştır. Belirlenen yaş ve kuru ağırlıkların ışığında bitkilerin su içeriği hesaplanmıştır.

Su içeriği (%): [(taze ağırlık-kuru ağırlık)/taze ağırlık X 100]

Su içeriği belirlenen örnekler analiz için kullanılmak üzere toz haline getirilmiştir.

4.6 BİTKİ VE TOPRAK ÖRNEKLERİNDE ELEMENT ANALİZİ

4.6.1 Mikrodalga Sistemi ile Yaş Yakma

Kurutulmuş ve homojen olarak toz haline getirilmiş bitki örnekleri ile elekten geçirilmiş kuru toprak örnekleri (Şekil 4.6.1.1.a,b,c) element ölçümleri için mikrodalga sistemi ile yaş olarak yakıldı (Berghof Microwave) (Şekil 4.6.1.2).



-a- -b-



-c-

Şekil 4.6.1.1.a:Toz hale getirilmeye hazır bitki örnekler. b: Gövde ve çelik gibi güçlü kısımları toz hale getiren cihaz. c: Toprak örneklerinin elenmesi.



Şekil 4.6.1.2: Yaş yakma işlemi cihazı Berghof Mikrodalga.

Yakma işlemi için toz halindeki kuru örneklerden 0,2 gram tartılarak özel teflon tüplere (DAP-100 vessel) alınmıştır. Farklı asit ve asit karışımlarıyla yapılan ön denemelerden sonra bizim örneklerimizde en başarılı sonucu veren 10ml HNO_3 (Yüksek saflıkta %65, laboratuvar çalışmalarına uygun nitrik asit) eklenerek emniyet diskleri yerleştirilmiştir ve kapakları kapatılmıştır (Şekil 4.6.1.3).



Şekil 4.6.1.3: Berghof mikrodalganın özel teflon tüpleri.

Bozunmada Neden Nitrik Asit Kullanıyoruz? Bozundurma işlemlerinde kullanımı yeğlenen asidin örnek ve analizi yapılacak metal üzerindeki etkileri göz ardı edilemeyecek kadar önemlidir. Asidin katalitik etkisi, metalin uçuculuğu, asidin mikrodalga ışınları absorblama kapasitesi, metalin çözünürlüğü, element ile asit arasındaki tepkimeler, çökelmeler, kompleksleşmeler önemli matriks etkilerindendir. Örneğin bir asit saf metal için etkili olmayabilir, fakat alaşımı için etkili olabilir. Bozundurma yöntemlerinin geliştirilmesinde elementlerin çözünürlüğü kritik bir konudur ve birçok etmen dikkate alınmalıdır.

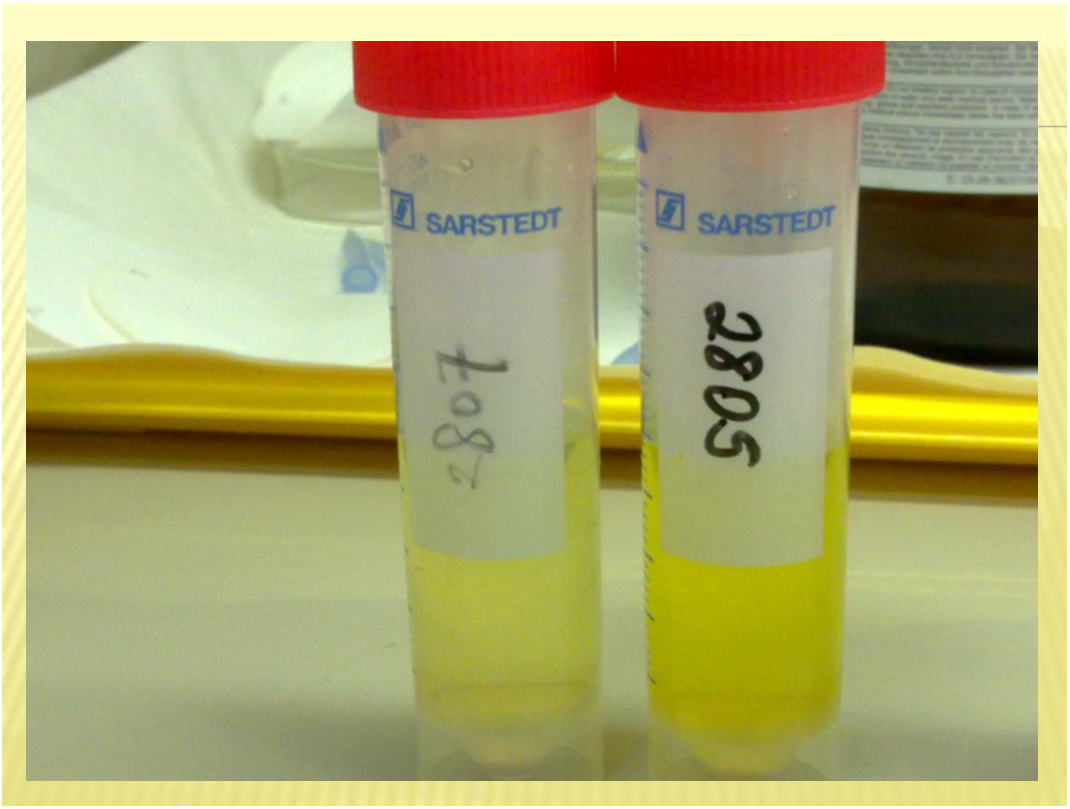
Nitrik asit birçok metali yükseltgeyebilen bir asittir. 2 M derişimin altında yükseltgeme gücü zayıftır. Ancak yükseltgeme gücü klorat, permanganat, hidrojen peroksit ve brom katılmasıyla veya basınç ve sıcaklık yükseltilerek arttırılabilir. Nitrik asit altın ve platini yükseltgeyemezken, bazı metallerde de pasifleşirler. Bu metaller asit karışımları ile yükseltgenebilir.

Son aşamada prizmalı ve ısıya dayanıklı kapaklar sıkıca kapatılarak uygun düzende mikrodalgaya yerleştirilmiştir. Literatür taranarak uygun sıcaklık ve basınç dereceleri belirlenmiştir. Ve yaş yakma istenen zaman dilimi ayarlanarak tamamlanmıştır. Kuru organik maddenin tamamen parçalanarak inorganik çözelti haline geçtiği örnekler ilk olarak 9mm'lik külsüz filtre kağıdı ile (Whatman-42) süzülmüş ve 25ml'lik balon jojelere aktarılarak Ultrapure (Elga) deiyonize su ile 25ml'ye seyreltilmiştir (Şekil 4.6.1.4). Ardından ICP-OES'in donanımları içinde bulunan ince tüpler ve sisleştiriciyi (nebulizer) tıkamamak amacıyla 45μ'lik özel memran filtrelerden tekrar geçirilmiş ve 15ml'lik özel tüplere aktarılarak ölçüme kadar buzdolabında saklanmıştır (Şekil 4.6.1.5).



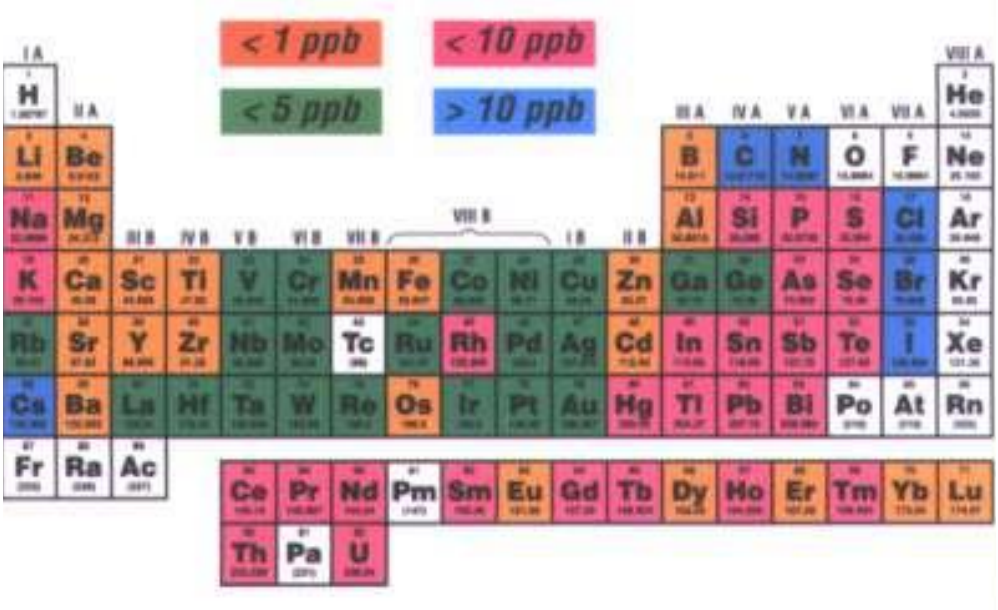
Şekil 4.6.1.4 Ultrapure (Elga) deiyonize su cihazı.

,



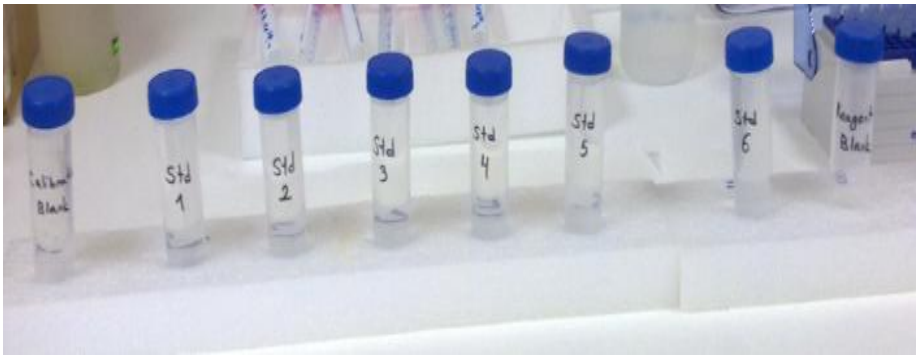
Şekil 4.6.1.5: Filtrelenmiş örnekler

Çok element içeren standart çözeltileri hazırlarken bazı noktaları göz önüne almak gerekir. Standartlardaki element derişimini seçerken spektral girişimin olmaması, çözelti koşullarının uygunluğu, analizde gerekli parametreler ve cihazın bilgisayara uygunluğu önemlidir (Şekil 4.6.1.6).



Şekil 4.6.1.6: ICP' de standart belirleme sınırları

Zn, Cd, Fe, Mg, Ca, Cu, Mn, Al, P, Ni element stoklarından istenilen oranlarda karıştırılarak iyon tayini için kullanılmak üzere standartlar hazırlandı(Şekil 4.6.7).



Şekil 4.6.1.7 ICP cihazında kullanılan kalibrasyon solüsyonu, standartlar ve boş okuma solüsyonu

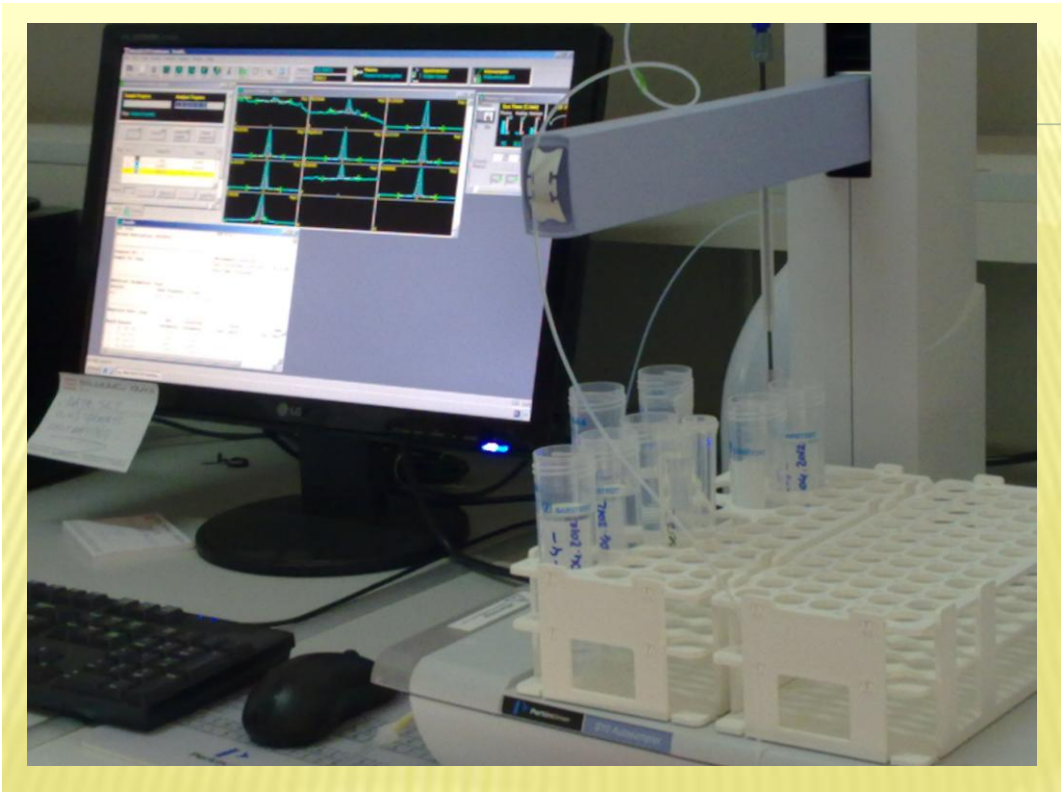
Kalibrasyon solüsyonu için saf su ile hazırlanmış %1 lik HNO_3 çözeltisi kullanılmıştır. Boş okuma solüsyonu (reagent blank) solüsyonu için 10 ml HNO_3 yaş yakma uygulanarak hazırlanmıştır (Şekil 4.6.1.7).

Element ölçümleri İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (Perkin Elmer, ICP-OES 7000 DV) ile yapılmıştır. ICP-OES, 70 civarında kimyasal elementin eser, minör ve majör konsantrasyon düzeylerinde ve aynı anda analizine olanak tanıyan

hızlı bir tekniktir. Çok sayıda örneğin hızlı bir şekilde ölçülebilmesine olanak tanıdığından çevresel analizler için uygundur ve tercih nedenidir (Asurer, 2007).



Şekil 4.6.1.8.a:İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (Perkin Elmer, ICP-OES 7000 DV)



4.6.1.8.b: ICP-OES cihaz tablası ve probu

Tüm örnekler 1'e 10 şeklinde deiyonize su ile sulandırılarak 15 ml lik tüplere aktarılmıştır. Ve ölçüm için cihaz tablasına yerleştirilmiştir. Cihazın analiz prensibine göre elementlerin tahmini konsantrasyonları baz alınarak ppb için aksiyal, ppm için ise radyal olarak ayarlanmış ve ölçümler buna göre yapılmıştır. Ölçümlerde yüksek saflıkta argon ve azot gazı kullanılmıştır (Şekil 4.6.8 a,b).

