



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KURŞUN (PB), BAKIR (CU) VE KADMİYUM (CD) AĞIR  
METALLERİNİN *MEDICAGO SATIVA L.* (YONCA) *VICIA SATIVA L.*  
(FİĞ) BİTKİLERİNİN FİTOREMEDİASYON KAPASİTESİ VE BAZI  
FİZYOLOJİK PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

RABİA ÖZLEM DEMİRASLAN

Tez Danışmanı

PROF. DR. CÜNEYT AKI

ÇANAKKALE - 2022





T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KURŞUN (PB), BAKIR (CU) VE KADMİYUM (CD) AĞIR METALLERİNİN  
*MEDICAGO SATIVA L. (YONCA) VICIA SATIVA L. (FİĞ) BİTKİLERİNİN*  
FİTOREMEDİASYON KAPASİTESİ VE BAZI FİZYOLOJİK  
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

RABİA ÖZLEM DEMİRASLAN

Tez Danışmanı

PROF.DR. CÜNEYT AKI

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FDK-2020-3223

ÇANAKKALE – 2022

## ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Rabia Özlem DEMİRASLAN

26/08/2022

## TEŞEKKÜR

Tez çalışma dönemimde, bilgi ve desteğini esirgemeyen, önerileriyle beni yönlendiren, tecrübelerini benimle paylaşan Doktora Tez Danışmanım Sayın Prof. Dr. Cüneyt AKI'ya, Doktora Tezim boyunca ve her Tez İzleme Komitesi toplantısında değerli katkılarını sunan bana her zaman destek olan çok değerli Tez İzleme Komitesi üyelerim Sayın Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR hocama, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ hocama teşekkür ederim ve saygılarımı sunarım. Bitki Fizyolojisi Laboratuvarını kullanmamıza imkan sağlayan, çok değerli bilimsel birikimi ve tecrübeleri ile yol gösteren değerli hocam Sayın Prof. Dr. Okan ACAR'a, tezimin verilerinin istatistiki olarak değerlendirilmesinde tecrübelerini ve yardımlarını esirgemeyen çalışmalarımnda bana destek olan Bitki Fizyolojisi Lisansüstü çalışma grubundan Müge TEKER, Eda GÜNAY, Gamze BALTACIER ve Sevgi DONAT'a çok teşekkür ederim. Her zaman desteğini hissettiğim Doç. Dr. Nurşen ÇÖRDÜK hocama teşekkür ederim. Tezim boyunca manevi desteğini esirgemeyen her zaman yanımda olan beni önerileriyle yönlendiren arkadaşım Dr. Aslıhan ÖZBİLEN'e teşekkür ederim. Manevi desteğini her zaman hissettiğim arkadaşım Dr. Selin ERTÜRK GÜRKAN'a teşekkür ederim. Benden desteğini esirgemeyen arkadaşım Melik GÜNAY'a teşekkür ederim. FDK-2020-3223 proje no'lu tezimi maddi olarak destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ediyorum. Hayatımın her evresinde benden desteklerini esirgemeyen değerli aileme ise sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Rabia Özlem DEMİRASLAN

Çanakkale, Ağustos 2022

## ÖZET

# KURŞUN (PB), BAKIR (CU) VE KADMİYUM (CD) AĞIR METALLERİNİN *MEDICAGO SATIVA L.* (YONCA), *VICIA SATIVA L.* (FİĞ) BİTKİLERİNİN FİTOREMEDİASYON KAPASİTESİ VE BAZI FİZYOLOJİK PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Rabia Özlem DEMİRASLAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Cüneyt AKI

26/08/2022, 92

Tez araştırmamızda *Medicago sativa L.* (Yonca) ve *Vicia sativa L.* (Fiğ) türlerine ait tohumlardan yetiştirilen altı haftalık fideler kullanılmıştır. Ağır metal uygulamaları için (50, 100, 150 ppm) Kurşun (Pb), (25, 50, 100 ppm) Bakır (Cu) ve (20, 30, 40 ppm) Kadmiyum (Cd) bitkilere sulama suyu yolu ile verilmiştir. Uygulamalardan 24, 48 ve 72 saat sonra bitkilerin hasatları yapılarak toplam protein miktarları, peroksidaz (POX), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri belirlenmiştir. Bitkilerin fitoremediasyon kapasitelerinin belirlenmesi için toprak üstü, kök ve yetiştirildikleri toprakların analizleri ICP-OES yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.

Toplam protein sonuçlarımıza göre, yonca ve fiğ bitkilerinde kontrol grubuna göre en fazla düşüşler 150 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra sırası ile %62,81 ve %45,59 olarak belirlenmiştir.

POX aktivitesi sonuçlarımıza göre, yonca bitkisinde kontrol grubuna göre POX aktivitesindeki en fazla artış 150 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra %188,39, fiğ bitkisinde 100 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra %166,47 olarak belirlenmiştir.

CAT aktivitesi sonuçlarımıza göre, yoncada 50 ppm kurşun uygulamasından 24 saat sonra %82,66 düşüş olduğu, fiğ bitkisinde ise 30 ppm Cd uygulamasından 48 saat sonra %605,31 oranında artış olduğu belirlenmiştir.

SOD aktivitesi sonuçlarımıza göre, yonca bitkisinde 150 ppm Pb uygulamasından 72 saat sonra %394,65 oranında, fiğ bitkisinde de 100 ppm Cu uygulamasından 72 saat sonra %141,63 oranında artışlar olmuştur.

Yonca ve fiğ bitkilerinin fitoremediasyon kapasiteleri karşılaştırıldığında uygulanan ağır metalleri toprak üstü ve kök bölümlerinde farklı oranlarda tutabildikleri, Fiğ bitkisinin Yonca bitkisine oranla bünyesinde uygulanan ağır metalleri daha fazla oranda tutabildiği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Yonca, fiğ, bitki stres enzimleri, ağır metal, fitoremediasyon



## ABSTRACT

### THE EFFECT OF LEAD (PB), COPPER (CU) AND CADMIUM (CD) HEAVY METALS ON PHYTOREMEDIATION CAPACITY AND SOME PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF *MEDICAGO SATIVA* (CLOVER), *VICIA SATIVA* (VETCH) PLANTS

Rabia Özlem DEMİRASLAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Dissertation in Biological Science

Advisor: Prof. Dr. Cüneyt AKI

26/08/2022, 92

In our thesis research, six-week-old seedlings grown from seeds of *Medicago sativa* L. (Clover) and *Vicia sativa* L. (Vetch) were used. For heavy metal applications (50, 100, 150 ppm) Lead (Pb), (25, 50, 100 ppm) Copper (Cu) and (20, 30, 40 ppm) Cadmium (Cd) were given to the plants by irrigation water. The plants were harvested 24, 48 and 72 hours after the applications, and the total protein amounts, peroxidase (POX), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities were determined. In order to determine the phytoremediation capacity of the plants, the above-ground, root and soil analyzes were carried out with the ICP-OES method.

According to our total protein results, the highest decreases in clover and vetch plants compared to the control group were determined as 62.81% and 45.59%, respectively, 72 hours after 150 ppm lead application.

According to our POX activity results, the highest increase in POX activity in clover plant compared to the control group was determined as 188%,39 72 hours after 150 ppm lead application, and 166.47% after 72 ppm copper application in vetch plant.

According to our CAT activity results, it was determined that there was a decrease of 82.66% after 24 hours of 50 ppm lead application in clover, and an increase of 605.31% after 48 hours of 30 ppm Cd application in vetch plant.



According to our results, SOD activity increased by 394.65% 72 hours after 150 ppm Pb application in clover plant and 141.63% after 72 hours after 100 ppm Cu application in vetch plant.

When the phytoremediation capacities of clover and vetch plants were compared, it was determined that the applied heavy metals were able to keep the applied heavy metals in the aboveground and root sections at different rates, and the vetch plant was able to retain the applied heavy metals in its body at a higher rate than the alfalfa plant.

**Keywords:** Clover, vetch, plant stress enzymes, heavy metal, phytoremediation



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

1.1. Ağır Metaller ve Çevresel Etkileri .....	2
1.1.1. Kurşun.....	3
1.1.2. Kadmiyum.....	4
1.1.3. Bakır.....	5
1.2. Sürdürülebilir Teknoloji Olarak Fitoremediasyon .....	6
1.3. Bitkilerde Stres ve Savunma Enzimleri .....	9

## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Araştırmanın Terimleri .....	12
2.2. Fitoremediasyonla İlgili Çalışmalar.....	14
2.3. Ağır Metallerin Bitkilerin Savunma Sistemleri Üzerine Etkileri ile İlgili Çalışmalar.....	27

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal .....	34
3.1.1. Bitkisel Materyal .....	34
3.2. Yöntem .....	34
3.2.1. Deneme Bitkilerinin Yetiştirilmesi .....	34
3.2.2. Deneme Serilerinin Hazırlanması .....	36
3.2.3. Ağır Metal Stok Solüsyonlarının Hazırlanması .....	36
3.2.4. Ağır Metallerin Bitkilere Uygulanması .....	37
3.2.5. Ağır Metal Analizi için Bitkilerin Hasadı ve Hazırlanması .....	37
3.2.6. Fizyolojik Parametrelerin Belirlenmesi için Bitkilerin Hasadı ve Hazırlanması .....	41
3.2.7. Bitki Örneklerinde Fizyolojik Parametrelerin Belirlenmesi .....	41
3.2.8. Bitki ve Toprak Örneklerinde Ağır Metal Analizleri .....	43
3.2.9. İstatistiki Değerlendirme .....	43

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bitkilerde Toplam Protein Bulguları.....	44
4.1.1. Yonca Bitkisine ait Toplam Protein Bulguları.....	45
4.1.2. Fiğ Bitkisine ait toplam Protein Bulguları.....	46
4.2. Bitkilerde Peroksidaz Aktivitesi Bulguları .....	47
4.2.1. Yonca Bitkisine ait Peroksidaz Aktivitesi Bulguları.....	47
4.2.2. Fiğ Bitkisine ait Peroksidaz Aktivitesi Bulguları .....	48
4.3. Bitkilerde CAT Aktivitesi Bulguları .....	50
4.3.1. Yonca Bitkisinde CAT Aktivitesi Bulguları .....	50
4.3.2. Fiğ Bitkisinde CAT Aktivitesi Bulguları.....	51
4.4. Bitkilerde SOD Aktivitesi Bulguları .....	53
4.4.1. Yonca Bitkisinde SOD Aktivitesi Bulguları .....	53
4.4.2. Fiğ Bitkisinde SOD Aktivitesi Bulguları .....	55
4.5. İstatiksel Bulgular .....	57