4.7 TRANSLOKASYON FAKTÖRÜ VE BİYOAKÜMÜLATÖR FAKTÖRÜ

Biyoakümülatör faktörü (BCF) (Kök için zenginleştirme faktörü); bu değer bitki bölgelerinde eser elementlerin birikimini veya topraktaki elementlerin bitki köküne transferini değerlendirmek için kullanılır(Chen, 2005). Bu değer bitki kökü konsantrasyonun ($mg.kg^{-1}$) toprak konsantrasyonuna ($mg.kg^{-1}$) bölünmesi ile hesaplanır.

Translokasyon faktörü (TF) (Gövde için zenginleştirme faktörü); önemli olan bu faktör türün fitoremediasyon derecesini belirtmektedir (Zhao, 2003) ve topraktan

beslenen bitki köklerinden bitki gövdesine transfer olan elementleri değerlendirmek için kullanılır. Ayrıca bu değer bitkinin metalleri çökeltiden emme ve transfer etme ve daha sonra toprak üstü kısımlarında saklama yeteneğini temsil eder(Wei , 2002).

BCF ve TF, bitkinin fitoremediasyon potansiyelinin tahmini için kullanılırlar (Testiati, 2013).

$$BCF = \frac{\text{Bitki kökündeki metal konsantrasyonu (mg. kg}^{-1})}{\text{Topraktaki metal konsantrasyonu (mg. kg}^{-1})}$$

$$TF = \frac{\text{Bitki gövdesindeki metal konsantrasyonu (mg. kg}^{-1})}{\text{Bitki kökündeki metal konsantrasyonu (mg. kg}^{-1})}$$

TF>1 ise bitki metali kökten gövdeye iletmiştir.
BCF>10 mg.g^{-1} ise bitki hiperakümülatör
BCF>1 ise bitki akümülatör
BCF<1 ise bitki ekskluder (Ma , 2001; Baker , 1981).

Yukarıdaki formüller uygulanarak bitkideki faktörler hesaplanmıştır.

İstatistiksel analizler için SPSS (SPSS, Chicago, IL, USA) software ve Starview software 5.0.1 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) 'e başvurulur. Duncan' s metoduna başvurularak sonuçlar karşılaştırılır. Farklılıklar $P< 0.05$ ise anlamlı kılınır. Anlamlılık seviyesi $*P<0,05$, $** P <0,01$, $*** P< 0,001$. Çift yönlü ANOVA ile değerlendirilir. Tüm sonuçlar için uygulanan tekrar sayısı (n) dikkate alınır ve böylece oluşabilecek hata seviyesi en aza indirilir.

5. BULGULAR

5.1. MORFOLOJİK DEĞİŞİMLER

51 gün süren 1. stres periyodunda kontrol bitkileri ile 3.2 mmol Cd uygulanmış stres bitkilerinde belirgin bir morfolojik fark görülmemiştir. 88 gün süren 2. Stres periyodunda ise Cd'a maruz kalmış bitkilerin bir kısmında bodurluk, yaprak azalması ve yaprak dökülmesi, gövde de hassaslaşma gibi morfolojik değişimler meydana gelmiştir. Bazılarında ise büyüme kontrol grubuna benzer olarak ilerlemiş fakat sararmalar ve klorozisler görülmüştür (Şekil 5.1.1)

-A- **-B-**



-C- **-D-**

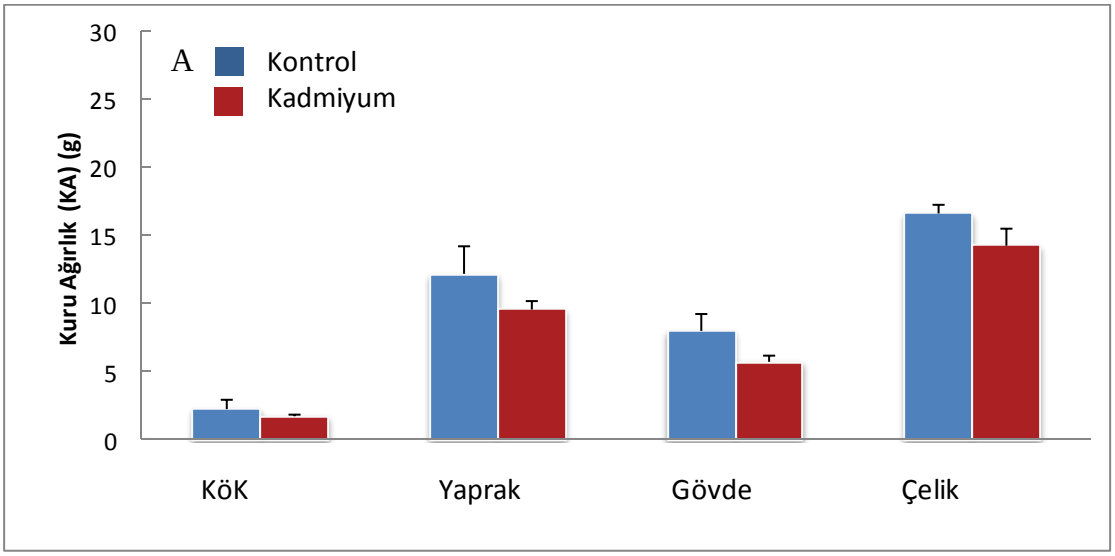
Şekil 5.1.1: 2. Cd stresi ile bitkilerde görülen morfolojik bozukluklar.

5.2. FİZYOLOJİK DEĞİŞİMLER

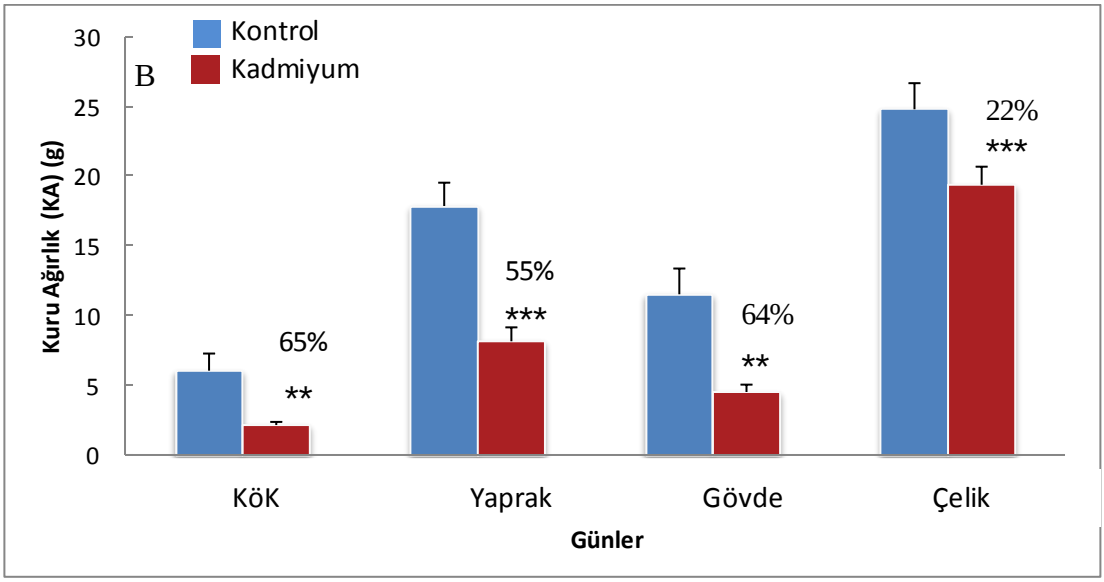
5.2.1 Kuru ağırlık ve su içeriği

Kontrol ve stres bitkileri organlarının (yaprak, gövde, çelik ve kök) su içerikleri (Sİ) ve kuru ağırlıkları (KA) her iki periyot sonunda ölçülmüştür.

51 gün süren ilk periyotta kontrol ve stres bitkilerinin (3.2mmol Cd) kuru ağırlıkları (KA) arasında farklılık görülmezken (Şekil 5.2.1.1A) en yüksek kuru ağırlık çeliklerde tespit edilmiştir. 88 gün süren 2. Periyot sonunda stres bitkileri organlarının (kök, yaprak, gövde ve çelik) kuru ağırlıkları Cd' dan (16mmol) önemli derecede etkilenmiştir (Şekil 5.2.1.1B). Kuru ağırlıklarda azalma miktarları sırasıyla %65, %55, %64 ve % 22 ' ye karşılık gelmektedir.

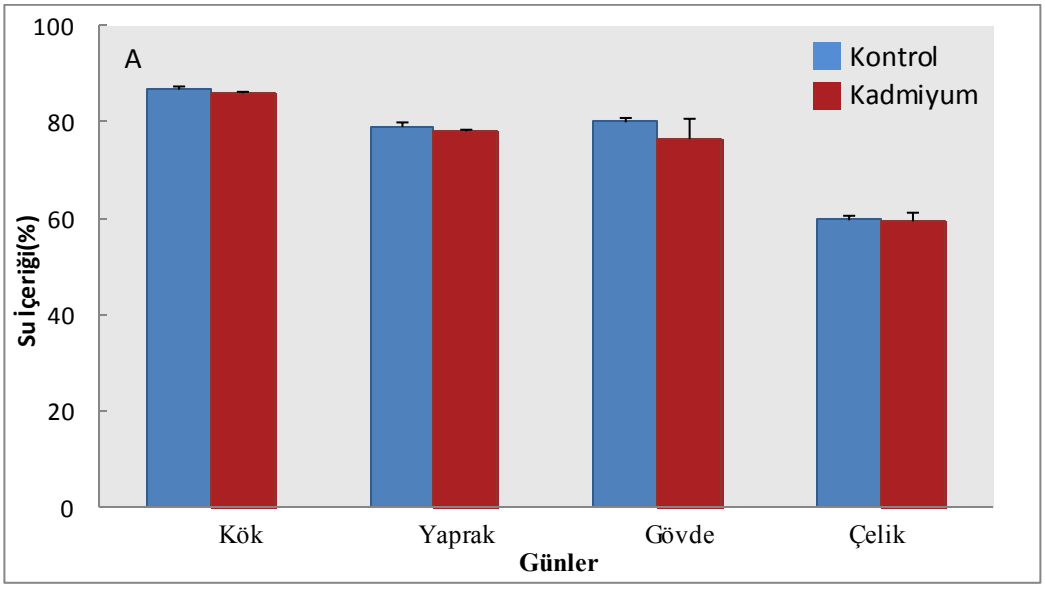


Şekil 5.2.1.1.A: Birinci periyot sonunda (51 gün) kontrol ve stres bitkilerin (her saksıda 3.2mmol) organlarında saptanan (kök, yaprak, gövde ve çelik) kuru ağırlık miktarları. Turuncu kolonlar kontrol bitkilerine, pembe kolonlar kadmiyuma maruz bırakılmış stres bitkilerine karşılık gelmektedir. (Birinci periyot için n=6) Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir.

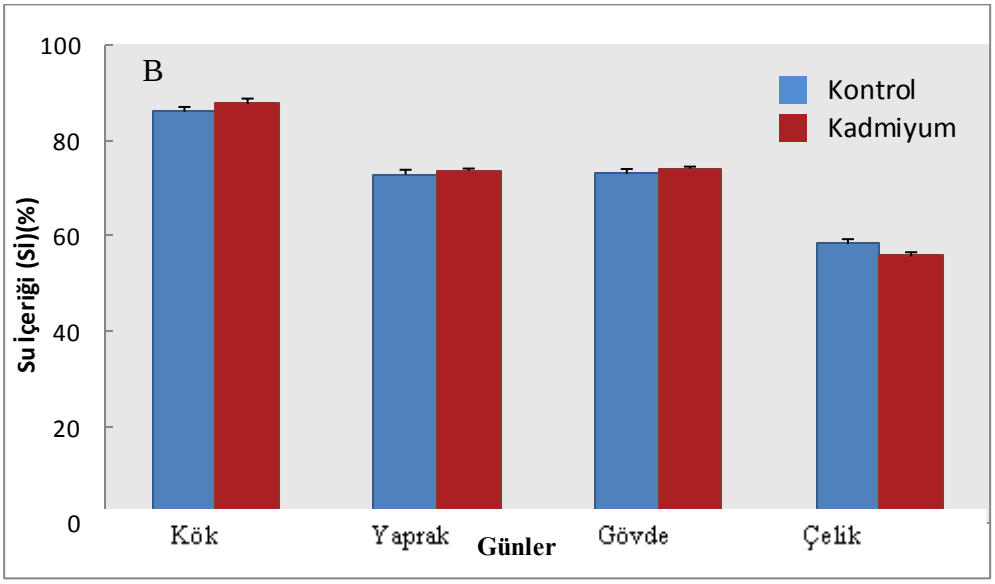


Şekil 5.2.1.1.B: İkinci periyot sonunda (88 gün) kontrol ve stres bitkilerin (her saksıda 16mmol) organlarında saptanan (kök, yaprak, gövde ve çelik) kuru ağırlık miktarları. Turuncu kolonlar kontrol bitkilerine, pembe kolonlar kadmiyuma maruz bırakılmış stres bitkilerine karşılık gelmektedir. (Birinci periyot için n=6)(İkinci periyot için n=8) Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir. * önemli farklılıkları temsil etmektedir. ; *P <0.05; **P < 0.01; ***P <0.001

Deneyler sonunda farklı organlardaki su içerikleri (Sİ) incelendiğinde her iki periyotta da önemli değişimler saptanmamıştır (Şekil 5.2.1.2).



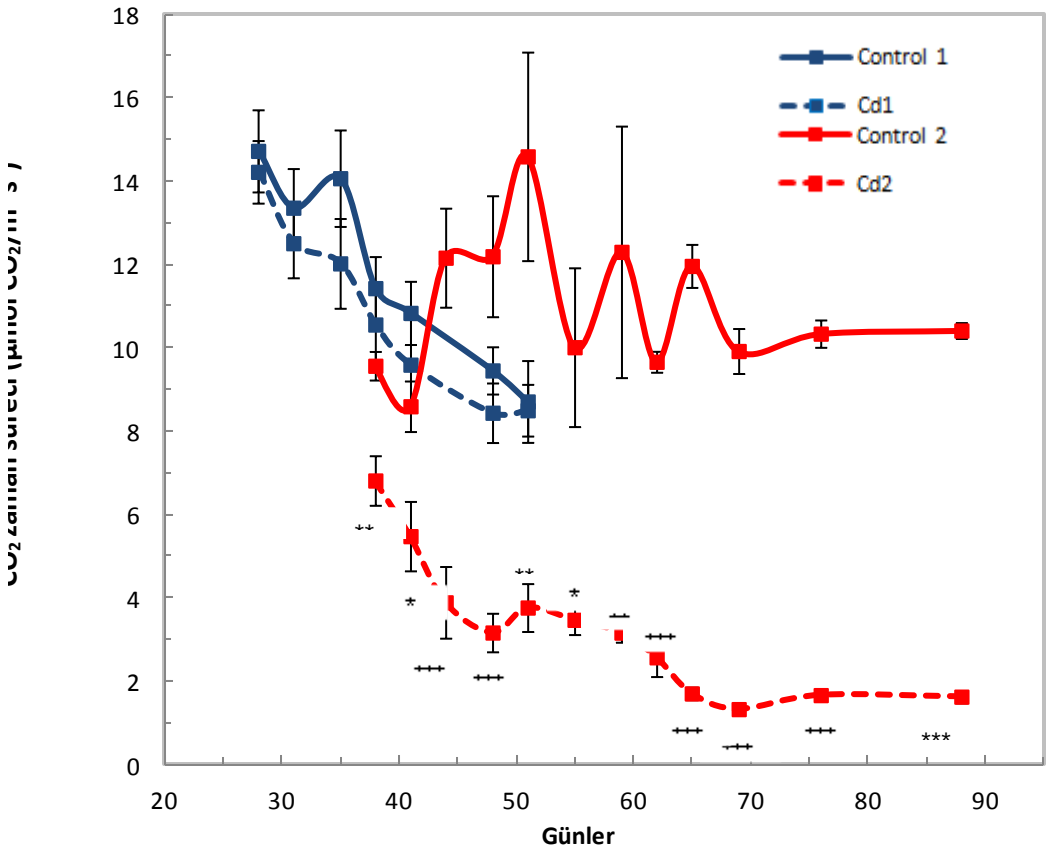
Şekil 5.2.1.2.A: Birinci periyot sonunda (51 gün) kontrol ve stres bitkilerin (her saksıda 3.2mmol) organlarında saptanan (kök, yaprak, gövde ve çelik) su içerikleri (Sİ). Koyu mavi kolonlar kontrol bitkilerine, açık mavi kolonlar kadmiyuma maruz bırakılmış stres bitkilerine karşılık gelmektedir. (Birinci periyot için n=6). Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir.



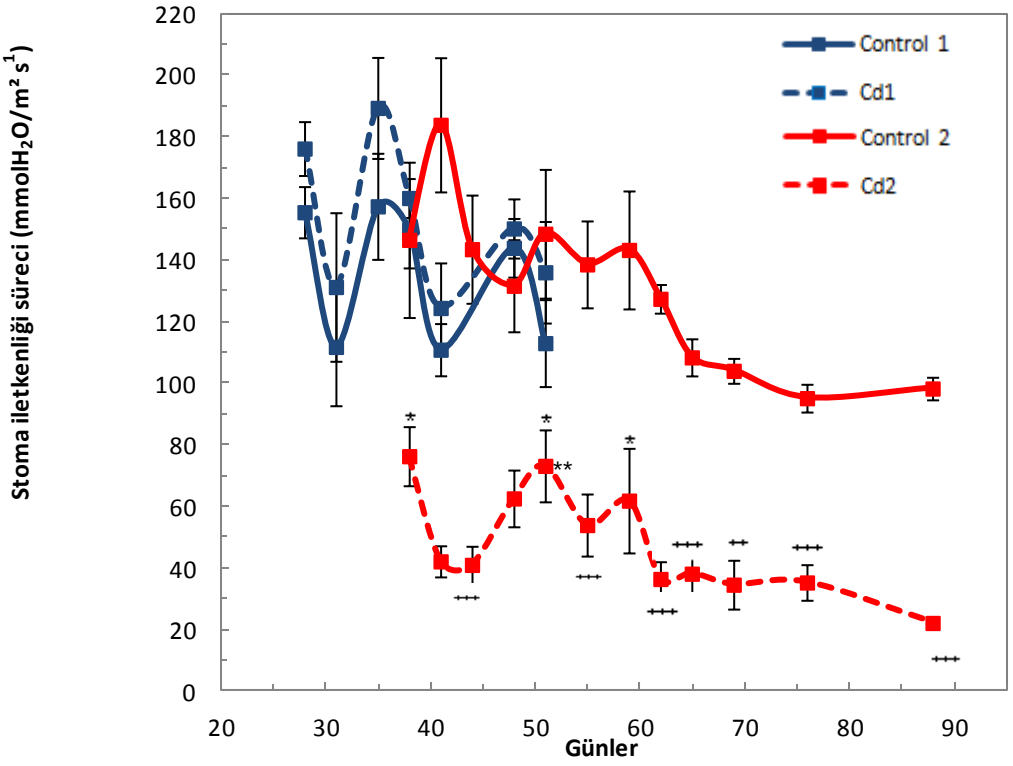
Şekil 5.2.1.2.B İkinci periyot sonunda (88 gün) kontrol ve stres bitkilerin (her saksıda 16mmol) organlarında saptanan (kök, yaprak, gövde ve çelik) su içerikleri (Sİ). Koyu mavi kolonlar kontrol bitkilerine, açık mavi kolonlar kadmiyuma maruz bırakılmış stres bitkilerine karşılık gelmektedir. (İkinci periyot için n=8) Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir.

5.2.2. Stoma iletkenliği ve CO_2 asimilasyonu

Birinci periyot boyunca yapılan ölçümlerle kontrol ve stres bitkilerinin stoma iletkenlikleri ve CO_2 asimilasyonları karşılaştırılmış ve anlamlı azaltıcı etki görülmemiştir. İkinci periyotta (16 mmol) ise her iki grup bitki karşılaştırılmış ve stres bitkilerinin kadmiyumdan etkilenerek stoma iletkenliği ve CO_2 asimilasyonun da azalışa neden olduğu tespit edilmiştir. İkinci periyot sonunda (88 gün) kontrol ve stres bitkilerinin arasındaki CO_2 asimilasyonu farkı %84 (Şekil 5.2.2.1A), stoma iletkenliği farkı %77 olarak belirlenmiştir (Şekil 5.2.2.1B).



Şekil 5.2.2.1A: CO_2 zaman süreci (µmol CO_2/m^2 s^1). Kesikli çizgiler kadmiyuma maruz bırakılmış stress bitkilerine karşılık gelirken kesikli olmayan çizgiler kontrol bitkilerine karşılık gelmektedir. Mavi çizgiler 1.periyodu (3,2 mmolCd)(n=6) temsil ederken kırmızı çizgiler 2.periyodu (16mmolCd) (n=8) temsil etmektedir. Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir. * önemli farklılıkları temsil etmektedir. ; *P <0,05; **P < 0,01; ***P <0,001

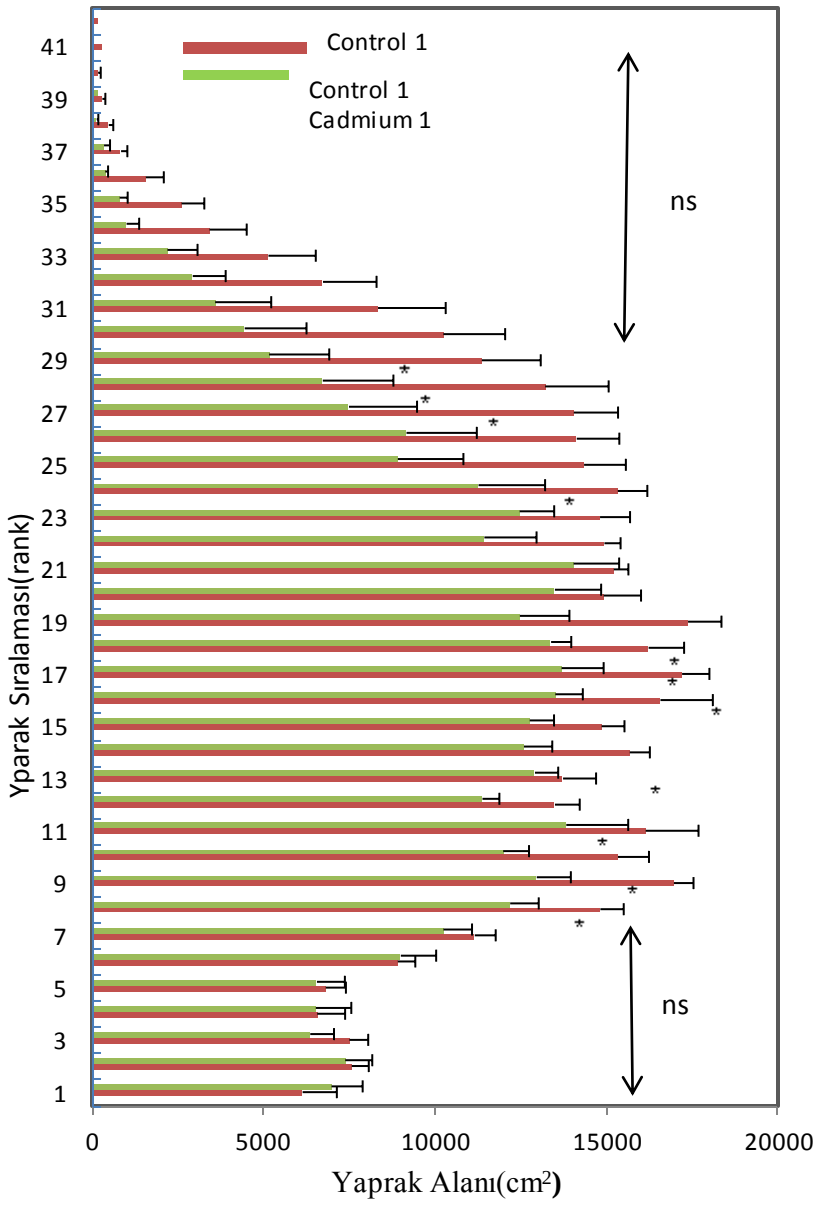


Şekil 5.2.2.1B: Stoma iletkenliği süreci (mmolH_2O/m² s^{-1}).Kesikli çizgiler kadmiyuma maruz bırakılmış stress bitkilerine karşılık gelirken kesikli olmayan çizgiler kontrol bitkilerine karşılık gelmektedir. Mavi çizgiler 1.periyodu (3.2 mmolCd)(n=6) temsil ederken kırmızı çizgiler 2.periyodu (16mmolCd) (n=8) temsil etmektedir. Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir. * önemli farklılıkları temsil etmektedir. ; *P <0.05; **P < 0.01; ***P <0.001

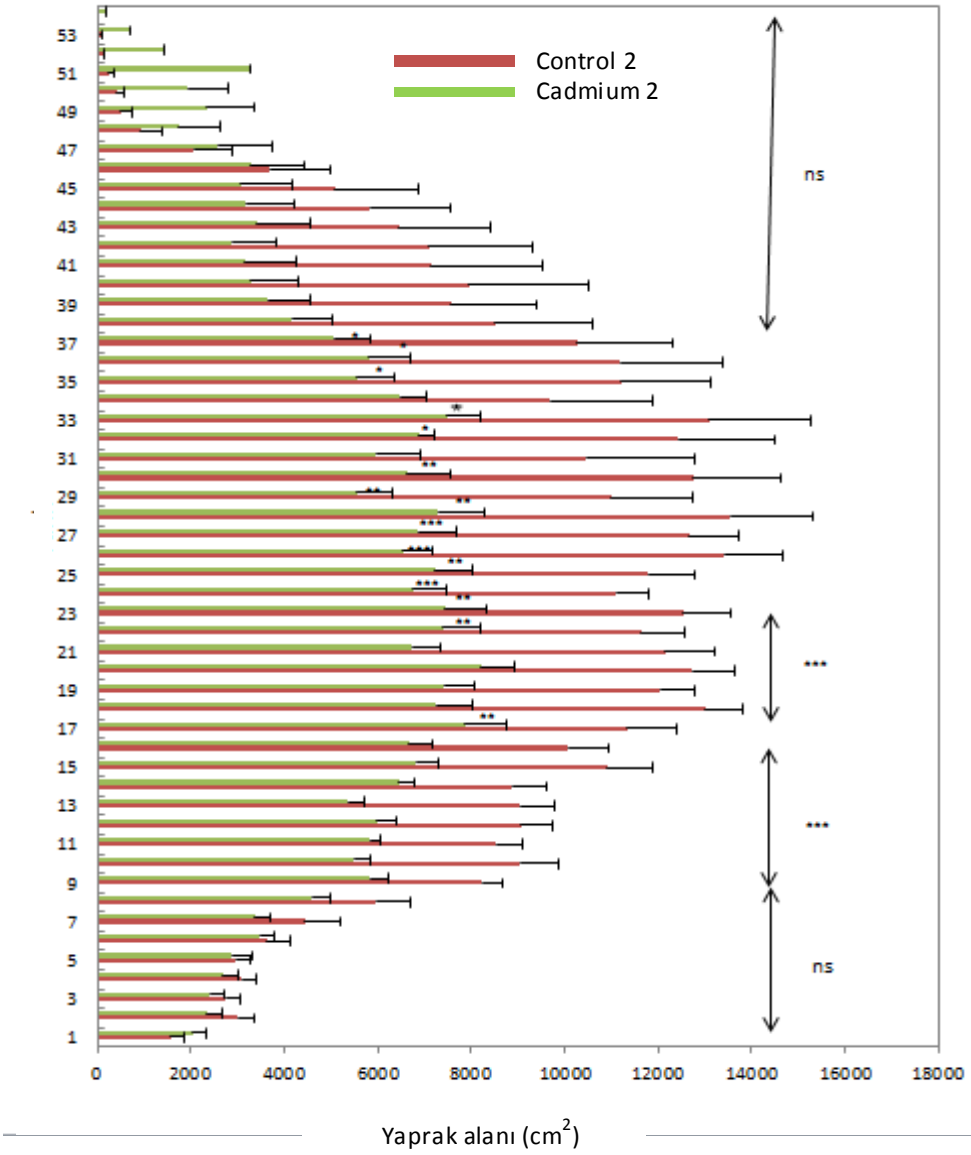
5.2.3. Yaprak Alanı Sıralaması

Birinci periyot sonunda kontrol ve stres bitkilerinin yaprak alanı sıralamaları arasındaki farkın 8. yapraktan 30. yaprağa kadar olduğu gözlenmiştir. Bu oran ise genç yaprakların yaprak alanlarında yaklaşık %50 den fazla azalışa neden olurken olgun yapraklarda bu oran yaklaşık %25 civarındadır (Şekil 5.2.3.1).