4.6	Ağır Metal Analiz Sonuçları.....	58
4.6.1.	Yonca Bitkisinde Ağır Metal Analiz Sonuçları .....	59
4.6.2.	Fiğ Bitkisinde Ağır Metal Analiz Sonuçları.....	65
4.7	Tartışma .....	71
	<b>BEŞİNCİ BÖLÜM</b>	
	<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	75
	<b>KAYNAKÇA .....</b>	79



## SİMGELER VE KISALTMALAR

POX	Peroksidaz
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
Pb	Kurşun ağır metali
Cd	Kadmiyum ağır metali
Cu	Bakır ağır metali
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
GPX	Glutasyon peroksidaz
AOT	Aktif oksijen türleri
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometre
BSA	Bovine serum albumin
pH	Potansiyel hidrojen
ROS	Reaktif oksijen türleri
RNS	Reaktif nitrojen türleri
Ppm	Milyonda bir birim
mg	Miligram
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	Yonca bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole bağlı yüzde değişimler (protein).	46
<b>Tablo 2</b>	Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole bağlı yüzde değişimler (protein).	47
<b>Tablo 3</b>	Yonca bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole bağlı yüzde değişimler (POX).	48
<b>Tablo 4</b>	Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole bağlı yüzde değişimler (POX).	49
<b>Tablo 5</b>	Yonca bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole bağlı yüzde değişimler (CAT).	51
<b>Tablo 6</b>	Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole bağlı yüzde değişimler (CAT).	53
<b>Tablo 7</b>	Yonca bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole bağlı yüzde değişimler (SOD).	55
<b>Tablo 8</b>	Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole bağlı yüzde değişimler (SOD).	56
<b>Tablo 9</b>	Yonca çeşidinde incelenen parametrelerin tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları	57
<b>Tablo 10</b>	Fiğ çeşidinde incelenen parametrelerin tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları	58
<b>Tablo 11</b>	Yonca bitkisi Pb uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)	60
<b>Tablo 12</b>	Yonca bitkisi Pb uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)	61
<b>Tablo 13</b>	Yonca bitkisi Cd uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)	62
<b>Tablo 14</b>	Yonca bitkisi Cd uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)	63
<b>Tablo 15</b>	Yonca bitkisi Cu uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)	64
<b>Tablo 16</b>	Yonca bitkisi Cu uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)	65

<b>Tablo 17</b>	Fiğ bitkisi Pb uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)	66
<b>Tablo 18</b>	Fiğ bitkisi Pb uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)	67
<b>Tablo 19</b>	Fiğ bitkisi Cd uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)	68
<b>Tablo 20</b>	Fiğ bitkisi Cd uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)	69
<b>Tablo 21</b>	Fiğ bitkisi Cu uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)	70
<b>Tablo 22</b>	Fiğ bitkisi Cu uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)	71

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa No
Şekil 1	Altı Haftalık Yonca Bitkileri	35
Şekil 2	Altı Haftalık Fiğ Bitkileri	35
Şekil 3	Ağır Metal Stok Solüsyonları	37
Şekil 4	Yonca Bitkisi Toprak Üstü Analiz Örnekleri	38
Şekil 5	Yonca Bitkisi Kök Analiz Örnekleri	38
Şekil 6	Yonca Bitkisi Toprak Analiz Örnekleri	39
Şekil 7	Fiğ Bitkisi Toprak Üstü Analiz Örnekleri	39
Şekil 8	Fiğ Bitkisi Kök Analiz Örnekleri	40
Şekil 9	Fiğ Bitkisi Toprak Analiz Örnekleri	40
Şekil 10	BSA Standart Grafiği (mg/ml)	41
Şekil 11	Yonca ve Fiğ Bitkisinde Kod Detayları	44
Şekil 12	Yonca bitkisinde toplam protein miktarında doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler	45
Şekil 13	Fiğ bitkisinde toplam protein miktarında doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler	46
Şekil 14	Yonca bitkisinde peroksidaz (POX) aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler	48
Şekil 15	Fiğ bitkisinde peroksidaz (POX) aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler	49
Şekil 16	Yonca bitkisinde CAT aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler	51
Şekil 17	Fiğ bitkisinde CAT aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler	52
Şekil 18	Yonca bitkisinde SOD aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler	54
Şekil 19	Fiğ bitkisinde SOD aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler	56



## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

Toprak, tarımsal kaynağımızın ayrılmaz bir parçasını oluşturur. Yeşil devrim ve gıda güvenliğinde hayati bir rol oynar. Hızlı kentleşme ve sanayileşme nedeniyle, tarım arazileri organik, inorganik ve metalik kirleticiler tarafından giderek daha fazla kirlenmektedir (Muthusaravanan vd., 2018). Bir çevre problemi olarak yerini alan ağır metal kirliliği tehdit edici boyutlara ulaşmıştır. Dünyadaki tarım topraklarının çoğu kadmiyum, arsenik, kurşun, krom ve daha birçok ağır metalle kirlenmiştir. Ağır metallerin yüksek konsantrasyonu, mikroorganizmalardan insanlara kadar tüm yaşam formları için toksiktir. (Goyal vd., 2020). Ağır metaller çevre güvenliğini de ciddi şekilde tehdit etmekte, kalıcı toksik etkileri ve biyolojik birikimleri sebebiyle zahmetli kirleticiler kategorisinde yer almaktadır (Lv vd., 2019).

Madencilik, sanayi, rafineri, tarımsal kaynaklı yollar, doğal yollar gibi birçok sebepten ağır metaller yayılabilmektedir. Ağır metallerce kirlenmiş toprağın kalitesi ve verimi düşer. Bu durum insan ve diğer canlıların hayatında tehlikeleri de beraberinde getirmektedir. Ağır metal kirliliğinin giderilebilmesi için kullanılan farklı fiziksel ve kimyasal yöntemler, yüksek maliyet, yoğun işçilik, toprak özelliklerinin değişmesi ve toprak doğal mikroflorasının bozulması gibi ciddi sınırlamalardan muzdariptir (Ali vd., 2013).

Günümüzde pekçok ülke kullanılan diğer yöntemlere göre çevreci bir yöntem olan fitoremediasyon kullanmaktadır. Nispeten yeni bir teknoloji olan fitoremediasyon, çevredeki kirleticilerin konsantrasyonlarını veya toksik etkilerini azaltmak için, kirleticileri stabilize eden, dönüştüren ya da bulunduğu ortamdan kaldıran biyolojik materyalleri kullanan etkin, ekonomik ve ekolojik, çevre dostu ve uygun maliyetli bir yöntemdir. Bu yöntemde kullanılan bitkiler hiperakümülatör bitkiler olarak adlandırılmaktadır. Yapılan bilimsel çalışmalar hiperakümülatör bitkilerin toprak kirliliğine sebep olan kirleticileri büyük oranlarda bünyelerinde biriktirebildiğini göstermiştir (Güneş ve Bozkurt, 2021).

Hayvanların beslenmesinde kullanılmakta olan yem bitkisi olarak adlandırılan bitkiler aynı zamanda toprağın zarar görmemesine ve birim alandan alınmakta olan verimin artmasına neden olmaktadır. Tarımsal alanlarda yetiştirilen bu tür yem bitkileri hayvanların besin kaynağı olmakta ve sonrasında besin zinciri yolu ile insanlara ulaşmaktadırlar.

### **1.1. Ağır Metaller ve Çevresel Etkileri**

Ağır metal terimi, fiziksel özellik bakımından  $5\text{g/cm}^3$  yoğunluktan daha fazla yoğunluğa sahip olan metaller için kullanılmaktadır. Bu grupta başta kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, civa, çinko olmak üzere 60'tan fazla metal bulunmaktadır. Bunlar çoğunlukla karbonat, silikat ve sülfür durumunda stabil bileşik olarak veya silikatların içerisinde bulunmaktadır (Şanlıer ve Türközü, 2012). Çevre kirletici önemi yüksek olan bu ağır metaller atmosfere çeşitli kaynaklardan bırakılmaktadır. Bunlar kuru ve yaş çökeltme ile toprak yüzeyine buradan yüzeysel sulara daha sonra da yeraltı sularına karışmaktadır ve bu şekilde ekosisteme zarar vermektedir (Ocak vd., 2018). Ağır metaller atmosfer, su ve toprak bakımından çok önemli kirletici kaynaklarıdır. Atmosfere, toprağa ve suya karışıp biriken ağır metal konsantrasyonlarının belirli bir seviyenin üzerine çıkması, toprak verimliliğine, mikrobiyal aktiviteye, biyoçeşitliliğe, ekosistemde yer alan tüm canlılarda toksik etkilere neden olmakta bu yol ile çevresel tehdit oluşturmaktadır. İnsanlardaki sağlık sorunları da bunlar arasında önemli yer tutmaktadır (Mammadov ve Özey, 2013; Tomaro vd., 2005). Ağır metal stresi, bitkiler de dahil olmak üzere canlılar üzerinde tehlikeli etkilere yol açan başlıca abiyotik streslerden biridir (Varma vd., 2021). Çeşitli kaynaklardan çevreye yayılmakta olan zehirleyici özellikte olan ağır metaller çevre kirlenmesinde en önemli rolü oynamaktadır (Goyer, 1991). Bunun sonucunda hareketsiz bir yaşamı olan bitkilerde ürün kayıpları ve çeşitli olumsuzluklar ortaya çıkmaktadır (Munzuroğlu ve Gür, 2000). Ağır metallerin bitkilerdeki toksisitesi bitki türlerine, ağır metal türüne, konsantrasyonuna, kimyasal formuna, toprak kompozisyonuna ve pH'ına göre değişkenlik göstermektedir. Bitki büyümesi için gerekli birçok ağır metal mevcuttur. Çinko ve bakır gibi ağır metaller enzim reaksiyonlarının kofaktörü ve aktivatörü olarak görev yaparlar (Mildvan, 1970). Kurşun, Kadmiyum, Cıva ve Arsenik gibi ağır metaller ise bitkiler üzerinde yararlı etkiye sahip olmadıkları için bitkilerde "ana tehdit" olarak kabul edilirler.

Bu ağır metaller sadece bitkiler için değil, aynı zamanda diğer canlılar, ortamdaki hava, su ve toprak için de bir tehdit unsuru oluşturmaktadır (Raskin, 1994).