İkinci periyotta ise yaprak alanı sıralamaları arasında fark yaprak 10' dan 37 ' ye kadar gözlenmiştir. Bu da yaprak alanlarında % 50 lik bir azalışa karşılık gelmektedir (Şekil 5.2.3.2). Bununla beraber yaprak yüzey alanlarının ortalamalarına baktığımızda 1. Periyottaki alanın 2. Periyottaki yaprak alanı ortalamasından %30 daha fazla olduğu saptanmıştır.



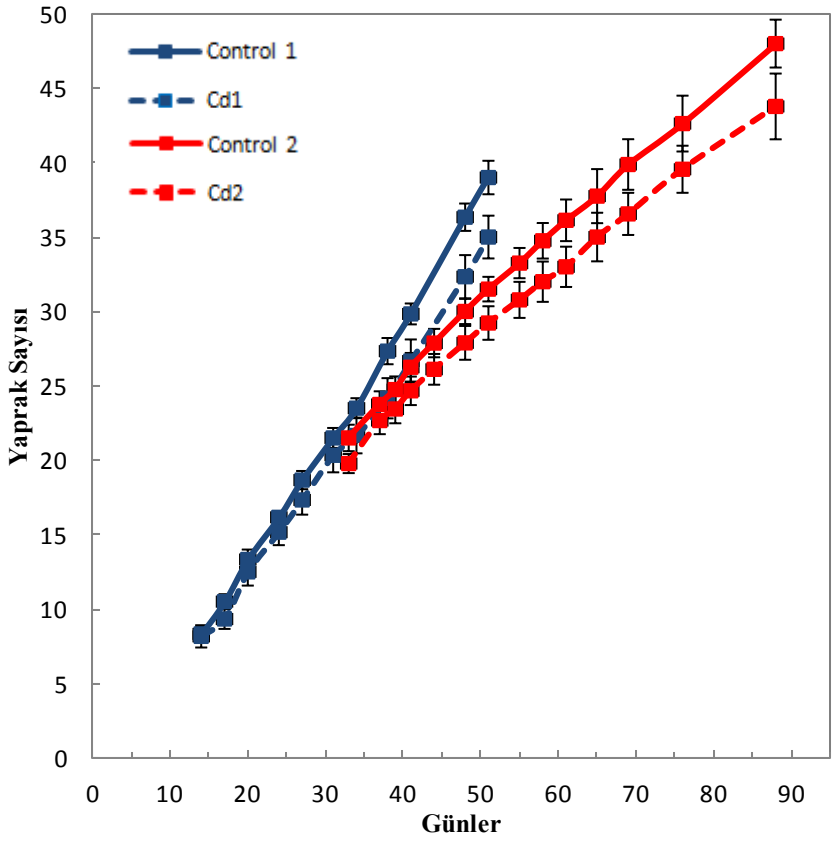
Şekil 5.2.3.1: *Populus tremula L. X Populus alba* 717-1B4 genotipinin yaprak alanının (cm^2) yaprak sıralamalarına göre dağılımı. Kırmızı kolonlar kontrol bitkilerine karşılık gelirken yeşil kolonlar kadmiyum stresine maruz bitkilere karşılık gelmektedir. Dikey çubuklar standart hata değerlerini (n=6) temsil etmektedir. * önemli farklılıkları temsil etmektedir. ; ns=önemli olmayan, *P <0.05; **P < 0.01; ***P <0.001



Şekil 5.2.3.2: *Populus tremula L. X Populus alba* 717-1B4 genotipinin yaprak alanının (cm^2) yaprak sıralamalarına göre dağılımı. Kırmızı kolonlar kontrol bitkilerine karşılık gelirken yeşil kolonlar kadmiyum stresine maruz bitkilere karşılık gelmektedir. Dikey çubuklar standart hata değerlerini (n=8) temsil etmektedir. * önemli farklılıkları temsil etmektedir. ; ns=önemli olmayan, *P <0.05; **P < 0.01; ***P <0.001

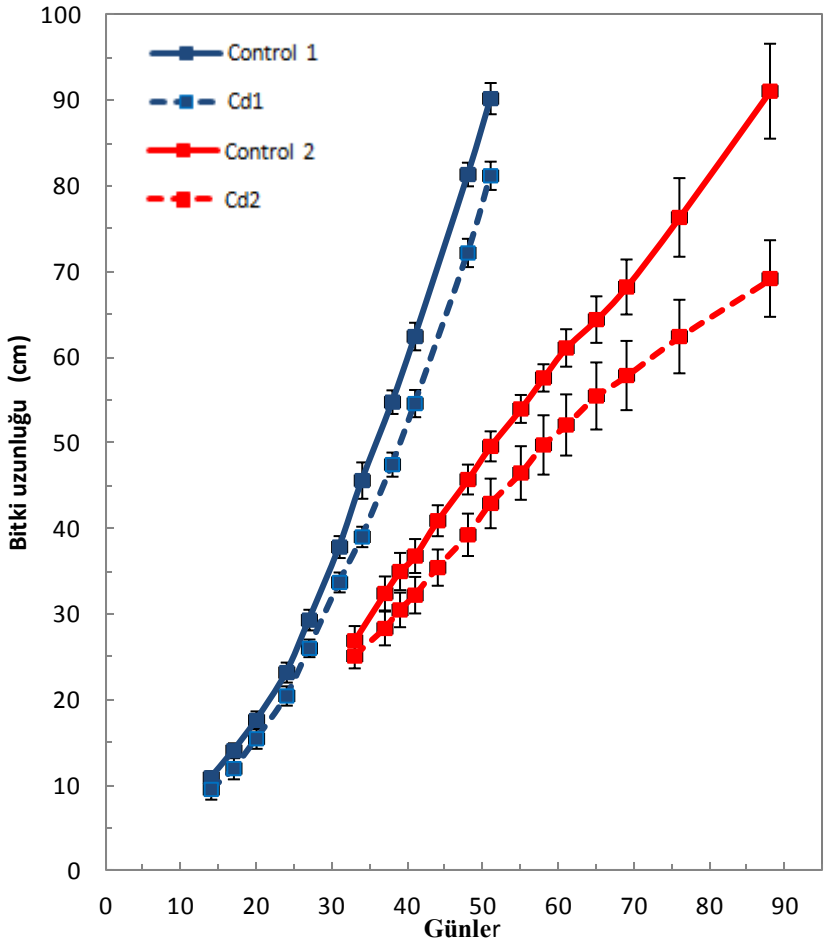
5.2.4 Yaprak Sayısı ve Bitki Uzunluğu

Yapılan istatistik analizi sonuçlarına göre her iki periyot içinde kontrol ve stres bitkilerinin yaprak sayılarına ilişkin herhangi anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 5.2.4.1).



Şekil 5.2.4.1: Yaprak sayısı zaman süreci. Kesikli çizgiler kadmiyuma maruz bırakılmış stress bitkilerine karşılık gelirken kesikli olmayan çizgiler kontrol bitkilerine karşılık gelmektedir. Mavi çizgiler 1.periyodu (3.2 mmolCd)(n=6) temsil ederken kırmızı çizgiler 2.periyodu (16mmolCd) (n=8) temsil etmektedir. Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir. * önemli farklılıkları temsil etmektedir. ; *P <0,05; **P < 0,01; ***P <0,001

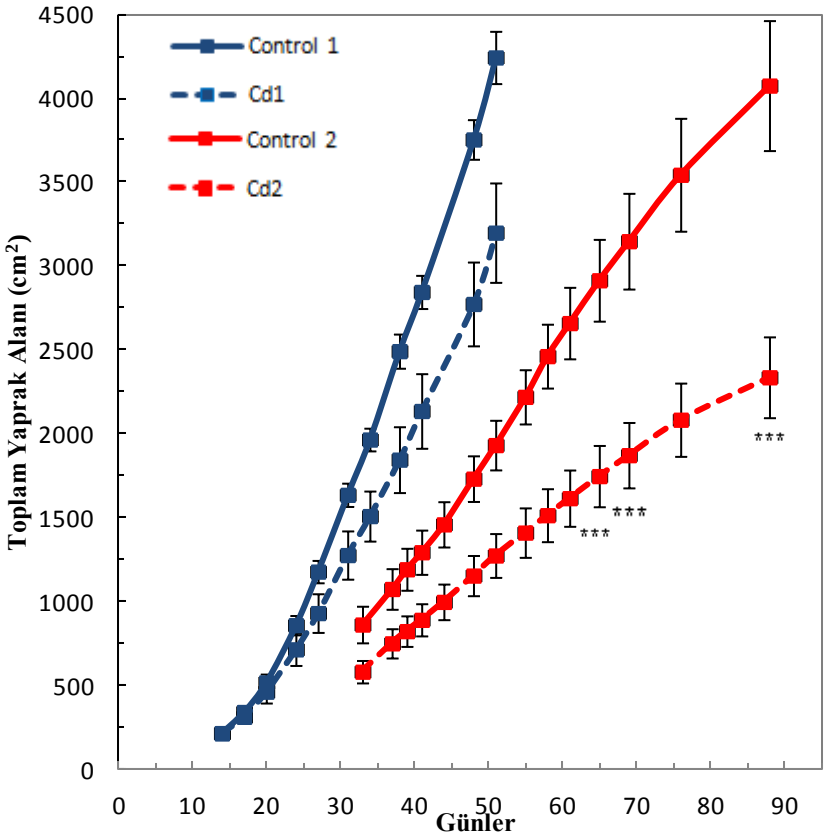
Kontrol ve stres bitkilerinin boy farkları ilk periyotta ağır metal stresine maruz bırakılmalarının 31. gününde gözlemlenirken ikinci periyotta bitki boy uzunluğu farkı stresin 71. gününde gözlemlenmiştir. Bununla birlikte periyotlar sonunda, kontrol ve stresli bitkiler arasındaki uzunluk farkı ikinci periyot bitkileri için daha yüksek tespit edilmiştir. Bu fark ikinci periyotta %50 iken ilk periyot sonunda sadece %25 olarak gözlendi (Şekil 5.2.4.2).



Şekil 5.2.4.2: Bitki uzunluğu (cm) zaman süreci. Kesikli çizgiler kadmiyuma maruz bırakılmış stres bitkilerine karşılık gelirken kesikli olmayan çizgiler kontrol bitkilerine karşılık gelmektedir. Mavi çizgiler 1.periyodu (3.2 mmol Cd)(n=6) temsil ederken kırmızı çizgiler 2.periyodu (16mmolCd) (n=8) temsil etmektedir. Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir. * önemli farklılıkları temsil etmektedir. ; *P <0,05; **P < 0,01; ***P <0,001

5.2.5 Toplam Yaprak Alanı

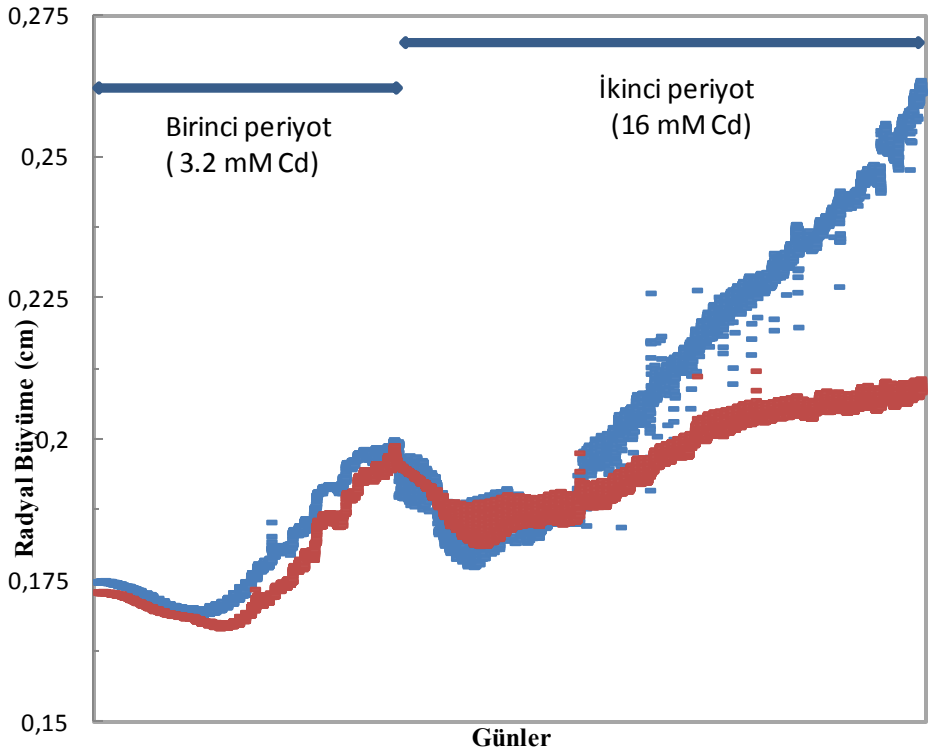
Toplam yaprak alanındaki anlamlı değişiklikler birinci periyodun 31. gününden itibaren gözlenmiş ve deney periyodunun son gününe kadar devam etmiştir. Birinci periyot süresince toplam yaprak alanı farkı yaklaşık olarak %25 olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.2.5.1). İkinci periyot boyunca toplam yaprak alanları birinci periyottan daha az olmasına rağmen aradaki fark ilk periyoda yaklaşık olarak aynı oranda karşılık gelmiştir (Şekil 5.2.5.1).



Şekil 5.2.5.1: Toplam yaprak alanı (cm^2) zaman süreci. Kesikli çizgiler kadmiyuma maruz bırakılmış stres bitkilerine karşılık gelirken kesikli olmayan çizgiler kontrol bitkilerine karşılık gelmektedir. Mavi çizgiler 1.periyodu (3.2 mmol Cd)(n=6) temsil ederken kırmızı çizgiler 2.periyodu (16mmolCd) (n=8) temsil etmektedir. Dikey çubuklar standart hata değerlerini temsil etmektedir. * önemli farklılıkları temsil etmektedir. ; *P <0,05; **P < 0,01; ***P <0,001

5.2.6. Radyal Büyüme

Birinci periyot boyunca kontrol ve stres bitkilerin radyal büyümeleri arasında önemli bir fark görülmemiştir. Periyot bitiminde (51 gün sonunda) bitkiler 0.025 cm radyal büyümede artış göstermişlerdir. İkinci periyod boyunca kontrol ve Cd stresli bitkiler arasında anlamlı farklılıklar kaydedilmiştir. Kontrol bitkilerinin radyal büyümesi stres bitkilerinden 3 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu da yaklaşık olarak 0,06cm ye karşılık gelmektedir (Şekil 5.2.6). Fakat istatistiksel olarak herhangi bir fark görülmemiştir.



Şekil 5.2.6: Zamana göre radyal büyüme (cm^2). Mavi çizgiler kontrol bitkilerini temsil ederken kırmızı çizgiler stres bitkilerini temsil etmektedir.

5.2.7 Element Analizleri

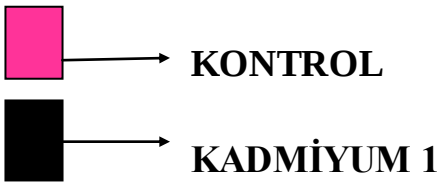
ICP-OES cihazında yapılan element analizlerine göre kök, çelik, gövde ve yapraklarda belirlenen Cd, Zn, Ni, Fe, Mn, Cu, Al, P, Mg, Ca konsantrasyonlarında her iki uygulama için de farklılıklar saptanmıştır. Element alımı, taşınması ve birikimi ile ilgili olarak kökler ile topraküstü organlarında bazı elementlerin artışı gözlenirken bazılarında indirgenmeler bulunmaktadır (Tablo 5 A-B).

Toprak analizi sonuçlarına göre, Cd uygulamaları ile birlikte toprak elementlerinin bazılarında farklılıklar gözlenmiştir (Tablo 6 A-B).

Tablo 5: Farklı sürelerde farklı Cd konsantrasyonları uygulanmış *Populus tremula* x *P. alba* (717-1B4 genotip) bitkilerinin organlarında element analizleri (mg/kg). *: Uygulamalar arasındaki anlamlı değişiklikleri temsil etmektedir. A. Birinci Periyot (3,2 mmol Cd), B. İkinci Periyot (16 mmol Cd).

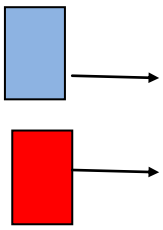
-A-

	Kök	Çelik	Gövde	Yaprak
Cd	**0,0*** **	**0,0*** **	**0,0*** **	**0,33***
	68,50	**35,50**	**12,50**	**58,40**
Zn	32,20	11,10	22,40	64,30
	172,2	73,70	41,50	63,60
Ni	0,0***	0,0***	0,0***	0,0
	5,84	0,53	3,69	0,0
Fe	283,7	14,40*	15,80	50,30
	253,3	0,0	0,0	84,60
Mn	2,400	0,0***	0,0***	28,3
	10,80	2,650	4,620	28,80
Cu	0,0***	0,0***	0,0***	0,0***
	2,400	0,0	0,0	0,0
Al	63,60	37,10 **	0,0	0,0
	162,1	0,0	0,0	0,0
P	2587	647,9	2074	2289
	2827	557,5	2037	2261
Mg	855,2 **	262,8 ***	751,2 ***	1851*
	551,5	140,7	503,3	1488
Ca	8139*	3625	5668**	9661
	6335	3034	4551	8605



-B-

	Kök	Çelik	Gövde	Yaprak
Cd	0,009 ***	0,0***	0,0***	0,223***
	388,9	174,5	45,80	55,80
Zn	33,9	29,57	0,0***	25,46*
	65,80	23,20	25,90	52,90
Ni	0,0***	0,0	0,0	0,0
	14,01	0,0	0,429	0,0
Fe	307,3	20,44***	6,235	234,3***
	386,1	0,0	0,0	0,0
Mn	18,98	2,216	0,0	22,32
	16,50	2,052	4,46	24,10
Cu	4,028*	0,262	0,0	0,0
	1,661	1,817	0,0	0,0
Al	93,44	0,0	12,60***	0,0
	91,20	0,0	0,0	0,0
P	1371**	564,7	1422*	1804**
	1888	739,3	2402	2345
Mg	931,3 ***	350,6**	487,2	1940
	552,6	158,5	563,4	2163
Ca	8396 **	4349*	4767*	9459
	6932	3150	8232	9931



KONTROL

KADMİYUM 2

Tablo 6: Farklı sürelerde farklı Cd konsantrasyonları uygulanmış *Populus tremula* x *P. alba* (717-1B4 genotip) topraklarındaki element analizleri (mg/kg). *: Uygulamalar arasındaki anlamlı değişiklikleri temsil etmektedir. A. Birinci Periyot (3,2mmol Cd), B. İkinci Periyot (16mmol Cd).

	-A-	-B-
Cd	**0,284*** **	**0,864*** **
	80,43	**989,9**
Zn	0,0	27,29
	0,0	59,63
Ni	4,533	22,11
	7,438	35,74
Fe	1209	1623
	1172	1789
Mn	52,05	57,75
	46,53	64,54
Cu	17,06	11,12
	6,448	12,94
Al	840,7	1073
	685,7	1241
P	237,4	131,9
	205,0	143,7
Mg	999,3	746,0
	922,7	766,2
Ca	9145	6936
	6511	7560



6.TARTIŞMA VE SONUÇ

Metaller içerisinde kurşun, çinko, bakır, kobalt, kadmiyum, krom, nikel, arsenik, cıva ve gümüş gibi iyonlar, kalıcı etkilerinden dolayı canlı sistemleri ve çevre sağlığı yönünden önem taşımakta olup belirli bir sınırı aştıklarında da toksik etki gösterebilmektedirler (Kieffer ve ark., 2008).

Ağır metal stresi; Cu ve Cd gibi ağır metaller kloroplast yapısının bozulması, klorofil ve karotenoid biyosentezinin inhibe olması fitosistemlerdeki klorofil bütünlüğünün bozulması (Caspi ve diğ.,1999), elektron akımının aksaması, Kalvin döngüsü enzimlerinin aktivitelerinin inhibe olması, stoma sayısında ve işlevindeki değişikliklere bağlı CO_2 yetersizliği gibi olumsuz durumlara yol açarak fotokimyasal aktivitenin inhibisyonuna neden olmaktadır (Macfarlane ve Burchett, 2001; Prasad ve diğ, 2001). Bitkiler Cd ve Pb stresine yüksek derece hassaslardır. Topraktaki Pb'un biyolojik alınabilirliği ise Cd ile karşılaştırıldığında oldukça düşüktür (Daghan et al. 2010).

Toprakta 3 mg/kg, bitki kuru maddesinde ise 1 mg/kg' dan fazla kadmiyum toksik etkilidir (Özbek ve ark., 1995). Allen ve ark. kirlenmemiş doğal alanlardaki kadmiyum konsantrasyonlarını 0,01-0,03 ppm olarak belirtmişlerdir. Sawidis ve ark. (2001) bitkilerdeki ortalama kadmiyum konsantrasyonu değerlerini 0,46-1,82 ppm olarak belirtmişlerdir. Toksik Cd tohum çimlenmesi ve büyüme oranını azaltır (Xiong 1997,. Larbi ve ark., 2002). Ayrıca fotosentez verimliliği, solunum ve terleme olaylarını da olumsuz yönde etkiler (Ciscato ve ark 1999, Larbi et al 2002).

Kadmiyumun kökten alımı ve kökten gövdeye taşınımı, bitkideki birikimi ile ilgili iki önemli fizyolojik süreçtir (Clemens 2006). Kadmiyum stresi altında bitkilerin su ve iyon alımının azalmasının en önemli nedeni kök büyüme ve gelişmesini engellemesidir. Ayrıca kadmiyum stresi altındaki bitkilerde stomaların kapanması nedeniyle transpirasyonla su kaybı azaltmakta ve kadmiyum taşınması engellenmektedir (Salt ve ark., 1995).

Casio ve ark., (2006)'nın söğüt (*Salix*) ile yaptıkları bir çalışma da 200µM Cd uygulanan bitkilerin yapraklarında Cd birikiminin azalmasıyla doğru orantılı olarak görünür **yaprak semptomları** azalırken, 50µM Cd uygulananlarda klorozis ve nekrozisin etkileri Cd birikimine paralel olarak en yüksek gövde de gözlenmiştir. Bu bulgularla klorozis ve nekrozisin bitkide Cd birikiminden ortaya çıktığı belirtilmiştir. Buna benzer olarak Salt ve ark. 1995 yılında *Brassica juncea* ile yaptıkları çalışmada Cd toksisitesinin genç yapraklarda klorozis oluşumuna sebep olduğunu göstermiş ve böylece Cd' un bu genç yapraklar içinde birikmesiyle kloroz lokalizasyonunun da incelenebileceğini belirtmişlerdir. Klorozis klorofil kaybını da yansıtabilir, buna paralel olarak Cd erken senesens oluşumunu tetikleyebilir (McCarthy ve ark. 2001).

Kadmiyumun büyüme ve fotosenteze olan etkisini araştıran Dong ve ark. (2005) domates tohumlarına 3 farklı konsantrasyon kadmiyumun uygulamışlardır. Deney sonunda ağır metalin fitotoksik etkisinden dolayı görsel olarak bitki yapraklarında nekrozis, klorozis, kırmızımsı-kahverengi yapraklar, kök sisteminde ise kısalmalar gözlenmiştir. Durand ve ark.'ı 2010 yılında *Populus*'ta Cd ve Zn etkilerini araştırmış ve deneyin ilk evrelerinde birincil büyüme üzerinde etki görmezken, Cd birikiminin artmaya başlamasıyla bitkide özellikle de yapraklarda daralma ve nekrozis gözlenmiştir. Benzer şekilde *Populus* üzerinde yaptığımız çalışmamızda Cd konsantrasyonun arttırıldığı (16 mmol) ikinci periyotta **morfolojik değişimler** görülmüştür. Gövde hassaslaşması ve bodurluk oluşumunu tetiklemiştir. Yaprakta Cd birikimi ilk periyot ile aynı olmasına rağmen yaprak azalması, dökülmesi, sararması ve klorozis ikinci periyotta gözlemlenmiştir. Bu morfolojik değişimlerin artan Cd konsantrasyonunun diğer elementlerin alımı ve taşınmasına etki etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Poschenrieder ve ark., 1988 yılında kadmiyumun fasulye yapraklarının **su ilişkileri,** stoma ilişkileri ve absisik asit üzerine etkilerini araştırmışlar. 3 µM kadmiyum uygulanmış ve 12 gün takip edilmiştir. Takibin 4. Gününden itibaren yaprakların su içeriğinde azalma ve stomatal kısıtlamalarda artış gözlendiği belirtilmiştir. Kök ve

yapraklarda büyümenin azaldığı fakat kuru ağırlığın çok fazla değişmediği gösterilmiştir.

Cd konsantrasyonunun artmasıyla **bitki biyokütlesi** ve **yaprak boyutlarında** azalma olduğu Cieslinski ve ark. tarafından gözlenmiştir (1996). Bitki biyokütlesi kadmiyuma maruz kalma sürecine göre etkilenebilir. Uzun dönem kadmiyuma maruz kalanların biyokütlesi kısa dönem kalanlardan daha azdır. Kadmiyum tarafından olumsuz etkilenmiş bir hiperakümülatör bitki yavaş büyüdüğünden dolayı biyokütlesi de bu doğrultuda az olmaktadır (Wu et al. 2007; Zhuang et al. 2007).

Toprakta yetişen bitkilerde örneğin çilekte kadmiyumun başlıca birikim yeri kök olmasına rağmen yaprak kuru ağırlığı kök kuru ağırlığından daha çok kadmiyumdan etkilenmektedir. Bu bilgiler ışığında yazarlar yaprak kuru ağırlığının kadmiyum toksisitesini belirlemede en iyi belirteç olduğunun sonucuna varmışlar.

Buna karşın bazı yazarlar (Shukla ve ark., 2003; Sottnikova ve ark., 2003) yüksek kadmiyum konsantrasyonunda köklerin toprak üstü organlardan daha çok zarar gördüğünü savunmaktadırlar. Kökler metale ve toksisiteye maruz kalan ilk kısımlardır ve bu nedenle kök biyokütlesi diğer kısımlara göre daha fazla etkilenir.

Biyokütlenin azalması bitki hücrelerinin bölünme ve uzamasının ağır metaller tarafından inhibe olmasıyla açıklanmaktadır (Arduini ve diğ., 1994; Mishra, S., ve diğ., 2006). Clarke ve Brennan (1980), 30 gün süre ile 1 ppm Cd uygulanan *Populus tremuloides* bitkisinin gövde uzunluğunda kontrole göre artış gösterdiğini kaydetmişlerdir. Aynı sonuç, *Fagus sylvatica'*da Kahle (1988) tarafından kanıtlanmıştır. *L. esculentum* bitkisiyle yapılan araştırmada da, 10 µM Cd uygulanan bitkilerin gövde uzunluklarında kontrole göre %7,5'luk bir artış gözlenmiştir. Aynı araştırmada Cd en fazla birikimi köklerde ölçülmüştür.

Bu bilgiler ışığında bizim çalışmamızda da benzer sonuçlara rastlanmıştır. Her iki periyodun su içeriklerinde herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Bitki organlarının kuru ağırlıklar incelendiğinde ilk periyotta anlamlı fark bulunmazken ikinci periyotta kök kuru ağırlığı kadmiyum toksisitesinden en çok etkilenen organ olmuştur. Bunu sırasıyla gövde yaprak ve çelik izlemiştir. Bu sonuca göre 16 mmol Cd kökte toprak üstü organlarından daha çok tahribata yol açmıştır.

Seregin ve Ivanov (1997) mısırlar da yaptıkları çalışma sonucunda kadmiyumun kalın köklere incelerden daha az etki ettiği belirtilmiştir. Ayrıca kadmiyum ana kök gelişimine olumusuz etki etmesine rağmen, kök dallanmasını önleyememiştir.

Dong ve ark. (2005) **yaprak sayıları** ve **bitki uzunluğu**ndan yola çıkarak kadmiyum konsantrasyonu ve maruz bırakılan zaman arttıkça, zararlı etkilerin de güçlendiğini belirtmişlerdir. Bitki organ ağırlıkları ve **yaprak alanları** da kadmiyum konsantrasyonu ile ters orantılı etki göstererek azalmıştır. Yaprak sayısının azlığı fotosentezi etkiler ve bitkinin biyokütlesi düşer. Ayrıca N metabolizmasının inhibe olması ile de biyokütle azalır (Xiong, Z.-T, 2006).

Buna paralel olarak çalışmamızda her ne kadar anlamlı fark oluşmasa da Cd konsantrasyonuna bağlı olarak **yaprak sayıları** azalmıştır. Bitki uzunlukları her iki periyotta da anlamlı azalmıştır. Bu da gösteriyor ki yüksek kadmiyum seviyeleri dokularda geri dönüşü olmayan zararlara neden olmaktadır. Çalışmamızın ikinci periyodunun yaprak alanlarında birinciye göre azalma kaydedilmesine rağmen kontrol ve stres bitkilerinin arasındaki fark her iki periyotta da eşittir.