### **1.1.1. Kurşun (Pb)**

Kurşun (Pb), toprakta doğal olarak bulunan, gri renkli yumuşak bir metaldir (Amari vd., 2017). Periyodik tabloda IV A grubunda yer alan kurşun elementinin atom numarası 82'dir. Kurşun Pb sembolü ile simgelenmiştir. Kurşun beşeri aktiviteler ile çevresel ortamlarda zararı büyük olan önemli bir ağır metaldir. Kurşun ilk metal özelliği taşımaktadır. Kurşunun inorganik ve organik olmak üzere iki formu bulunur. Organik formu uçucu özelliğe sahip inorganik formu ise atmosferde partiküller halinde bulunmaktadır. Bu nedenle besinlere, tarımsal ve sucul alanlara hızlıca geçebilecek niteliktedir (Tüfenkçi vd., 2020). Çevredeki kurşun kirliliğinin ana kaynakları, kurşun cevheri, endüstriyel atıklar, gübreler, böcek ilaçları ve belediye kanalizasyon çamurunun madenciliği ve eritilmesidir. Hem bitki hem de hayvanlar üzerinde olumsuz etkileri vardır. Bitkilerde kurşun, farklı hücre bileşenlerinde çeşitli metabolik aktiviteleri etkiler. Kurşun toksisitesi, tohum çimlenme yüzdesinde azalmaya, ayrıca büyümeye, kök ve sürgünlerin kuru biyokütlesine, mineral beslenmenin bozulmasına hücre bölünmesinde azalmaya ve fotosentezin inhibisyonuna neden olur. Ek olarak, kurşunun reaktif oksijen türleri (ROT) ürettiği ve bitkilerde antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı bildirilmektedir. Oksidatif stresin bir sonucu olarak üretilen ROT, bitki hücrelerinde fotosentetik aktivitenin inhibisyonu, ATP üretiminin inhibisyonu, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı gibi çeşitli zararlı etkilere neden olur (Malar vd., 2016). Genel olarak, Pb bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar için yüksek ve kalıcı toksisiteye sahiptir ve nihayetinde besin zinciri yoluyla ekolojik dengeyi ve insan sağlığını etkiler (Bassegio vd., 2020; Fu vd., 2021).

Kurşun ile yüksek oranda bulaşmış olan bitkilerde protein miktarında, bitki biyokütlesinde, gövde uzunluğunda, yaprak uzunluğunda ve yaprak sayısında azalmalar görülmekte ilerleyen seviyelerde ise fotosentetik içeriklerin inhibe edilmesi, kararmış kökler gibi toksik semptomlarda görülmektedir (Ashraf vd., 2017). Bitkiler için diğer olumsuz etkileri ise, hücrelerin duvarlarında stabiliteyi, hücrelerin turgorunu, yaprak alanlarını ve

stomaların döngülerini negatif yönde etkilemesidir. Bu negatif etkiler, bitkinin fotosentez yapmasını, su alımını azaltır (Farooqi vd., 2009). Kurşunun yüksek konsantrasyonu bitkilerde demir, kalsiyum, magnezyum, fosfor, çinko alınımını taşınmasını negatif yönde etkilemektedir (Patra vd., 2004). Yeterli su alamayan ve beslenemeyen bitkinin gelişimini zayıflar ve bir süre sonra durur (Farooqi vd., 2009). DNA ve RNA'nın yapısına da bağlanan kurşun organizmadaki metabolik yolları engellemektedir. Kurşun birikiminin en fazla köklerde görülmesinin sebebinin bitkideki savunma sistemi sayesinde gövde, meyve ve sürgünlerin korunmasına yönelik olduğu bilinmektedir.

### 1.1.2. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum (Cd) hafif mavimsi gümüş beyaz bir metaldir. Geçiş metalleri ailesine ait olan bu element, sekiz kararlı doğal izotopa ve 112,4 atom ağırlığına sahiptir. Toprak çözeltisinde çoğunlukla katyon formundadır. Kimyasal özelliklerinin çinko ve kalsiyumunkilerle pek çok benzerliği vardır. Bu nedenle biyolojik engelleri aşabilir ve dokularda birikebilir (Amari vd., 2017). Periyodik tabloda IIB grubunda yer alan kadmiyum elementinin atom numarası 48'dir. Cd sembolü ile simgelenmekte olan kadmiyum, yaygın ve farklı kullanım alanlarının olması sebebi ile çevresel kirlenmede çok önemli olan zehirli metallere bir tanesidir. Ağır metallerin en mühimlerinden biri olan kadmiyumun toprakta kalma süresi çok uzundur. Hareketli bir element olan kadmiyum, yüksek konsantrasyonlarda toksik etkisi olan bir ağır metaldir. Düşük dozu bile canlılar üzerinde pek çok olumsuz etki oluşturur (Yerli vd.,2020). İnsan ortamında her yerde bulunan Cd, en zararlı ağır metal kirleticilerinden biri olarak tanımlanmıştır. Cd kirliliği bitki büyümesini ciddi şekilde etkiler ve dünya çapında önemli bir çevre sorunu haline gelmiştir (Zhu vd., 2021). Nadir bir element olan kadmiyum saf olarak doğada bulunmamaktadır. Biyolojik yarı ömrünün uzun olması, çok düşük dozlarda bile yüksek toksisiteye sebep olması önemli bir kirletici olmasına sebep olmaktadır (Goyer, 1991; Lyons vd., 1996).

Cd elementi esas olarak toprakta  $Cd^{2+}$  iyonları şeklinde bulunur ve bu iyonlar bitki kökleri tarafından (özellikle kök kıllarının olduğu bölgelerde) kolaylıkla emilir ve biyolojik hareketlilikleri nedeniyle birçok organda birikir. Cd ksileme taşınır. Apoplastik ve simplastik

yollar yoluyla kök epidermisi ve kök korteksi ksilemin içine girdikten sonra gövdelere ve yapraklara kolaylıkla gidebilmektedir. Bitkilerin Cd absorbe etme yeteneklerine rağmen, Cd elementi bitki metabolizması için gerekli değildir ve en tehlikeli çevresel bitki zehirlerinden biri olarak kabul edilir (Min vd., 2013; Song vd., 2017).

Bitkilerin temel yapısını oluşturan azot ve karbonhidrat gibi maddelerin metabolizmasını değiştiren kadmiyum, proteinleri etkilemekte ve enzimlerin sentezini de bozmaktadır. Transpirasyon ile su kaybının azalması, bitki stomalarının kapanmasına yol açarak fotosentezi etkilemesi gibi birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır (Zengin ve Munzuroğlu, 2005). Aşırı Cd birikiminin bitkilerde büyüme geriliği, azalan klorofil içeriği ve karotenoid içeriği, azalan yaprak yüzeyi, azalan fotosentez hızı, azalan biyokütle, azalan su içeriği ve artan proteaz aktivitesi gibi birçok zararlı etkisi de bulunmaktadır (Zhu vd., 2021). Kadmiyum bitkilerde oksidatif strese yol açar ve antioksidan enzimlerin aktivasyonunu engeller (Çakmak vd., 1993). Bitkiler oksidatif strese maruz kaldıktan sonra oluşan hasarı ve toksik düzeyde biriken ROS moleküllerini yok etmek için bir takım savunma sistemi geliştirmişlerdir. Bu sistem içerisinde SOD, POD, CAT, GR, APX gibi enzimler antioksidan savunma sistemleri içerisinde önemli yer tutmaktadır (Nahakpam ve Shah, 2011).

### **1.1.3. Bakır (Cu)**

Bakır (Cu), birçok biyokimyasal ve fizyolojik süreçte yer alan bitkiler için gerekli bir mikro besindir. Cu bileşikleri sadece endüstriyel faaliyetler için değil aynı zamanda tarımda da kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bitkilerdeki aşırı Cu konsantrasyonları, oksidatif hasarın indüklenmesine yol açtığı için toksik olabilir. Cu bileşikleri toprak mikrobiyomu tarafından parçalanamadığından, toksisitesinin ortadan kaldırılması zordur ve dünya çapında büyük endişelere yol açar (Giannakoula vd., 2021). Temel bir mikro element olan bakır farklı kayaç yapılarında, minerallerin yapılarında bulunmaktadır. Sağlıklı bir bitkinin gelişimi için kullanılacak olan ve topraktan alınmakta olan bakır bitkideki çeşitli dokularda, organellerde taşınmaktadır (Habiba vd., 2015). Bakır, fotosentezde, solunumda, karbonhidratların yıkılmasında, azotun kullanımında depolanmasında ve çeşitli fizyolojik

olaylarda rol oynamaktadır. Her iki nükleik asitinin oluşum ve çoğalmasında da kontrol altında tutmakta olan bakırın eksikliğinde bitkilerde üreme de sona ermektedir (Okçu vd., 2009). Fakat bakırın yüksek konsantrasyonu toksik etki göstererek bitkide normal gelişimi engellemektedir (Güzel ve Terzi, 2013). Aşırı bakır, bitki biyokütlesinde azalma, yaprakta klorozise, kök büyümesinde durmaya, yaprak renginde koyulaşmaya ve nekroza sebep olmaktadır (Kafkasyalı, 2021). Membran geçirgenliğindeki bozulmaya bağlı olarak köklerde yer alan hücrelerde iyon kaybına, DNA hasarına, fotosentezin düzensizleşmesine de neden olmaktadır (Okcu vd., 2009). Cu bitki dokularında birikir ve temizlenmesi zordur. Bitkilerin dokularında 5-20 µg/g kuru ağırlık civarında bakır bulunmaktadır. Bu miktar bitkilerin türüne, gelişme evrelerine ve topraktaki metal seviyelerine bağlıdır (Ravet ve Pilon, 2013).

## **1.2. Sürdürülebilir Teknoloji Olarak Fitoremediasyon**

Çevresel kontaminasyonla ilgili son zamanlardaki endişeler, metallerin toprak, su ve atık sudaki varlığını ve hareketliliğini değerlendirmek için uygun teknolojilerin geliştirilmesini başlatmıştır. Fitoremediasyon, aktif olmayan metalleri ve metal kirleticileri kirlenmiş topraktan çıkarmak veya uzaklaştırmak için kullanılan etkili ve uygun maliyetli bir teknolojik çözüm haline gelmiştir. Fitoremediasyon özetle, toprak, tortu ve sudan kaynaklanan bir kontaminasyonu temizlemek için bitkilerin kullanılmasıdır. Bu teknoloji çevre dostudur ve potansiyel olarak uygun maliyetlidir (Tangahu vd., 2011).