Stoma ilişkileri (Gs) ve CO_2 konsantrasyonu Cd ile ters orantılı olarak azalmıştır (Dong ve ark., 2005). Stoma işlevselliği su stresinin artmasıyla azalmaktadır (Comstock, 2002). Durand ve ark. (2006) *Populus tremula X Populus alba*' nın kambiyal aktiviteleri üzerine yaptıkları araştırmada stoma işlevselliğinin 110 mmol H_2O m^{-2} s^{-1} altına düştüğünde radyal büyümenin durduğunu gözlemlemişlerdir. Durand ve ark.(2006)'nın kadmiyum ve çinko nun *Populus* üzerine yaptıkları çalışma sonucuna göre stoma iletkenliği ve fotosentez çinko dan etkilenmezken kadmiyum önemli azalımlara neden olmuştur. Fotosentez farkı %93 iken stoma iletkenliği farkı %56 olarak ölçülmüştür. Benzer olarak bizim çalışmamızda da fotosentez farkı %84 ve stoma iletkenliği farkı %77 olarak ölçülmüştür.

İkincil büyüme; bütün büyüme süreci boyunca bitkinin su içeriğinden etkilenmektedir (Ortuno ve ark., 2004). Doku kesitlerinde ölçülen ksilem genişliğindeki artış, nokta dendrometre ile ölçülen radyal genişlemeye karşılık gelir. Bu çaptaki artışa başlıca ksilem üretimi neden olmaktadır (Larson 1994). Bu bilgi doğrultusunda çalışmamızdaki her iki periyotta da radyal büyümede anlamlı farklılıklar oluşmamıştır. Ve bu sonuç su içerikleriyle paralellik göstermiştir.

Cd ve Pb gibi ağır metallerin konsantrasyonunun artması, bitkilerin K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn gibi besin elementlerinden yararlanmasını engellemektedir (Sharma ve Dubey, 2005). Bu elementlerden Mg ve Fe klorofil sentezi için gereklidirler ve eksikliği klorofil miktarının azalmasına neden olmaktadır (Ouariti ve diğ., 1997). Ağır metaller bitkide Fe, Zn ve Mn gibi klorofil oluşumunda görev alan iyonlarla yer değiştirerek, bitkinin bu metalleri yeterli düzeyde alamamasına sebep olur böylece yapraklarda kloroz meydana gelir (Kukkola, E. ve diğ., 2000; Lombardi, L., 2005). Metal eksikliğinde protein sentezinin inhibe olması sonucu klorofil biyosentezinin baskılanmasından kloroz meydana gelir. Tekrar klorofil sentezi olmadığı için yapraklarda meydana gelen sarı renk tekrar yeşile dönüşemez (Ghnaya ve diğ., 2005). Ayrıca Cu klorofil oluşumu için gerekli bir elementtir. Kloroz; metallerin birbirleriyle olan antagonistlik ya da sinerjik etkileşiminden doğan metal eksikliğinden ya da kloroplast ve mezofil yapısının bozulmasından ileri gelmektedir.

Birinci ve ikinci periyot Cd uygulamaları ile birikim, antagonizm ve sinerjizm üzerinde yaptığımız değerlendirmeler sonucunda, düşük Cd konsantrasyonu uygulanan deney grubunda Cd'un % 85'inin köklerde biriktirildiğini, % 52 çelik, % 18 gövde ve % 85 ise yapraklarda biriktirildiğini belirledik. Yüksek Cd konsantrasyonu uygulamasında ise topraktaki Cd'un % 40'ı köklerde birikmiştir. Köklerdeki Cd'un % 45'i çelik, % 12'i gövde, % 14'ü ise yapraklarda bulunmuştur. Verilerimiz ışığında Cd'un özellikle köklerde biriktirildiğini ve topraküstü organlara da belli oranlarda taşınabildiğini görmekteyiz. Farklı bitkilerde Cd birikimi ile benzer sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir (Kabata-Pendias ve Pendias, 1986; Bayçu, 1992, 1995; Prasad, 2004).

Düşük konsantrasyonda uygulanan Cd denemelerinde **Zn**'nun kökte 5 kat, çelikte 7 kat, gövdede 2 kat arttığı, yaprakta ise değişmediği belirlendi. Yüksek Cd konsantrasyonu

ile birlikte Zn'nun kökte 2 kat arttığı, çelikte değişmediği, gövde ve yaprakta ise yaklaşık 2 kat artış gösterdiği gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre, Cd konsantrasyonunun daha az olduğu birinci periyotta Cd alımı ve taşınımının daha kolay gerçekleşebilmesi nedeni ile köklerde ve çelikte daha fazla Zn birikimi olduğunu düşünüyoruz. Cd konsantrasyonunun artması ile köklerle Zn alınımı zorlaşmış ancak yine de yapraklara 2 kat daha fazla Zn iletilebilmiştir. Zn absorpsiyonu ve taşınmasının Cd varlığında artış göstermesi, **Cd-Zn sinerjik** ilişkisine bağlı olarak birlikte bir iyon hareketi bulunduğunu belirtmektedir (Kabata-Pendias ve Pendias, 1986; Prasad, 2004).

Artan Cd konsantrasyonu ile birlikte özellikle köklerde **Ni** miktarı artmaya başlamıştır. Birinci periyottan 6 kat, ikinci periyotta 14 kat olarak belirlenen kök Ni konsantrasyonu sadece düşük Cd uygulaması grubunda gövdede 3 kat birikim göstermiş diğer gruplarda bir değişiklik göstermemiştir. **Cd-Ni sinerjik** ilişkisini köklerde görebilmemize rağmen, bitkinin üst organlarına iletilmesinde bir engel meydan gelmiş olabileceğini düşünüyoruz

İlk periyotta, **Fe** konsantrasyonu kökte %10'luk bir azalma gösterirken, çelik ve gövdede %15 azalmış, yapraklarda ise 2 kat artış bulunduğu gözlemlenmiştir. Yüksek Cd konsantrasyonu ise, köklerde %25 daha fazla birikime neden olmuşsa da gövde ve çeliğe taşınımı engellenmiştir (% 5-20). Yapraklardaki Fe miktarının 200 kat azaldığı ve yüksek Cd ile birlikte Fe alımının ve taşınımının azalarak Fe eksikliği semptomlarına benzer etkilere neden olduğu düşünülmektedir. Bitkilerde Cd toksisitesinin en belirgin özelliği büyümede yavaşlama ve klorozdur. Bununla beraber iletim sistemindeki olumsuz etkiler nedeniyle yapraklarda Fe eksikliğine neden olmakta ve meydana gelen besin dengesizliği damarlar arası klorozu oluşturmaktadır (Gauch 1973; Smith ve Brennan 1985; Benavides ve ark., 2005). **Cd-Fe antagonistik** ilişkisi bazı diğer yazarların verileriyle de uyum göstermektedir (Kabata-Pendias ve Pendias, 1986; Prasad, 2004).

Mn konsantrasyonu, birinci periyot Cd uygulamasında gerek kök ve gerekse gövdede 5 kat artış göstermiş, yapraklarda değişmemiştir. İkinci periyot Cd uygulamasında ise köklerde %10 daha az Mn birikirken, yapraklarda sadece %5 artış görülmüştür. Sonuçlarımıza göre, düşük Cd uygulamalarında **Cd-Mn sinerjik** etkisinden söz etmek

mümkünken, yüksek Cd ile daha değişken etkiler nedeniyle taşınmanın zorlaştığını ve antagonistik olabileceğini belirtmek isteriz (Kabata-Pendias ve Pendias, 1986; Prasad, 2004).

Farklı Cd uygulamaları, **Cu** alımı ve taşınmasında da değişken veriler elde etmemizi sağlamıştır. Düşük Cd konsantrasyonunun köklerdeki Cu birikimini 2 kat arttırdığı, topraküstü organlarda ise bir değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır. Yüksek Cd uygulaması ise köklerde Cu alımını %40 azaltmış, gövde ve yapraklardaki Cu miktarını ise değiştirmemiştir. **Cd-Cu** etkileşiminin özellikle kök absorpsiyonunda önemli olduğunu söylemek mümkündür. Bu etkileşim, düşük Cd ile sinerjik olabilirken yüksek Cd ile antagonistik olabilmektedir, yapraklara taşınımda ise etkili değildir (Kabata-Pendias ve Pendias, 1986; Prasad, 2004).

Köklerde **Al,** düşük Cd konsatrasyonu ile 3 kat artış göstermiş ancak gövde ve yaprakta bir değişim saptanmamıştır. Kök absorpsiyonunda **Cd-Al** sinerjik ilişkisinden bahsetmek mümkünken, gövde ve yapraklara taşınımda bir engel mekanizmasının bulunabileceği düşünülmektedir. Yüksek Cd uygulamasının ise sadece gövdede Al artışına neden olması (12 kat) ilginç bir bulgudur ve bu bitkinin Al fitoektraksiyonu konusunda araştırılması gerektiğini düşündürmektedir (Kabata-Pendias ve Pendias, 1986; Prasad, 2004).

İlk uygulanan Cd periyodu **P**'un köklerde %10 artışına neden olmakla birlikte gövde ve yapraklarda bir değişiklik görülmemiştir. İkinci Cd periyodu ise, köklerde %40, gövdede %70, yapraklarda ise %30 P artışına neden olmuştur. Veriler doğrultusunda, *Populus* ve Cd ile yürütülen çalışmamızda **Cd-P sinerjik** ilişkisinin bulunduğunu ifade edebiliriz (Kabata-Pendias ve Pendias, 1986; Prasad, 2004).

Cd konsantrasyonu uygulanan bitkilerde **Mg** alımı ve taşınımı önemli ölçüde etkilenmiştir. Düşük Cd uygulamasında Mg konsantrasyonu kök ve gövdede %35, yapraklarda %20 azalmış, yüksek Cd uygulamasında ise köklerdeki Mg'un %40 azaldığı belirlenmiştir. **Cd-Mg** antagonistik ilişkisiyle gerek kök Mg absorpsiyonunun ve gerekse taşınımının olumsuz yönde etkilendiğini düşünmekteyiz. Mg, klorofil biyosentezi ve fotosentez için en önemli elementlerdendir. Bitkide Mg

konsantrasyonunun azalmasının bu sentez ve mekanizmaları da olumsuz etkileyebileceği kanısındayız (Kabata-Pendias and Pendias, 1986; Prasad, 2004).

Birinci periyot Cd uygulaması ile köklerdeki **Ca** konsantrasyonu %20 azalmış, yaprak ve gövdede ise bu azalma %10-20 şeklinde belirlenmiştir. Yüksek Cd uygulaması, köklerde yine yaklaşık %20 Ca düşüşüne neden olurken, yaprak ve gövdede bazı artışlar saptanmıştır. Verilerimiz, gerek düşük ve gerekse yüksek Cd konsantrasyonlarının köklerle Ca absorpsiyonunu olumsuz etkilediğini ve ayrıca Ca taşınmasında da değişken etkilere sahip olduğunu göstermektedir. **Cd-Ca** arasında antagonistik bir ilişki olduğunu ve hücre çeperinin önemli bir bileşeni olarak Ca eksikliğinin bitki yapısını olumsuz etkileyebileceğini ifade etmek istiyoruz (Kabata-Pendias and Pendias, 1986; Prasad, 2004).

Duran ve ark.'nın 2010 ve 2011 yılında paralel olarak Zn ve Cd elementlerinin *Populus tremula X Populus alba* üzerindeki büyüme ve iyon dağılımı üzerine etkilerini araştırmışlar, Cd'nin bütün organlarda biriktiğini ve birincil ve ikincil büyümeyi özelliklede fotosentetik oranları inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Zn'ya maruz bırakılanlar da ise herhangi bir azalma olmamıştır. Cd daha çok gövdede lokalize olmuşken, çinko yaprakta lokalize olmuştur.

Cosio ve ark.'ı (2006) kadmiyum tolerans bitkisi olan Söğüt (*Salix viminalis* L.)'ün yaprağındaki Cd etkisi ve yerleşimi ile yaptıkları araştırma sonucunda **kadmiyum konsantrasyonunun** tüm bitkilerde yapraktan çok kökte olduğunu gözlemlemişler ve bunun artan Cd konsantrasyonuyla paralel olarak kökte de arttığını belirtmişlerdir.

Melez *Populus* genotipi ile yaptığımız araştırmanın element ve istatistik analizleri sonucunda, Cosio ve ark.'na benzer şekilde Cd'un en fazla köklerde biriktiğini belirledik. Uygulanan yüksek Cd konsantrasyonu ile birlikte (ikinci periyot) toprakta biriken Cd'un köklerle alımının düşmesi ve yapraklara iletiminin azalması iyon transfer faktörünün etkilenmiş olduğunu düşündürmektedir (Bayçu, 1992).

Toprak Cd sonuçlarını Kelly Indeksi sınırları ve Cd'un topraktaki fitotoksik değerleri ile karşılaştırdığımızda, deney bitkilerimizin her iki grubunun da 'aşırı kirlenmiş' ve toksik

değerlerin çok üzerindeki toprak konsantrasyonlarında bulunduğunu görmekteyiz. Zor koşullarda, büyümeleri azalsa da yaşamlarını sürdürmeye çalışan bitkilerin genellikle toleranslı olduğu ve fitoremediasyonda kullanımlarının uygun olabileceği öne sürülmektedir (Madejon et al. 2013). Bitkiler için kritik fitotoksik Cd konsantrasyonu 6-10 $mg.kg^{-1}$'dır ve >100 $mg.kg^{-1}$ Cd hiperakümülasyon kriterini göstermektedir (Kabata -Pendias, 1986; Krämer 2010). Elde ettiğimiz verilerde, özellikle düşük Cd uygulamasında, hiperakümülasyon kriterine uyan bir topraküstü organa rastlamadık (Tablo 9).

Tablo 7. Toprakta Cd Birikimi, Sınır ve Fitotoksisite Değerleri (Kabata_Pendias and Pendias, 1992, Kelly Indeksi, Rashed 2010).