Fitoremediasyon, tüm bitki gövdesinin yer değiştirme, biyobirikim ve kirletici bozunma yetenekleri ile birlikte bitki kök sistemlerinin benzersiz ve seçici alım yeteneklerinden yararlanır. Toprakta uzun süre kalan ağır metaller buldukları ekosistem açısından etkileri uzun sürecek olan tehditler oluşturmaktadırlar. Bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlarında görev alan Cu, Fe, Mn, Ni, Zn gibi ağır metallerin fazla miktarda bulunması toksik etki yaratmaktadır. Fakat kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), arsenik (As) ve cıva (Hg) gibi ağır metallerin tüm dozları bitkide toksik etkiye sebep olmaktadır (Yan vd.,2020). Ağır metallerle kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi için çeşitli teknolojiler mevcuttur. Bu iyileştirme teknolojileri kimyasal, fiziksel ve biyolojik olarak 3 ana gruba ayrılmaktadır (Abdelhafez vd., 2014). Bu teknolojilerden fiziksel ve kimyasal olanlar pahalı,

daha fazla uğraş gerektiren, ikincil kirletici maddelere yol açabilmenin yanı sıra toprağın biyolojik faaliyetleri, yapısı ve verimi üzerinde de olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Pahalı olması ve çevre dostu olmayan diğer yöntemlerden dolayı az maliyetli ve çevreye zarar vermeyen bir yöntem ihtiyacı doğmuştur. Bu bitkisel ıslah ya da yeşil ıslah olarak adlandırılan yöntem ‘Fitoremediasyon’ olarak adlandırılır.

Fitoremediasyon, Yunanca’da ‘bitki’ anlamında ‘phyto’ ile Latince’de ‘iyileştirme’ anlamda ‘remedium’ kelimelerinin birleşimiyle oluşan bir terimdir (Laghlimi vd., 2015). Fitoremediasyon kısaca, topraktan bitkiler aracılığı ile ağır metallerin ve diğer kirleticilerin uzaklaştırılmasını sağlayan bir uygulamadır. Çevre dostu olması ve maliyetinin düşük olması bu yöntemi diğerlerinden çekici kılmaktadır (Sharma vd., 2014). Fitoremediasyon tekniğinde yerinde arıtım sağlanmaktadır. Doğal kaynaklara zarar vermemesi de diğer bir avantajıdır (Hamutoğlu vd., 2012). Fitoremediasyon tekniğinin avantajlarının yanında bu tekniğin en önemli dezavantajı ise kirlenmiş alanların temizlenmesi için uzun yıllar gerektirmesidir.

Fitoremediasyon tekniğinin uygulanmasında; bitki türlerinin seçimi önemli bir rol oynamaktadır. Çim bitkileri fitoremediasyonda en çok tercih edilen bitki türleridir. Bunun sebebi çimlerin lifli kök yapısına sahip olmaları ve bu sayede toprağı stabilize edebilmeleridir (Kulakow vd., 2000). Bunun yanı sıra çim bitkileri hızlı büyüme, büyük miktarda biyokütle oluşturma, dirençli olma, yoğun toprak isteği olmama, stres ortamı ve sığ topraklar gibi genellikle olumsuz koşullara uyum göstermelerinden dolayı fitoremediasyonda yaygın olarak tercih edilmektedir (Laghlimi vd., 2015). Fitoremediasyon için daha çok yerel bitki türleri tercih edilmektedir.

Fitoremediasyonda kullanılan bitkilerin bazıları; mavi-yeşil bakteri, su mercimeği, ararot, Sudan çimi, karaçayır, Bermuda çimi, çayır yumak otu, sarı ya da beyaz nilüfer, ayçiçeği, güve otu çimi, kavak ağacı, kuzgun otu, havuç, pervane çiçeği ve dallı darıdır (Vasavi vd., 2010). Fitoremediasyon yönteminde bitki türlerinin seçimi, yüksek büyüme oranı ve verimli biyokütle, suya doyma ve kuraklık koşullarına karşı dayanıklı olma, yüksek pH ve tuzluluğa toleranslı olma, derin kök, topraktan alım potansiyeli, metallerin yeterli

birikimi gibi kriterlere göre yapılmaktadır (Sarma, 2011). Ağır metalleri biriktiren bitkiler zehirleyici özelliklere sahip olan kirleticileri tüm organ ve dokularında biriktirebilmektedirler. Bu tür bitkilere yüksek düzeyde biriktirici anlamına gelmekte olan “hiperakümülatör” bitkiler adı verilmektedir. Normal bitkilere kıyasla bu tür bitkiler zehirli ağır metalleri köklerinde tutabilme özelliğine sahiptir. Derişimleri 1000 ppm ve 10.000 ppm arasında değişen ağır metalleri biriktirme yeteneğine sahip bitkilerdir. Fitoremediasyon ağır metallere kirlenmiş toprak, sediment veya suyun remediasyonuna göre farklı mekanizmalarla isimlendirilir. Bu mekanizmalar fitoekstraksiyon (bitkisel özümleme), fitofiltrasyon, fitostabilizasyon (köklerle sabitleme), fitodegradasyon (bitkisel bozunum), fitovolatilizasyon (bitkisel buharlaşma), hidrolik kontrol ve vejetatif örtü sistemleridir (Nedjimi, 2021).

Çalışmaların çoğu özellikle son yıllarda önemli bilimsel ve teknolojik ilerlemenin alanı olan metal hiperakümülatör alanına odaklanmaktadır. Bazı bitkiler bir takım ağır metalleri bünyelerinde biriktirebilme özelliğine sahiptirler. Hiperakümülatör bitkiler, ağır metalleri emer, taşır ve yerüstü kısımlarında depolar. Hiperakümülatör olmayan bitkilere göre zehirli özellikteki metalleri kök dokularında 1000-10.000 ppm arasında tutabilme yetenekleri bulunmaktadır. Aynı zamanda gövde ve yapraklarında da bu birikim işlemini yapabilirler. Hiperakümülatör bitkiler ilk olarak Brassicaceae ve Fabaceae familyalarının üyeleri olarak karakterize edilmiştir (Yanqun vd., 2004). Hiperakümülatörler, canlı dokularında aşırı metalloid konsantrasyonları biriktirme yeteneğine sahip bitkilerdir (van der Ent vd., 2018). Bu bitkiler tarafından en çok arıtılabilen metaller Cu, Cd, Co, Mn, Ni, Zn, Pb, Fe, Mg olarak bilinir. Hiperakümülatör bitkilerde ağır metallerin meydana getirdiği toksik etkiler önlenmektedir. Bu toksik etkiler; nekroz, klorofil sentezinde bozulma, su dengesinde değişim ve hücre duvarına metallerin bağlanması, yaprak koyulaşması, vakuollere metal iyonlarının taşınması veya organik asitlerle kompleks oluşturması olarak tanımlanmaktadır (Champagne, 2007).

Üç temel özellik, hiperakümülatörleri ilgili hiperbirikim yapmayan taksonlardan ayırır: güçlü bir şekilde arttırılmış ağır metal alım oranı, daha hızlı bir kökten filize translokasyon ve yapraklardaki ağır metalleri detoksifiye etme ve ayırmada daha fazla yetenek. Hiperakümülatörlerin ve ilgili hiperakümülatör olmayanların karşılaştırmalı



fizyolojik ve moleküler analizlerinden ortaya çıkan ilginç bir gelişme, hiperakümüülasyonun çoğu temel adımının her iki bitki türünde bulunan genlerin farklı düzenlenmesine ve ifadesine dayanmasıdır (Rascio ve Izzo, 2011).

### **1.3. Bitkilerde Stres ve Savunma Enzimleri**

Bitkiler hareketsizdir. Biyotik (patojenler, parazitler, otlatma) ve abiyotik (kuraklık, sel, tuzluluk, düşük-yüksek sıcaklıklar, ultraviyole radyasyon, besin eksikliği, ağır metal toksisitesi vb. streslerden kaçamazlar. Bitki büyümesi, gelişmesi ve üretkenliği çeşitli çevresel streslerden etkilenir. Bu stresler genellikle bitki hücrelerinde homeostazi ve iyon dağılımını bozar ve ozmotik stresi indükleyerek reaktif oksijen türlerinin (ROT) birikiminde bir artışa yol açar. Bitkilerde ROT üretimi ve birikmesi, hücre organellerinin ve fonksiyonlarının ciddi şekilde tahrip olmasına neden olarak membran peroksidasyonuna neden olarak hücre zarında hasara, biyolojik makromoleküllerin bozulmasına ve nihayetinde hücre ölümüne neden olur. Bitkilerin ROT'un toksik etkilerini temizleme yeteneği, farklı streslere toleranslarının en önemli belirleyicisi gibi görünmektedir. Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu zararlara karşı ilk savunma hattıdır ve bitki hücrelerinin optimum sağlığı için kritik öneme sahiptir. Bitki antioksidanları, çok çeşitli mekanizmalar ve işlevler yoluyla bitki gelişimine yardımcı olmada önemli bir rol oynar (Rajput vd., 2021).