Cd Uygulaması	Toprakta Cd birikimi ($mgkg^{-1}$)	Kelly Indeksi Sınır Değerleri (toprak, $mgkg^{-1}$)					Cd'un topraktaki fitotoksik değerleri ($mgkg^{-1}$)
		Temiz	Az kirlenmiş	Kirlenmiş	Çok kirlenmiş	Aşırı kirlenmiş	
3.2 mmol Cd Stresi Periyodu	80,432	0-1	1-3	3-10	10-50	>50	3-8
16 mmol Cd Stresi Periyodu	989,85						

ICP-OES analizleri sonuçlarına göre, yüksek konsantrasyonda Cd birikiminin köklerde olduğunu ve bu değerlerin toprak Cd'unun 1/3 kadarına ulaştığını belirtmek isteriz. Cd, metabolik işlevleri bozabilir ve bu büyümenin azalması, suberinleşme, kök yapılarında hasar, kökün hidrolik su iletkenliğinin bozulması, besin elementi absorpsiyonu ve taşınmasında etkileşim ya da engel, klorofil miktarı ile stoma iletiminde azalmalar şeklinde kendini gösterebilir (Prasad 1995; Prasad, 2004; Benavides ve ark. 2005, Dai ve ark. 2013). Metal dağılımıyla (TC) ilgili olarak hesaplanan değerlerde, yüksek Cd uygulamalarında topraktan alımın ve taşınmanın azaldığını görmekteyiz. Bunu nedeni, aşırı Cd konsantrasyonunun metal etkileşimini artırması, bitkinin metabolik anlamda negatif etkilenmesi veya tolerans mekanizmaları ile metalin taşınmasının engellemesi

olabilir (Madejon ve ark. 2013). Köklerde birikimin yüksek ve BCF değerlerinin <1 şeklinde belirlenmesi bu bitkinin kök akümülatörü olabileceğini düşündürmektedir (Prasad 2010, Dai ve ark. 2013; Madejon ve ark. 2013).

Dai ve ark. (2013), mikropropagasyon ile üretilmiş *Populus* türleriyle su kültürlerinde yürüttüğü çalışmada, uygulanan Cd konsantrasyonu arttıkça (10-70 μM) odun ve kabukta BCF'nin azaldığını belirlemişlerdir. Kökler ise en yüksek BCF değerlerini göstermiş ve bunu yaprak, kabuk, odun dokuları izlemiştir. *Populus* ile yürüttüğümüz araştırmanın sonuçları yazarların sonuçlarıyla uyum içindedir. BCF, uyguladığımız her iki konsantrasyon için de en yüksek köklerde belirlenmiş ve uyguladığımız Cd konsantrasyonu arttıkça buna paralel olarak azalmıştır. Düşük konsantrasyonda yaprak>çelik>gövde olarak gözlemlenen sıralama, yüksek konsantrasyonda çelik>yaprak>gövde olarak gözlenmiştir. Akümülasyon kapasitesi ve lokalizasyon bitkilerin Cd toleransını belirleyen en önemli faktörlerdendir (Obata and Umebayashi 1997). Mobil bir element olarak Cd'un düşük konsantrasyonlarda yapraklara daha rahat iletilebildiğini düşünüyoruz. Çeliklere ise gövdeden daha fazla Cd taşınabilmesi dikkat çekicidir. Translokasyon faktörünü incelediğimizde, düşük konsanstrasyon uygulamasında yine daha fazla Cd'un kökten gövdeye iletilebildiği ancak bunun bir hiperakümülasyon düzeyinde olmadığı görüşündeyiz.

Tablo 8. Biyokonsantrasyon Faktörü (BCF), Translokasyon faktörü (TF) ve Transfer katsayısı (TC) (Madejon et al. 2013).

Cd Uygulaması	**BCF (kök / toprak)**	**TF (gövde / kök)**	**TC1 (yaprak /toprak)**	**TC2 (çelik / toprak)**	**TC3 (gövde / toprak)**
3.2 mmol Cd Stresi Periyodu	0,852	0,184	0,727	0,442	0,156
16 mmol Cd Stresi Periyodu	0,393	0,118	0,056	0,176	0,046

Populus ağaçları özellikle derin kökleri ve yüksek terleme kapasiteleri ile kirleticilerin yüzeyden yer altı sularına göç etmesini etkili şekilde azaltabilir (Bolan ve ark. 2011). Ayrıca *Populus* Cd ve Zn 'yi kendi yapraklarında biriktirebilirler. Bu da kirlenmiş topraklarda elementleri fitoekstraksiyon ile uzaklaştırmasına yardımcı olur (Robinson ve ark. 2000). *Populus nigra* yaprakları ile yürütülen bir çalışmada, gerek Pb ve gerekse Cd'un diğer ağaç türlerinden çok daha fazla biriktirildiği belirlenmiştir (Bayçu ve ark., 2006). Madejon ve ark., 2013, fitostabilizasyon için uygun olan bitkilerin mutlaka kirlenmiş topraklarda hayatta kalabilmesi ve ürün verebilmesi, ve ayrıca yüksek miktarda toksik element ile besin elementi dengesizliğini tolere edebilmesi gerektiğini belirtmiştir. As ve Pb kirlenmelerinin aşamalı olarak azalışını izlemek için *Populus alba* yapraklarının uzun süreli bir biyomonitör olarak kullanılmasının mümkün olduğunu ancak birikimin tohum ve meyveye kadar ulaşıp ulaşmadığının henüz bilinemediğini ifade etmiştir (Madejon ve ark., 2003; Madejon ve ark., 2004).

Mishra ve ark.,'nın 2006 yılında yaptığı bir deneyde bitki tarafından biriktirilen Cd miktarı yaklaşık 11,46 mgg^{-1} KA olarak bulunmuş ve bunun yaklaşık %80,6'sının kök dokusunda biriktiği bildirilmiştir.

Geleceğe yönelik çalışmalar ve remediasyon uygulamalarına ek olarak bir bitki fitoremediasyon için kullanılacaksa bitkide Cd ve temel eser elementlerin biyoyararlarının bilinmesi gerekir (Chapman, 2012). Genel olarak *Populus* türleri fitoremediasyon için uygundur çünkü kirlenmiş topraklarda tolerans gösterirler, hızlı büyürler ve derin kök sistemine sahip ağaçlardır (Bolan ve ark., 2011).

Populus, birçok toksik metale toleransı olan ve fitoremediasyon için potansiyel özelliklere sahip bir bitkidir (Padmavathiamma ve Li 2007; Dai ve ark., 2011). Ancak metal birikimi ve taşınmasıyla ilgili bu yönde fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Madejon ve ark. (2013) geniş dağılım gösteren doğal *Populus alba* ile yürüttükleri araştırmada, besin elementi analizlerine dayanarak bu türün zor şartlarla başa çıkabildiğini ve fitostabilizasyona uygun olduğunu belirtmişlerdir. Fitostabilizasyon kirleticilerin toprakta hareketsiz hale getirildiği bir remediasyon tekniğidir. Fitostabilizasyon için seçilecek bitki türlerinin yüksek metal konsantrasyonlarını ve besin elementlerindeki dengesizliği tolere edebilmeleri büyük önem taşımaktadır (Bolan ve ark. 2011).

Populus türüyle gerçekleştirdiğimiz bu çalışma, Cd birikiminin köklerde yüksek, kökten gövdeye taşınımın ise çok daha az olduğunu göstermiştir. Toleranslı bir tür olarak bilinen bu *Populus* genotipinin, Cd ile kirlenmiş toprakların fitostabilizasyonu için uygun olduğunu düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

AHMET, S., (2008), The Accumulation of Heavy Metals in Typha latifolia L. Grown in a Stream Carrying Secondary Effluent. *Journal of Environmental Biology*. 33, 923-927 (2012).

ARDUİNİ, I. , GODBOLD, DL., ONNIS, A. , 1994, Cadmium and Copper Change Root Growth and Morphology of *Pinus pinea* and *Pinus pineaster* Seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 92- 675-680.

ARSHAD, M., SİLVESTRE, J., PİNELLİ, E., KALLERHOFF, J., KAEMMERER, M. TARİGO, A., 2008, A Field Study of Lead Phytoextraction by Various Scented *Pelargonium* Cultivars. *Chemosphere*, 71, 2187-2192.

ASRİ, Ö., SÖNMEZ, F., 2006, Ağır Metal Toksisitesinin Bitki Metabolizmasi Üzerine Etkileri, *Derim* 23 (2), 36-45.

AYHAN, B., 2006, Bazı Mısır Çeşitlerinde *(Zea mays L.)* Ağır Metal (Cd, Pb) Stresinin Etkilerinin Belirlenmesi. *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.*

BAKER, A.J.M., BROOKS R.R, 1989, Terresigtial Higher Plants Which Hyper Accumulate Metallic Elements-a Rewiev of Their Distrubition, *Ecology and Phytochemistry, Biorecovery,* 1-81- 26.

BARCELO, J., POSCHENRİEDER, Ch., 1990, Plant Water Relations as Affected by Heavy Metal Stress. *Journal Plant Nutrition*, 13, 1-37.

BAYÇU, G., 1992, Ailanthus altissima'da Kadmiyum, Kurşun Birikimi ve Kadmiyumun
Bitki Gelişmesine Etkisi. *İstanbul Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi*.

BAYÇU, G., 1995, Ailanthus altissima'da Kadmiyum Toleransı ve Fitokelatin Oluşumu *İstanbul Üniversitesi Doktora Tezi.*

BAYÇU, G., TOLUNAY, D., OZDEN, H., GUNEBAKAN, S., 2006. Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn, and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul, Environmental Pollution 143: 545-554.

BENAVIDES, M. P. , GALLEGO, S. M., TOMARO, M. L., 2005, Cadmium Toxicity in Plants. *Brazilian Journal* of *Plant Physiology*, 17(1)-21- 34.

BERGMANN, W., 1983, Ernahrungsstörungen bei Kulturpflanzen, G.Fischer Stuttgart, 614.

BOLAN, SN., PARK, JH., ROBİNSON, B., NAİDU, R., HUH, KY., 2011, Phytostabilization: A Green Approach to Contaminant Containment. *Advances in Agronomy*, 112:145–204.

CASPI, V., DROPPA, M., HORVATH, G., MALKIN, S., MARDER, J.B., RASKİN, V.I., 1999, The Effect of Copper on Chlorophyll Organization During Greening of Barley Leaves. *Photosynthesis Research*, 62-165–174.

ÇATAK, E., GÜLER, Ç., SÜLEYMAN, T., ORHAN, B., 2000, Bazı Domates ve Tütün Genotiplerinde Kadmiyum Etkilerini İnceleyen İstatistiksel Bir Çalışma. *BalıkesirÜniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2 (1).

CHANEY, W., 2005, Biological Control of Aphids in Lettice Using in-Field lnsectaries.*Enhancing BiologicalCcontrol: Habitat Management to Promote Natural Enemies of Agricultural Pests* Pickett C.H, Bugg R.L 1998pp. 73–83. Regents of the University of California.

CHAPMAN, PM., 2012, Adaptive Monitoring Based on Ecosystem Services. *Science of the Total Environment*, 415:56–60.

CHARDONNENS, A. N., Bookum, W.M., Kujiper, L.D.J., Verkleij, J.A.C., Emst, W.H.O. 1998, Disribution of Cadmium in Leaves of Cadmium Tolerant and Sensitive Ecotypes of

CHESTER, R., NIMMO, M., PRESTON, M.R.,1999, The Trace Metal Chemistry of Atmospheric Dry Deposition Samples Collected at Cap Ferrat: a Coastal Site in the Western Mediterranean. *Marine Chemistry*, 68,15-30.

CİSCATO, M., VANGRONSVELD, J., VALCKE, R., 1999, Effects of Heavy Metals on the Fast Chlorophyll Fluorescence İnduction Kinetics of Photosystem II: a Comparative Study. *Zeitschrift für Naturforschung*, 54:735–739.

CLEMENS, S., 2006, Toxic Metal Accumulation, Responses to Exposure and Mechanisms of Tolerance in plants. *Biochimie*, 88: 1707–1719.

COMSTOCK, J.P., 2002, Hydraulic and Chemical Signalling in the Control of Stomatal Conductance and Transpiration. *Journal of Experimental Botany*, 53: 195–200.

CUİ, S., ZHOU, Q., CHAO, L., 2007, Potential Hyperaccumulation of Pb, Zn, Cu and Cd in Endurant Plants Distributed in an Old Smeltery. *Northeast China Environmental Geology*, 51: 1043–1048.

DAİ, H-P, SHAN, C.J., JİA, L.G., YANG, T-X, WEİ, A-Z, ZHAO, H., WU, S-Q, HUO, K-K, CHEN, W-Q, CAO, X-Y., 2013, Responses to Cadmium Tolerance, Accumulation and Translocation in Populus × canescens. Water Air and Soil Pollution, 224:1504. DOI 10.1007/s11270-013-1504-6.

DOĞAN, M., DEMİRÖRS SAYGIDEĞER,S., 2009, Kadmiyumun *Ceratophyllum demersum* L. Üzerindeki Bazı Fizyolojik ve Morfolojik Etkileri. *Ekoloji*, 18, 71,

57- 64.

DOĞAN, M., 2005,*Ceratophyllum demersum* L.'de Kadmiyum klorür, Sodyum klorür ve bunların Kombinasyonlarının Fizyolojik ve Morfolojik Etkileri. *Çukurova Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi.*

DONG, J., WU, F., ZHANG, G., 2005, Effect of Cadmium on Growth and Photosynthesis of Tomato Seedlings. *Journal of Zhejiang University Science,* 6B (10):974-980 China.

DURAND, T.C., HAUSMAN, J.F., CARPIN, S., ALBERIC, P., BAILLIF, P., LABEL,P., MORABITO, D., 2010 Zinc and Cadmium Effects on Growth and İon Distribution in *Populus tremula* × *Populus alba. Biologia Plantarum,* 54(1):191-194.

DURAND, T.C., SERGEANT, K., RENAUT, J., PLANCHON, S., HOFFMANN, L., CARPIN, S., LABEL, P., MORABITO, D., HAUSMAN, J.-F., 2011, Poplar Under Drought: Comparison of Leaf and Cambial Proteomic Response. *Journal of Proteomics,* 74: 396–1410.

DURAND, T C., BAILLIF, P., ALBÉRIC, P., CARPIN, S., LABEL, P., HAUSMAN, J.F., MORABITO, D. 2011, Cadmium and Zinc are Differentially Distributed in *Populus tremula x P. alba* Exposed to Metal Excess. *Plant Biosystems* , An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology.

EREN, M.H., Kimya Ders Notları. *Ege Üniversitesi*, İZMİR.

FARGO, E.,1980, Pseudomonads as a Factor in the Growth of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Soil Biology and Biochemistry,* vol:16 issue:2.

GAUCH, H.G., 1973, Chlorosis in Inorganic Plant Nutrition pp. *Plant Life,* 361-363.

GAYER, V., GULCH, P., 1991, Toxic effects of metals In: Amer, M.O., Doul J. Klaassen C.D. (ed) Casarett and Doull's Toxicology. *Basic science of poisons,* Pergmon Press, Oxford.