Ekolojik şartların optimum olması halinde bitkiler gelişip büyüebilmektedir. Bazı bitkiler değişen ortam şartlarında, metabolizmalarını oluşturan şartlara göre ayarlayarak diğer bir deyişle ortama uyum sağlayarak hayatta kalırlar. Oluşturan şartlara uyum sağlayamayan bitkilerde bitkinin gelişimi verimliliği ve hayatta kalması olumsuz yönde etkilenir. Bu durum bitkilerde fizyolojik değişiklikler oluşturmaktadır (Shao vd., 2008). Çevresel stres faktörlerine karşı bitkilerin tolerans seviyesi farklılık göstermektedir. Bu durum bitkilerin türlerine, stres faktörlerine, maruz kalma sürelerine, dokuların ve organların yapılarına göre değişiklik göstermektedir (Gür vd., 2004). Bütün bu olumsuz faktörler bitki hücrelerinde oksidatif stresin oluşmasına sebep olmaktadır (Minibaeva ve Gordon, 2003). Oksidatif stres serbest radikaller tarafından oluşturulmaktadır (Van ve Dat, 2006). Ekzojen serbest radikal kaynakları aşırı değişken ısı değerleri, ağır metaller, kuraklık, ultraviyole kaynaklar, besin

yetersizlikleri, yüksek tuz içeren ortamlar, ışık stresi ve hipoksidir (Gechev vd., 2003). Bitkilerdeki stres, büyüme koşullarında metabolik homeostazı bozan ve genellikle alışma olarak adlandırılan bir süreçte metabolik yolların ayarlanmasını gerektiren herhangi bir değişiklik olarak tanımlanabilir (Shulaev vd., 2008). Maden faaliyetleri, evsel ve sanayi atıkları, tarımsal alanlardaki zararlıları öldürmekte kullanılan kimyasallar, suni gübreler, araç trafiği sonucunda salınan gazlar sonucunda ekosisteme aşırı miktarda verilen ağır metaller bitkileri strese sokan çevresel faktörler arasında yer almaktadır (Shanker vd., 2005). Fe, Mn, Cu, Ni, Co, Cd, Zn, Hg ve As gibi ağır metaller uzun süredir endüstriyel atıklar ve kanalizasyon yoluyla toprakta birikmektedir. Bu metallerin bazıları bitkilerdeki birçok düzenli süreçten sorumlu temel mikro besinler olsa da, fazlalıkları zararlı etkilere sahip olabilir ve bitki büyümesini, metabolizmasını, fizyolojisini ve yaşlanmasını doğrudan etkileyebilir (Ghori vd., 2019). Ağır metaller bu toksik etkilerinden dolayı bitkilerde birçok fizyolojik olayın bozulmasına sebep olurlar. Bitkilerdeki transpirasyon, su alımı, stomalardaki mekanizmalar, fotosentez, enzim aktiviteleri, çimlenmeleri, protein sentezleri, membran stabiliteyi, hormonal dengeleri bozulan mekanizmalar arasında sayılabilir (Kennedy ve Gonsalves, 1987). Metal toksisitesi sırasında hücrelerde oksidatif stres belirginleşir ve strese bağlı protein ve hormonların, antioksidanların, ısı-şok proteinlerini içeren sinyal moleküllerinin üretimi başlar (Ghori vd., 2019). Antioksidanlar farklı bir substratta oksidasyonu azaltan ya da engellemekte olan oksidasyon olayı ile mücadele eden ve düşük konsantrasyonlarda okside edilebilen maddelerdir (Çaylak, 2011). Antioksidanlar, baskılayıcı etki göstererek oluşan reaksiyon hızını azaltırlar aynı zamanda onarıcı rol oynayarak lipid, DNA ve protein gibi yapılarda oluşmakta olan biyolojik moleküler hasarları giderirler. Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan şekilde sınıflandırılmaktadır (Seven ve Candan, 1996). Bitkilerde ROT süpürme ile ilişkili birkaç antioksidan enzim vardır ve bu enzimlerin sentezinin oksidatif streslere maruz kalma sırasında arttığı bilinmektedir. ROS, süperoksit radikalleri ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), hidroksil radikalleri ( $\bullet\text{OH}$ ), perhidroksil radikalleri ( $\text{HO}_2^-$ ) ve alkoksi radikalleri gibi serbest radikalleri ve radikal olmayan formları, yani hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ve singlet oksijeni ( $^1\text{O}_2$ ), bitkinin hücre içi ve hücre dışı konumlarında bulunur. Süperoksit radikalleri ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), dioksijene ( $\text{O}_2$ ) tek bir elektron transferi ( $e^-$ ) ile üretilir. Evrim, bitkileri, bitki hücrelerinde serbest ROT'u temizlemek için çeşitli enzimatik stratejiler içeren çok çeşitli savunma önlemleri ile donatmıştır (Sharma vd., 2012). Stresli bitkideki tolerans mekanizmaları, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidazlar (POX), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR) gibi

birçok enzimatik bileşeni içeren bir dizi fizyo-biyokimyasal stratejiyi içerir. Bu enzimler antioksidan savunmasında önemli rol oynarlar (Lukic vd., 2020). Stresler sırasında SOD,  $\bullet\text{O}_2$ 'yi  $\text{O}_2$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'ye dönüştürerek uzaklaştırılmasını katalize eder, CAT  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi suya ve moleküler oksijene ( $\text{O}_2$ ) dönüştürür ve POX,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi temizlemek için hücre dışı alanda çalışır. Glutasyon redüktaz, oksitlenmiş glutasyonun (GSSG; dimerik) indirgenmiş glutatyona (GSH; monomerik) indirgenmesini katalize eder ve APX,  $\text{H}_2\text{O}_2$  suya atmak için spesifik elektron donörü olarak askorbat kullanır (Rajput vd., 2021). Bu enzimler sadece hücrelerin çeşitli bileşenlerini hasarlardan korumakla kalmaz, aynı zamanda mitoz (Remacle vd., 1992), hücre uzaması (Liu vd., 2014) , yaşlanma (Prochazkova ve Wilhelmova, 2007) ve hücre altı gibi hücrel-hücrel süreçleri modüle ederek bitki büyüme ve gelişmesinde önemli bir rol oynarlar. Hücre ölüm ve ayrıca hücre farklılaşması hücre büyümesi/bölünmesi, yaşlanmanın düzenlenmesi ve sülfat taşınması gibi çok çeşitli süreçlerde yer alırlar (Sairam vd., 2011; Zhang vd., 2018). Antioksidan savunma sistemi doymamış membran lipidlerini, nükleik asitleri, enzimleri ve diğer hücrel yapıları serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korur (Dumont ve Rivoal, 2019).

Bu tez araştırmasında, denemelerde ağır metal uygulaması yapılacak olan yonca ve fiğ bitkilerinde biyo-birikim kapasitesinin ve buna bağlı olarak da fitoremediasyon adayı olabilme potansiyelinin ICP-OES yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. İkinci amacımız ise; farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının yonca ve fiğ bitkilerinin fizyolojik parametrelerini ne ölçüde değiştirdiğinin antioksidant enzim kapasitesini [toplam protein, POX (peroksidaz), CAT (katalaz), SOD (süperoksit dismutaz)] ve parametrelerini ne ölçüde değiştirdiğinin belirlenmesidir.

## İKİNCİ BÖLÜM

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. Araştırmanın Terimleri

**Fitoremediasyon;** Tarım ürünlerine olan talebin artması, tarım arazilerinde yaygın olarak ekim yapılmasına neden olmuştur. Bu ürünlerin kalite ve miktarlarının korunması için gübre, zirai ilaç ve herbisit uygulanması gerekmektedir. Ancak bu tarımsal kimyasalların aşırı kullanımı, bu kimyasal maddelerin toprakta birikmesi ve bitki tarafından alınması gibi çevresel sorunlar yaratmaktadır (Moosavi veSeghatoleslami, 2013). Fitoremediasyon, topraktan, sudan veya havadan kirleticileri çıkarmak, hareketsiz hale getirmek, kontrol altına almak ve/veya ayrıştırmak için bitkilerin kullanılmasıdır (Gerhardt vd., 2017).

***Medicago sativa* (Yonca);** Yonca, “Alfalfa” kelimesinden türetilmiş Arapça olarak “en iyi at yemi” anlamına gelmektedir. İlk kültüre alınan besin kalitesi en yüksek baklagillerden olan yonca (*Medicago sativa*), baklagiller (Fabaceae) familyasına ait, uzun ömürlü çok yıllık otsu bir bitkidir. Yoncanın yüksek verim kalitesine sahip bir yem bitkisi olması, adaptasyon uyumu iyi olan topraklarda toprak erozyonunun engellenmesi ve haşere direncini en aza indirmesi açısından sürdürülebilir tarım sisteminde önemli rol oynamaktadır (Huggins vd.,2001). Yonca, çeşitli bakteri türleri (*Sinorhizobium meliloti*) ile simbiyotik bir yaşam sürdürerek azot fiksasyonunu gerçekleştirir. Bu durum toprak verimliliğini önemli ölçüde arttırmaktadır.

***Vicia sativa* L. (Fiğ);** Fiğ bitkisi serin iklim bitkidir. Yüksek rakımda yetişir, set kışa dayanıklıdır, zarar görmez. Kuraklığa dayanıklıdır, otu verimli ve besleme değeri yüksek fazla sulamaya ihtiyaç duymaz. Tek yıllık bir baklagil yem bitkisidir. Aynı zamanda tohumunun iri olması ve toprağı iyileştirici etki yapmalarının yanı sıra ara ürün olarak kullanılması fiğ bitkisinin yetiştiriciliğini kolaylaştırmaktadır. Ülkemizde yoncadan sonra en çok yetiştirilen yem bitkisidir.

**Toplam Protein;** Bitkilerde toplam protein miktarının belirlenmesi için araştırmamızda Bradford (1976) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde organik boyalar proteinin asidik ve bazik gruplarıyla etkileşmesi ve sonrasında renk oluşturması esas alınmaktadır. Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının kullanıldığı Bradford tarafından geliştirilen yöntem boya bağlama temeline dayanmaktadır. Yöntemlerin en yaygını olarak kullanılmaktadır. G-250 kuvvetli bir asitte çözüdüğu zaman, kırmızı-kahverengi bir renk oluşmaktadır. Bu renk oluşumu protonlanmadan kaynaklanır. Bu boya, pozitif yükü olan proteine bağlanınca mavi renk alır.

**Peroksidaz;** Peroksidazlar (POX) savunma mekanizması işleyişinde etkin rol oynayan öncül enzimlerdendir. Çok çeşitli molekülleri oksitlemek için H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> veya O<sub>2</sub> kullanan heme içeren monomerik glikoproteinlerdir (Yoshida vd., 2003).

**Süperoksit Dismutaz:** Süperoksit dismutazlar (SOD'lar), süperoksit radikallerinin oksijen ve hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden metal içeren enzimlerdir. Enzim, birçok biyolojik oksidasyonun yan ürünleri olarak üretilen, toksikliği azaltılmış oksijen türlerine karşı savunmada önemli bir rol oynadığı, incelenen tüm aerobik organizmalarda bulunmuştur. Oksijen radikallerinin üretimi, çevresel olumsuzluklar sırasında daha da şiddetlenebilir ve sonuç olarak SOD'ın bitki stres toleransı için önemli olduğu öne sürülmüştür. Bitkilerde, aktif bölge metal iyonlarına göre sınıflandırılan enzimin üç formu mevcuttur: bakır/çinko, manganez ve demir formları. Bu enzimlerin dağılımı hem hücre altı düzeyde hem de filogenik düzeyde incelenmiştir. Üç farklı SOD türünün tümü yalnızca bitkilerde bir arada bulunur (Bowler vd., 1994).

**Katalaz:** Katalaz (CAT) tüm aerobik organizmalarda bulunan bir antioksidan enzimdir. Katalaz izozimlerinin çoklu moleküler formları, bitki sistemi içindeki çok yönlü rolünü gösterir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin belirli hücreler veya organeller içindeki katalaz izozimleri tarafından belirli zaman ve gelişim evrelerinde modülasyonu, bitkilerde doğrudan veya dolaylı olarak sinyal iletimine müdahale eder (Sharma ve Ahmad, 2014).

## 2.2. Fitoremediasyonla ilgili çalışmalar

Fitoremediasyon yöntemi, ekolojik ve ekonomik bir yöntemdir. Uygulanması sırasında özel donanımlara gerek yoktur. Bu yöntemin farklı olumlu yönleri olması nedeni ile toprak ıslahında kullanımı günümüzde çok yaygın bir hale gelmiştir. Fitoremediasyon kapsamında dokularında yüksek oranda kirletici biriktirebilme yeteneğinde olan hiperakümülatör bitkiler kullanılmaktadır.

Baklagil-Rhizobium simbiyozu, simbiyotik nitrojen fiksasyonundaki faydalı aktivitesi nedeniyle kirlenmiş toprakların fitoremediasyonu için umut verici bir teknik olarak önerilmiştir. Bununla birlikte, çok sayıda çalışma, aşırı ağır metallerin Rhizobium ile simbiyotik nodülasyonun etkinliğini azalttığını ve bitki büyümesini engellediğini göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada, Cu ve Zn stresi altında IAA üreten bakterilerin ve Rhizobium'un *Medicago lupulina* bitkisinin büyümesi üzerindeki sinerjistik etkileri değerlendirilmiştir. Saksı deneylerinde bakır ve çinko ağır metallerinin farklı oranlarda kullanımlarının bitki büyümesini büyük ölçüde engellediğini, ancak *Medicago lupulina* bitkisinin *Sinorhizobium meliloti* ve *Agrobacterium tumefaciens* ile ikili aşılmasının, antioksidan aktivitelerini artırarak nodül sayısını ve bitki biyokütlesini önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. 400 mg kg<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup> + ve Zn<sup>2+</sup> + çift stresi altında, ikili aşılınmış bitkilerin nodül sayısı ve nitrojenaz aktiviteleri, *Sinorhizobium meliloti* ile aşılınmış bitkilerden sırasıyla %48.5 ve %154.4 daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle, *S. meliloti* ve *A. tumefaciens* ile birlikte aşılama, ağır metalle kirlenmiş toprakta biyoremediasyon için yeni bir yaklaşım sağlayan Cu/Zn stresi altında bitki büyümesini ve antioksidan aktivitelerini artırarak metal fitoekstraksiyonunu geliştirir (Jian vd., 2019).

2001 yılında yapılmış bir çalışmada; yonca bitkisine farklı ağır metal uygulamaları yapılmıştır. Her biri 0-40 ppm arasındaki konsantrasyonlarda hazırlanan Cr, Zn, Cu ve Ni ağır metalleri yonca besiyerinde tohumlara uygulanmıştır. Tohum ekiminden iki hafta sonra bitkiler hasat edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre Cd alımında doza bağlı artış olduğu, bu artışın 5 ppm'de 6122 mg/kg, 20 ppm'de 6710 mg/kg olduğu belirlenmiştir (Peralta vd., 2001).

Yapılan bir diğer çalışmada, fiğ bitkisinin fitoremediasyon potansiyeli araştırılmıştır. Bu çalışmada, fiğ fenol toleransı, büyümenin farklı aşamalarında test edilmiştir. Çimlenme indeksi ve çimlenme oranı sadece yüksek fenol konsantrasyonlarında (250 ve 500 mg /L) azalırken, 30 günlük bitkiler bu kirleticiyi yüksek uzaklaştırma verimleri ile tolere edebilmiştir. POX ve APX gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri, en yüksek fenol konsantrasyonu ile önemli ölçüde artarken, süperoksit dismutaz aktivitesi, malondialdehit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyeleri değişmeden kalmıştır. Sonuçlar, adi fiğ fenol kaynaklı oksidatif hasara karşı etkili bir koruma mekanizmasına sahip olduğunu göstermiştir (İbanez vd., 2012).

Başka bir çalışma, Cd ve Zn ile kontamine toprakta *Ricinus communis* ve baklagillerin birlikte ekilmesinin fito-ekstraksiyon etkilerine odaklanmıştır. Sonuçlar, *Medicago sativa* varlığının *R. communis* boyunu ve biyokütlesini önemli ölçüde artırabildiğini ve daha yüksek kirlilik seviyelerinde *R. communis*'in klorofil içeriği üzerinde daha büyük bir etki olduğunu göstermiştir. Kirlilik seviyelerindeki farklılıklar, *R. communis* bitkilerinin yağ içeriğini önemli ölçüde değiştirebilir, ancak *M. sativa* ağır metallerin etkisini hafifletebilir. *M. sativa*'nın varlığı, *R. communis*'te kümülatif kadmiyum ve çinko miktarını sırasıyla 1.14 ve 2.19 kat artırmıştır. Kısacası, *R. communis* ve baklagillerin birlikte dikilmesi, kirlenmiş toprağı iyileştirmiştir ve gelecekte ağır metalle kirlenmiş toprak için pratik bir bitki iyileştirme yolu olabilir (Xiong vd., 2018).

Sudaki makrofitler, ağır metal kadmiyumunun iyileştirilmesi için muazzam bir potansiyele sahiptir. Bu çalışmanın amacı, su marulunun, *Pistia stratiotes* L. Cd fitoremediasyon kabiliyetini araştırmaktır. Sürgün dokuları atomik absorpsiyon spektroskopisi ile ölçülmüştür. Elde edilen değerler, bu bitkinin biyokonsantrasyon faktörü (BCF), translokasyon faktörü (TF) ve translokasyon verimliliğini değerlendirmek için kullanılmıştır. Bitki, 20 mg L. e kadar yüksek Cd toleransı göstermiş, ancak kök ve sürgün biyokütlesinde genel bir düşüş eğilimi gözlenmiştir. Kök ve sürgün dokuları için maksimum BCF değerleri sırasıyla 5 mg L<sup>-1</sup> Cd için elde edilen 2.294 ve 870 idi, bu da bitkinin bir Cd hiperakümülatörü olduğunu göstermiştir. TF maksimumu 0,6 olarak bulunmuş ve 15 mg L<sup>-1</sup> Cd için %60'a varan kökten sürgüne translokasyon verimi gözlemlenmiştir, bu da su marulunun yüzey sularından Cd'nin uzaklaştırılması için uygun olduğunu göstermektedir (Das vd., 2014).

Bir diğerk çalışmada, süs bitkisi olan *Calandula officinalis* L. Cu fitoremediasyon potansiyeli, büyüme tepkileri, fotosentetik aktiviteler ve SOD, CAT ve GPX gibi antioksidan enzimler açısından araştırılmıştır. Sonuçlar, bu bitkinin, hiperakümülatör olmayanlar için fitotoksik aralığın çok üzerinde olan 400 mg/kg'a kadar yüksek Cu toleransına sahip olduğunu göstermiştir. Dışsal fitotoksiste belirtileri göstermeden tüm dozlarda (150-400 mg/kg) topraklarda normal olarak büyümüşür. 150 mg/kg'da çiçeklenme artmıştır. Kök ve sürgün biyokütlesi, kök uzunlukları ve yaprakta çözünür protein içerikleri kontrol ile aynı kalmıştır. Bununla birlikte, klorofil ve karotenoid pigment içerikleri, tüm dozlarda lipid peroksidasyonundaki önemli artışlarla birlikte önemli ölçüde azalmıştır. En yüksek konsantrasyon hariçtir (400 mg/kg), yaprakta Cu birikimi kök birikimlerinden daha yüksek bulunmuştur. Yaprak ve kök birikimleri sırasıyla 4675 ve 3995 µg/g kuru ağırlık, minimum 1000 µg/g kuru ağırlıktan çok daha fazla olacak şekilde Cu birikimi toprakta 300 mg/kg bakırda en yüksek değere ulaşmıştır. Bitki kökü, 94-62.7 arasında değışen tolerans indeksi ile Cu'yu tolere etmiştir (Goswami ve Das, 2016).

Başka bir çalışmada, toprakta açığa çıkan ağır metal bakır için bir hiperakümülatör bitki olarak *Helianthus annuus* L. etkinliğini belirlemek için mikrokozmetik koşullarda bir çalışma yapılmıştır. Sonuçlar, *Helianthus annuus* L. ile kontamine toprakta ağır metaller bakırın fito-ekstraksiyonu için kullanılmasının, fiziksel-kimyasal uzaklaştırmada genellikle çok zor olan düşük konsantrasyonlu metallerle ağır metal bakır absorpsiyonuna bir alternatif olabileceğı sonucuna varılmıştır (Mahardika vd., 2018).

Bir başka çalışmada, altı yüksek biyokütleli kaba yem türünün, iki hasat stratejisi altında (çift hasat veya tek hasat) kirlenmiş topraktan ağır metallerin (Cd, Pb ve Zn) fito ekstraksiyonundaki etkinliğini karşılaştırmak için bir saha çalışması yapılmıştır. Test edilen bitkiler arasında amaranth en yüksek miktarda Cd ve Zn biriktirirken, Rumex K-1 hem çift hem de tek hasat altında sürgünde en yüksek Pb miktarı gözlenmiştir. Ayrıca, çift hasat, amaranth, tatlı sorgum ve sudan otunun sürgün biyokütlesini önemli ölçüde arttırmış ve sürgünde daha yüksek ağır metal içeriğı ile sonuçlanmıştır. Mevcut sonuçlar, amaranth'ın kontamine topraklardan Cd'nin fito ekstraksiyonu için büyük potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Ningyu vd., 2016).