GHNAYA, T., NOUAIRI, I., SLAMA, I., MESSEDI, D., GRIGNON, C., ABDELLY, C. ve GHORBEL, M. H., 2005, Cadmium Effects on Growth and Mineral Nutrition of Two Halophytes: *Sesuvium portulacastrum* and *Mesembryanthemum crystallinum*. *Journal of Plant Physiology,* 162-1133- 1140.

GLASS, D., 2000, Economic Potential of Phytoremediation. In: Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment, *Eds. I. Raskin, B. Ensley, John Wiley&Sons, Inc*., New York, 15.31.

GÜR, N., TOPDEMİR, A., MUNZUROĞLU, Ö VE ÇOBANOĞLU, D., 2004, Ağır Metal İyonlarının (Cu^{+2}, Pb^{+2}, Hg^{+2}, Cd^{+2}) Clivia sp. Bitkisi Polenlerinin

Çimlenmesi ve Tüp Büyümesi Üzerine Etkileri. *F.Ü. Fen ve Matematik Bilimleri Dergisi*, 16 (2), 177-182

HAKTANIR, K., 1987, Çevre Kirliliği. *A.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Notu*, Teksir No:140.

HAKTANIR, K., 1998, Çevre Kirliliği - 1. Baskı. (Information & Reference).

HENRY, J., 2000, An Overview of the Phytoremediation of Lead and Mercury. U.S. Epa, *Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office. Report* May–Aug. 2000. 51 P.

HERBERT, H., 1980, *Grounding in Communication*, Chapter 7.

JİANG, H.M., GUO, H., ZHU, H., 1990, Clinical Significance of Hair Cadmium Content in the Diagnosis of Mental Retardation of Children. *Chinese Medical J*ournalist, 103, 331–334

JOHN, M.K., 1976, Interrelationships Between Plant Cadmium and Uptake of Some Other Elements from Culture Solutions by Oats and Lettuce. *Environmental Pollution*, 11: 85-95.

KABATA-PENDİAS, A., PENDİAS, H., 1986, Trace Elements in Soils and Plants. *CRC Press Inc*, Boca Raton, Florida.

KAHLE, H., 1993 Response of Roots of Trees to Heavy Metals. *Environmental and Experimental Botany*, 33 (1), 99-119.

KAHVECİOĞLU, Ö., KARTAL, G., GÜVEN, A., TİMUR S., 2007, Metallerin Çevresel Etkileri –I. (erişim adresi: www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf, erişim tarihi: 13.05.2007).

KENNEDY, C.D., GONSALVES, F.A.N., 1987, The Action of Divalent Zinc, Cadmium, Mercury, Copper and Lead on The Trans-root Potential and Efflux of Excised Roots. *Journal of Experimental Botany*, 38, 800-817.

KELLY INDİCES 2008 , (Former GLC) Guidelines for Contaminated Soils specifically developed for gasworks sites in London: Suggested Range of Values (mg/kg on air-dried soils, except for pH), *Geo-Environmental Engineering*, Kyoto University, Japan.

KILIÇ N.K., DÖNMEZ, G., 2008, Mikroorganizmalarda Ağır Metal Stresine Yanıtın Proteom Analizi ile Araştırılması. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 06(2); 27-33.

KIRBAĞ ZENGİN, F., MUNZUROĞLU, Ö. , 2003, Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris*) Kök, Gövde ve Yaprak Büyümesi Üzerine Kadmiyum (Cd) ve Civa (Hg)'nın Etkileri. *Ç.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi,* Cilt 24 Sayı 1.

KIEFFER, P., DOMMES, J., HOFFMANN, L., HAUSMAN, J.F., RENAUT, J., *2008,*

Quantitative Changes in Protein Expression of Cadmium-exposed Poplar Plants. *Proteomics 8:2514–2530.*

KRÄMER, U., 2010, Metal Hyperaccumulation in Plants. Annual Review of Plant Biology, 61, 517–534.

KUKKOLA, E., RAUTİO, P. ve HUTTUNEN, S., 2000, Stress indications in copper- and nickel-exposed Scots pine Seedlings, *Environmental and Experimental Botany*, 43-197–210.

LARBİ, A., MORALES, F., ABADI´A, A., GOGORCENA, Y., LUCENA , J.J., ABADI´A, J., 2002, Effects of Cd and Pb in Sugar Beet Plants Grown in Nutrient Solution: İnduced Fe Deficiency and Growth Inhibition. *Functional Plant Biology*, 29:1453–1464

LARSON, P.R., 1994, The Vascular Cambium. *Development and Structure*, Vol. 1. 1st ed. Springer Verlag, Berlin.

LASAT, M.M., 2000, Phytoextraction of Metals From Contaminated Soil: A review of Plant/ Soil/ Metal Interaction and Assessment of Pertinent Agronomic Issues. *Journal of Hazardous Substance Research*, 2(5)-1- 25.

LEVITT, J., 1972, Responses of Plants to Environmental Stresses. *Academic Press*, New York.

LEVITT, J., 1980, Responses of Plants to Environmental Stresses.Volume II. Water,

radiation, salt, and other stresses.

LOMBARDI, L., 2005, Copper toxicity in *Prunus cerasifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants, *Plant Science* , 168-797–802.

LYONS, M., 1996, Inhibition of Bacterial Activities by Solar Radiation in Nearshore Waters and the Gulf of Mexico. *Aquatic Microbial Ecology*, 11(3): 229- 238.

MADEJON, P., MEAN´ON T, MURİLLO, J.M., ROBİNSON, B., 2004, White poplar (*Populus alba)* as a Biomonitor of Trace Elements in Contaminated Riparian Forests. *Environmental Pollution*, 132:145–155.

MADEJON, P., CİADAMİDARO, L., MARA˜N´ON, T., MURİLLO, J. M., 2013, Long-Term Biomonitoring of Soil Contamination Using Poplar Trees:Accumulation of Trace Elements in Leaves and Fruits

MACFARLANE, G.R., ve BURCHETT, M.D., 2001, Photosynthetic Pigments and Peroxidase Activitiy as Indicators of Heavy Metal Stress in the Grey Mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh., *Marine Pollution Bulletin*, 42-233-240.

MCCARTHY, D. P., 2001. Crustose lichens: chronometers of alpine environmental change. *Research Links*, 9: 4, 12–13.

MCINTYRE, T., 2003. Phytoremediation of Heavy Metals from Soils. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechhnology*. Vol.78, pp 97–123.

MEAGHER, R.B., 2000, Phytoremediation of Toxic elemental and Organic Pollutants. *Current Opinion in Plant Biology* 3, 153-162pp.

MIRSAL, I.A., 2004, Soil Pollution, Monitoring and Remediation. *İnternational Publisher Science, Tchnology, Medicine Springer* - Verlag Berlin Heidelberg.

ORTUNO, M.F., ALARCON, J.J., NİCOLAS, E., TORRECİLLAS, A. 2004, Interpreting Trunk Diameter Changes in Young Lemon Trees Under Deficit Irrigation. *Plant Science*, 167: 275–280.

OUARITI, O, GOUIA, H., GHORBAL, H.M., 1997, Responses of Bean and Tomato Plants to Cadmium: Growth, Mineral Nutrient and Nitrate Reduction, *Plant Physiology and Biochemistry* 35-347-354

ÖZBEK, H., KAYA, Z., GÖK, M., KAPTAN, H., 1995, Toprak Bilimi. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, Genel Yayın No: 73 Ders Kitapları Yayın No:16, ADANA.

PASCHKE, M.W., VALDECANTOS, A., REDENTE, E.F., 2005, Manganese Toxicity Thresholds for Restoration Grass Species. *Environmental Pollution*, 135:313-322.

PİVETZ, B., 2001, Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites Epa Ground Water issue. *United States Environmental Protection Agency*, 540 /s-0.1/5.

PRASAD, M.N.V., 1995, Cadmium Toxicity and Tolerance in Vascular Plants. *Environmental Experimental Botany*, 35: 525-540

PRASAD, M.N.V., 2004, Heavy Metal Stress in Plants: From Biomolecules to Ecosystems (2nd ed.), 462 sayfa, Springer-Berlin.

PRASAD , M.N.V., MALEC, P., WALOSZEK, A., BOJKO, M., STRZAŁKA , K., 2001, Physiological responses of *Lemna trisulca* L. (duckweed) to Cadmium and Copper Bioaccumulation, *Plant Science*, 161: 881–889.

PULFORD, I.D., WATSON,C., 2003, Phytoremediation of Heavy Metal _Contaminated Land by Trees. *A Review*. *Environment International*, 29,529-540.

RASHED, M.N., 2010, Monitoring of Contaminated Toxic and Heavy Metals, from mine tailings through age accumulation, in soil and some wild plants at Southeast Egypt. *Journal of Hazardous Materials* 178: 739– 746.

ROBİNSON, B., MİLLS, T., PETİT, D., FUNG, L., GREEN, S., CLOTHİER, B., 2000, Natural and İnduced Cadmium-accumulation in Poplar and Willow: Implications for Phytoremediation. *Plant Soil* 227:301–306.

SAĞLAM, N., CİHANGİR, N., 1995. Ağır Metallerin Biyolojik Süreçlerle Biyosorpsiyonu Çalışmaları. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 11: 157-161

SALOMONS, W., FORSTNER, U., 1984, Metals in the Hydrocycle. Springerverlag.

SALT, D., PRİCE, R., PİCKERİNG, I., RASKİN, I., 1995, Mechanisms of Cadmium Mobility and Accumulation in Indian Mustard. *Plant Physiology*, 109, 1427-1433.

SANITA DI TOPPI, L., GABBRIELLI, R., 1999,Response to Cadmium in Higher Plants. *Environmental & Experimental Botany* 41: 105-130.

SAWİDİS, T., CHETTRİ, MK., PAPAİOANNOU, A., STRATİS, J., 2001, A Study of Metal Distribution from Lignite Fuels Using Trees as Biological Monitors. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume: 48.

SEÇMEN, Ö., GEMİCİ, Y., GÖRK, G., 1998 Tohumlu Bitkiler Sistematiği, *Ege Üniversitesi Yayını*, İZMİR.

SHARMA P., DUBEY, R.S., 2005, Lead Toxicity in Plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1)-35-52.

SHEORAN, I.S., SİNGAL, H.R AND SİNGH, 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.

SHİ, W.Y., SHAO, H.B., Lİ, H., SHAO, M.A., DU, S., 2009, Co-Remediation of the Lead Polluted Garden Soil by Exogenous Natural Zeolite and Humic Acids. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 136-140.

SMITH, G.C., BRENNAN, E., 1984, Response of Silver Maple Seedlings to an Acute Dose of Root Applied Cadmium. *Forest Science*, 30(3): 582-586.

SRIVASTAVA, S., TRIPATHI, R.D., GOVINDARAJAN, R., KURIAKOSE, S.V., PRASAD, M.N.V., 2006**,** Phytochelatin Synthesis and Response of Antioxidants During Cadmium Stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry* , 44-25–37.

STIGLIANO, W.M ., ANDERBERGER, S., 1993, In Industrial Metabolism – Restructuring for sustainable Development, Ayres, R.U. and sitaottis, U.E., Eds., *United Nations University Press*, Tokyo 1993.

STRESTY, T.V.S., MADHAVA Rao, K.V., 1999, Ultrastructural Alterations in Response to Zinc and Nickel Stress in the Root cell of Pigeonpea, Environment Experimental Botany 41, 3-13

TESTİATİ, E., PARİNET, J.,MASSİANİ, C., 2013, Trace Metal and Metalloid Contamination Levels in Soils and in Two Native Plant. *Journal of Hazardous Materials*, 248– 249, 131– 141.

THURMAN, B., COLLİNS, J., 1983, Zinc-induced vacuolation in root meristematic cells of *Festuca rubra* L. *Plant, Cell & Environment*, vol:14, issue:4

TING, Y., LAWSON, F., PRINCE, L., 1991, Uptake of Cadmium and Zinc by The lga *Chlorella vulgaris:* II Multi-ion stiation. *Biotechnology and Bioengineering*, 37: 445 - 455 p.

TÜRKOĞLU B., 2006, Toprak Kirlenmesi ve Kirlenmiş Toprakların Islahı, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, ADANA.

VOLESKY, B., HOLAN, Z.R., 1993, Cadmium Biosorption by *Saccharomyces cerevisiae. Biotechnology and Bioengineering*,41; 826-289 p.

WU, Q.T., WEİ, Z.B., QUYANG, Y., 2007, Phytoextraction of Metal Contaminated Soil by *Sedum alfredii* H: Effects of Chelator and Co-planting. *Water Air Soil Pollution*, 180:131–139

WEİ, C.Y., CHEN, T.B., HUANG, Z.C., 2002, Cretan bake (*Pteris cretica* L): an Arsenic Accumulating Plant. *Acta Ecology Sinica*, 22, 777-782.

WENZEL, W.W., BUNKOWSKI, M., PUSCHENRERTER, M., HORAK, O., 2003, Rhizosphere Characteristics of Indigenously Growing Nickel Hyperaccumulator and Excluder Plants on Serpentine Soil. *Environment Pollution*, 123-131– 8.

www.Wikipedia.gov.tr 11 Aralık 2012 19:20.

XIONG, Z.T., 1997, Bioaccumulation and Physiological Effects of Excess Lead in a Roadside Pioneer Species *Sonchus Oleraceus* L. *Environmental Pollution*, 97:275–279

XIONG, Z.T., LIU, C., VE GENG,B., 2006**,** Phytotoxic Effects of Copper on Nitrogen Metabolism and Plant Growth in *Brassica pekinensis* Rupr., *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64-273–280.

YANG, Z., 1998, Likelihood Ratio Tests for Detecting Positive Selection and Application to Primate Lysozyme Evolution. *Molecular Biology Evolution*, 15:568–573.

YILDIZ, N., 2004, Toprak ve Bitki Ekosistemindeki Ağır Metaller. ZT-531. Yüksek Lisans Ders Notları , Erzurum.

YOSHİDA, S., 2003, Molecular Regulation of Leaf Senescence. *Current Opinion in Plant Biology* 6, 79–84.

ZENGİN, K.F VE 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. *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1); 164-172.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Adana ili Seyhan ilçesinde doğdu. İlkokulu Adana İsmet İnönü İlkokulu' nda ve orta öğrenimini Adana Özel Gündoğdu Koleji'nde tamamladıktan sonra lise eğitimini Adana Seyhan Rotary Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2006 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ne girdi ve 2010 yılında mezun olup aynı yıl İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Botanik Programı' nda Yüksek Lisans Eğitimine başladı. ERASMUS Programı ile Fransa Orleans Üniversitesi LBLGC'ye giderek tez çalışmalarını sürdürdü.