Başka bir çalışmada, Kurşun (Pb) için *Glycine max* L.'nin fito ekstraksiyon potansiyelini değerlendirmek için bir çalışma tasarlanmıştır. Canlı tohumlar, sırasıyla 0 ppm (kontrol), 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm ve 25 ppm Pb içeren her bir plastik saksıya



yerleştirilen 5 kg toprağa ekilmiştir. Çalışma, doğal koşullar altında 12 haftalık bir süre boyunca gerçekleştirilmiştir. Toprağın fizikokimyasal özellikleri standart yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar, kirlenmemiş toprağa kıyasla *Glycine max* L. ile artıran kirlili toprakta pH, fosfor ve nem içeriğinin arttığını, azot ve organik karbon içeriğinin azaldığını ortaya koymuştur. Bitkinin yaprak, gövde, tohum ve kökleri 12 hafta sonra Pb alımı için analiz edilmiştir. Bitkiler, yukarıdaki bitki biyokütlesinde tohumların (4,2 mg/kg), gövdenin (1,37 mg/kg) ve yaprakların (3,37 mg/kg) köklerdeki (1,53 mg/kg) konsantrasyonlara kıyasla önemli Pb konsantrasyonunu temizlediği gözlenmiştir. Bitkinin fito-ekstraksiyon kabiliyeti, biyokonsantrasyon faktörü (BCF) ve translokasyon faktörü (TF) açısından değerlendirildi. 12 hafta sonra köklerde ve sürgünlerde Pb seviyelerinin, daha fazla biyoyararlı Pb havuzunun kökten tohumlara, yapraklara ve gövdeye bu sırayla taşındığını gösterdiği gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, bitkinin fito ekstraksiyon kabiliyetine sahip olduğunu ve Pb ile kirlenmiş toprağın geri kazanılmasında kullanılabilmeceğini göstermektedir (Aransiola vd., 2013).

Fitoremediasyon, metalle kirlenmiş toprakları temizlemek için pratik bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada, kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) ile kirlenmiş topraklarda ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkilerinin potansiyel bir fitoremediatr olarak rolü araştırılmıştır. Sonuçlar, ayçiçeği fidelerinin sürgünlerinde Cd'nin etkisinin daha güçlü olduğunu, Pb'nin etkisinin ise daha güçlü olduğunu göstermiştir. Fizyolojik düzeyde, Cd uygulamasının, Pb'nin etkilerine kıyasla, tedavi edilen ayçiçeği fidelerinin yapraklarında daha az etkilenen fotosentez ile düşük seviyelerde lipid peroksidasyonu ve membran sızıntısına neden olduğu bulunmuştur. Burada sunulan sonuçlar, köklerde yüksek miktarda emilen toplam Cd'nin (%88.84) biriktiğini, yüksek miktarda toplam emilen Pb'nin (%71.39) ise ayçiçeği fidelerinin sürgünlerine aktarıldığını göstermiştir. Verim aşamasında kökler ve sürgünler arasında benzer Cd ve Pb tahsisi eğilimleri kaydedilmiştir. Burada ayçiçeği bitkilerinin Cd ile kirlenmiş toprakları fitostabilizasyon yoluyla iyileştirebileceğini, Pb ile kirlenmiş toprakları ise fito ekstraksiyon yoluyla iyileştirebileceğini önerilmektedir. Son olarak tohumlarda biriken eser miktardaki Cd ve Pb, Cd ve/veya Pb ile kirlenmiş toprakların temizlenmesinde ayçiçeği bitkilerinin güvenli ve ekonomik bir şekilde kullanılmasını önermektedir (Nasser vd., 2014).

Nikelin bir ağır metal olarak katalaz ve peroksidaz aktivitelerindeki rolünü incelemek ve ayrıca İran yoncasının organlarında nikelin alım ve transfer kabiliyetini incelemek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. 0,100, 200, 300 ppm'lik nikelin dört farklı uygulama dozu uygulanmış ve 10 gün süreyle işleme tabi tutulmuştur. Bu araştırmanın sonuçları, nikel arttıkça protein içeriğinin azaldığını göstermiştir. İran yoncası fitoremediasyon için uygun bir bitki olarak önerilmemektedir (Rad ve Ghasemi, 2015).

Fitoremediasyon, kirlenmiş topraklardan ağır metallerin temizlenmesi için çevre dostu ve düşük maliyetli bir potansiyel stratejidir. Gelecek vaat eden bitki seçimi, başarılı fitoremediasyon için önemli bir yaklaşımdır. Başka bir çalışmada, *Cordyline frucosa* L. bitkilerinin kurşun (Pb) ile kirlenmiş topraklara potansiyel bir fitoremediasyon olarak rolü araştırılmıştır. Farklı seviyelerde kurşun 250, 500 ve 750 mg Pb kg<sup>-1</sup> toprak ile *Cordyline frucosa* L. kullanılarak saksı kültürü deneyleri yapılmıştır. Büyüme parametresi biyokütle kök ve yaprak, bitkide Pb birikimi ve fotosentetik pigment içeriği 40 gün sonra ölçülmüştür. Sonuçlar, kurşun konsantrasyonlarındaki artışın, çoğu büyüme parametresinde ve fotosentetik pigment içeriğinde bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Öte yandan, kurşun konsantrasyonlarının artmasıyla kök ve yaprakta kurşun birikimi artmıştır (Lina vd., 2018).

Bir diğer çalışma ise, üç kültür bitkisinin çinko (Zn) ve nikelin (Ni) topraktan fitoremediasyonu için yeteneklerini karşılaştırmayı amaçlamıştır. Tedavileri karşılaştırmak için RCBD'ye dayalı bir faktöriyel (3x2x3) deney kullanılmış ve üç kez tekrarlanmıştır. Birinci faktör bitki türü (buğday, yonca ve kolza), ikinci faktör ağır metal türleri (çinko (Zn) ve nikel (Ni)) ve üçüncü faktör topraktaki ağır metal konsantrasyonu (0.0, 50 ve 100 mg idi. kg<sup>-1</sup>). Bitki türü ve ağır metal açısından, nikel (Ni) alımı için en yüksek alım buğdayda kaydedilmiştir. En düşük ağır metal alımı yonca mahsulünde ve nikel (Ni) ağır metalinde görülmüştür. Genel olarak, bu deneyin sonuçları, aşırı çinko (Zn) ve nikel (Ni) konsantrasyonunu ortadan kaldırmak için uygun bir araç olarak fitoremediasyonun kullanılmasının mümkün olduğunu göstermiştir (Eskandari ve Amraie, 2016).

Bir diğer çalışmada, üç tarım bitkisinin (bezelye, fiğ çiçek salkımı, yonca) aldığı ağır metal miktarları analiz edilmiş ve bu üç tür birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Analizler kurşun

ve çinko arttıkça bitkilerin kök ve sürgünlerindeki tüm kirleticilerin miktarının önemli ölçüde arttığını göstermiştir. İncelenen bitkiler, köklerinden ziyade sürgünlerinde element depolama konusunda nispeten daha iyi bir yeteneğe sahiptir. Fiğın kökten sürgüne kurşun transferinde diğer ikisine göre daha yüksek bir yeteneğe sahip olduğunu ve fiğ ve yonca türlerinin kökten sürgüne çinko transferinde bezelyeye göre daha yüksek yeteneklere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Nezami ve Kalantari, 2013).

Başka bir çalışmada, Parijat'ın çeşitli morfolojik, biyokimyasal ve fizyokimyasal parametreleri, değişen kuvvetlerde kurşun stresi koşulu altında analiz edilmiştir. Kurşun stresinin artan konsantrasyonu ile birlikte süperoksit dismutaz (SOD), lipid peroksidaz, guaiakol peroksidaz ve protein olmayan tiyol içeriğinin konsantrasyonunda bir artış kaydedilmiştir. Bu da bunların ağır metal stresiyle başa çıkmada önemli bir role sahip olduklarını gösterirken, eksojen stresle başa çıkmada önemli bir role sahip olduklarını göstermektedir. Kurşun stres tedavisi bitkideki klorofil ve protein içeriği üzerinde olumsuz bir etki yaratmıştır. Bu çalışma ile *N. arbor-tristis* bitkisinin hiperakümülyasyon ve antioksidan özelliklerinden dolayı ağır metal stresi için fitoremediyatör olarak potansiyel olarak kullanılabileceği sonucuna varılabilir (Kumar vd., 2019).

Yapılan bir diğer çalışmada, ortamda artan nikel klorür konsantrasyonlarında fiğ fidelerinin kök ve sürgünlerinde nikel iyonlarının birikimi incelenmiştir. Ortamdaki nikel klorür konsantrasyonu 50 µM'den fazla olduğunda sürgünlerde nikel birikiminin arttığı gözlenmiştir. Ortamda nikel klorür varlığından kaynaklanan oksidatif stresin bazı parametreleri gösterilmiştir. Fiğ fidelerinde ortamdaki düşük nikel konsantrasyonlarında, tohumlardaki yüksek amilaz aktivitesinin çeşitli biyokimyasal parametrelerde (katalaz aktivitesi ve prolin) artışına neden olduğu görülmüştür (Ivanischev ve Abramova, 2015).

Başka bir çalışmanın amacı, su sümbülü (*Eichhornia Crassipes* L. ) bitkisinin fitoremediyasyon kabiliyetini değerlendirmektir. Çalışma alanındaki insanlar, günlük ihtiyaçları için düşük su kalitesi sorunları nedeniyle su sıkıntısı yaşamaktadır. Bu nedenle, boya endüstrisi yakınındaki Amaravati Nehri'nde bulunan suyu arıtmak için girişimlerde bulunulmuştur. Yedi günlük işletme süresi altında, su sümbülü pH, BOİ, KOİ, TDS, krom ve

kurşunda maksimum giderme verimi göstermiştir. Bu çalışmanın yeniliği, su sümbülü (*Eichhornia Crassipes*) endüstriyel atık suların (birikmiş ağır metaller) arıtılması için kullanılmasıdır (Panneerselvam ve Priya, 2021).

2022 yılında yapılan bir çalışmada, yoğun arsenikle kirlenmiş endüstriyel toprağın sürdürülebilir iyileştirilmesi için iki enerji bitkisi *Cannabis sativa* L. ve *Brassica juncea* L. tarafından fosfat destekli fitoremediasyonun potansiyeli araştırılmıştır. Bu iki türün, arsenik ve fosfatın alımı, translokasyonu ve fizyolojik etkileri açısından bakılmış, *C. sativa* ve *B. juncea* arsenikle kirlenmiş toprakta yetiştirildiklerinde semptomsuz olmalarına rağmen, bir stres belirteci olarak biyokütlede önemli bir azalma (sırasıyla %50 ve %25) gözlenmiştir. *C. sativa* ve *B. juncea* köklerinde daha yüksek miktarda arsenik bulunmuş (sırasıyla ortalama 1473 ve 778 mg kg<sup>-1</sup>), ancak her iki tür de yaprak ve gövdelerde 47.0 ve 189'a kadar arsenik alabildi ve yer değiştirebilmiştir. Antioksidan enzimatik aktiviteler ve fotosentetik performans, iki üründe de farklı tepkiler vermiştir. Mevcut araştırma, birleştirilmiş fitoremediasyon-biyoenjerji yaklaşımı ile yüksek oranda kirlenmiş As-kontamine olmuş bir alanın sürdürülebilir bitki yönetimi için en uygun mahsul türlerinin yetkin bir şekilde seçilmesi için yeni bir bakış açısı sağlamıştır (Picchi vd., 2022).

Ağır metaller, insan ve diğer biyota için tehlikeli olduklarından, çevresel kaygıların büyük bir kısmını oluşturan kirleticilerdir. Ekin bitkilerinde ağır metallerin birikmesi büyük bir endişe kaynağıdır. Bu amaçla, ayçiçeği bitkisinin Pb ve Ni'yi fitoremediasyonda etkinliğini değerlendirmek için hidroponik bir çalışma yapılmıştır. Sonuçlar, Ni ve Pb uygulamasının sürgün ve kök kuru ağırlıklarını azalttığını göstermiştir. Çalışma, sentetik şelatör kullanımının, bitki biyokütlesindeki ağır metallerin alımını ve yer değiştirmesini arttırdığı ve bu da kontamine sudan Ni ve Pb'nin fitoremediasyonunu artırabileceği sonucuna varmıştır (Mukhtar vd., 2010).

Başka bir çalışmada, Moğolstanda Pb ile kirlenmiş toprağın iyileştirilmesi için bu türün kullanılması ve Pb stresinin yonca üzerindeki çimlenmesi ve fizyo-biyokimyasal etkileri tartışılmıştır. Araştırmalar, düşük Pb stres konsantrasyonunun yonca tohumlarının biyolojik direncini iyileştirebileceğini, yüksek Pb stres konsantrasyonunun tolere

edilemediğini göstermiştir. Pb konsantrasyonu 5 mg/L olduğunda, tohumun çimlenme hızı artmış ve özellikle klorofil içeriği artmıştır. Pb içeriği ve stres arttıkça malondialdehit (MDA), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, katalaz (CAT) miktarı artmıştır. Kök hücre canlılığı, klorofil ve çözümlü protein içeriği azalmıştır. Sonuç olarak, yonca 5 mg/L'lik Pb stresine karşı toleranslıydı, tersine 5 mg/L'den yüksek seviyelerde büyümesi engellenmiş ve 500 mg/L'de bitki zehirlenmiştir (Liu vd., 2022).

Başka bir çalışmada, kadmiyumun (Cd) topraktan 11 yerli bitkiye yer değiştirmesi ve toprakta birikimi araştırılmıştır. Tarladan bitki ve toprak örnekleri toplanmış ve Cd konsantrasyonları endüktif olarak eşleştirilmiş plazma kütle spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Çalışma alanındaki yerli bitkilerin toprak, kök ve sürgünlerindeki ortalama Cd değerleri sırasıyla  $82.8 \pm 5$ ,  $55.4 \pm 6$  ve  $43.5 \pm 4$  mg kg<sup>-1</sup>'dir. Bitkilerin sürgün ve kök değerleri için zenginleştirme katsayılarına göre bitkiler birkaç gruba ayrılmıştır. Bu gruplar, *Carduus nutans* ve *Phlomis*'in Cd ile kirlenmiş maden topraklarının fitoremediasyonu için faydalı potansiyel olarak biyoakümülatör bitkiler olabileceğini göstermiştir (Palutoğlu vd.,2018).

Bu çalışma, ağır metalle kirlenmiş topraktaki sophorolipids (SL) değişikliğinin *Medicago sativa* ve *Bidens pilosa*'nın büyümesi üzerindeki etkilerini ve *B. pilosa*'da metal alım verimini ve metal stresine tepkisini değerlendirmektedir. Sonuçlar, SL takviyeli bitkilerin kök ve sürgün uzunluklarının işlem görmemiş bitkilere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. 60 günlük denemeden sonra bitki boylarındaki artış *M. sativa* ve *B. pilosa* için sırasıyla %17 ve %11 olmuştur. Çalışma, Cd birikimini ve bitki büyümesini arttırdığı, toprak mikrobiyal aktivitesini iyileştirdiği ve *B. pilosa*'da metal stresini azalttığı için SL güçlendirmesinin fitoremediasyonu indüklemek için uygun bir seçenek olduğunu göstermektedir (Shah ve Daverey, 2021).

Yoncanın, farklı konsantrasyonlarda Pb ve Cd ve bunların kombinasyonları ile yapay olarak kirlenmiş toprağın fitoremediasyon potansiyelini araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Yonca özütü hazırlanarak daha sonra aynı saksılarda aynı toprakla ve gübre ilave edilmeden marul fidanları yetiştirilmiş; her muameleden hazırlanan yonca filizi ekstresi, muamelenin kendisine eklenmiştir. Yonca ve marul bitkileri hasat edildikten sonra toprak

örnekleri toplanmış ve kimyasal analizlere hazır hale getirilmiştir. Sonuçlar, yoncanın Pb- ve Cd ile kirlenmiş toprakların fitoremediasyonu için etkili bir akümülatör bitki olduğunu göstermiştir. Ek olarak, marul bitkilerini gübrelemek için yonca filizi özütünün kullanılması, ağır metallerin yer değiştirmesi riski olmadan büyümeleri için faydalı olmuştur. Bu nedenle, özellikle toprakların ağır metallerle kontamine olduğu durumlarda, ekim nöbetlerine yonca eklenmesi önerilmektedir (Morsy vd., 2022).

Bir diğer çalışmada, Kuzeybatı Çin'deki bir maden sahasında atık cürufunun çevresinde doğal olarak yetişen dört yerli ürün [pelin (*Artemisia capillaris*), karahindiba (*Taraxacum mongolicum*), yonca (*Medicago sativa*) ve muz (*Plantago asiatica* L.)] seçilmiştir. Pb ile kontamine toprak üzerindeki ekolojik restorasyon etkilerini taramak için saksı deneylerinde, dört farklı metal kurşun kirlilik gradyanı (0, 2, 3 ve 5% w/w) belirlenmiş ve bitki boyu, kök uzunluğu ve biyokütle gibi ürün büyüme indeksleri, toprak Pb içeriğindeki değişikliklerle birlikte belirlenmiştir. Ekimden önce ve sonra farklı doku ve organlarda analiz edilmiştir. Sonuçlar, topraktaki Pb içeriği düzeyine göre biriken Pb miktarındaki farkı göstermiştir. Kuzeybatı Çin'in kurak ve yarı kurak kurşun maden alanlarında toprak metal kurşun kirliliği için iyileştirme tesisleri olarak pelin ve muz bitkilerinin büyük potansiyele sahip olduğu bulunmuştur (Lu vd., 2021).

Bir diğer çalışma, nikel maruziyetinin yonca üzerindeki etkilerini fizyolojik, biyokimyasal ve transkriptomik seviyelerde değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Bitkiler, 60 gün boyunca artan beş Ni konsantrasyonuna (0, 50, 150, 250 ve 500 mg/kg) maruz bırakılmış ve yonca bitkisinde agronomik parametreler (taze ve kuru madde) ve klorofil içeriği (Chl) belirlenmiştir. Sonuç, bitkilerdeki Ni konsantrasyonunun topraktaki Ni konsantrasyonu ile birlikte önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Oksidatif stres biyobelirteçleri ile ilgili olarak, Ni kontaminasyonu, özellikle en yüksek Ni konsantrasyonu (500 mg/kg Ni) için dikkate değer bir MDA birikimi ile peroksidaz ve GST aktivitelerinde bir artışa neden olmuştur. Verilere bakıldığında ayrıca sürgünlerde ve köklerde Prx1C ve GST genlerinde önemli bir artış olduğunu göstermiştir. PC'lerin gen ekspresyonu, farklı nikel konsantrasyonlarına yanıt olarak önemli ölçüde artmıştır, bu da yonca bitkilerinde Ni detoksifikasyonunda önemli rollerini ortaya koymuştur (Helaoui vd., 2021).

Yapılan bir diğerk çalışmada, Pb ve Cd ile kirlenmiş topraklarda yetişen *Helianthus annuus* L. bitkisinin biyokütlesini karşılaştırmak ve Pb ve Cd'nin giderilmesindeki etkinliğini değerlendirmek için saksı deneyleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar toprakta ağır metal konsantrasyonu arttıka büyüyen bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarının giderek azaldığını göstermiştir. 200mgkg-1 toprak Pb ve Cd uygulaması sürgün ve kök taze ağırlıklarını (sırasıyla %76,6 ve %64,3'e kadar; %88,5 ve %80,80'e kadar), sürgün ve kök uzunluğunu (%71,6'ya ve %94,1'e kadar) azaltmıştır. Çalışma, *H. annuus* bitkisinin Pb'ye kıyasla Cd alımı için daha elverişli olduğu sonucuna varmıştır ve Pb ve Cd ile kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi için önerilen bir bitkidir (Alaboudi vd., 2018).

Başka bir çalışma ise türlerin ağır metallere, kurşun ve bakıra dayanıklı olan Korunga (*Onobrychis vicifolia* L.) bitkisinin absorpsiyon ve tanınabilirlik özelliklerini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Deneme dört tekerrürlü gerçekeştirilmiştir. Sonuçlar korunga kökleri ve toprak üstü kısımlar tarafından kurşun ve bakır absorpsiyonunda önemli etkiler göstermiştir ( $P>0.01$ ). Sonuçlar ayrıca korunganın, en yüksek bakır ve tek başına kurşun seviyesinde köke kurşun ve bakır absorpsiyonunda aynı yeteneğe sahip olduğunu ve bu elementlerin sırasıyla 7,68 ve 7,34 mg/kg kuru ağırlığının kökler tarafından absorbe edildiğini göstermiştir. Ek olarak, bitkinin bakırı hava kısımlarına emme yeteneği ve kurşun absorpsiyonundan daha büyüktür. Artan toprak kurşun ve bakır konsantrasyonları ve elementlerin emilimi, önemli bir Malondialdehit (MDA), Ditirozin (D-T) ve 8-hidroksi-2-biyobelirteçlerinin her birinin içeriğinde artış deoksiguanozin (8-2-OH-DG) ( $P<0.01$ ). Klorofil a, klorofil b ve toplamda maksimum azalma klorofil (a+b) içeriği en yüksek toprak kurşun (800 mg/kg) ve bakır (450 mg/kg) seviyesinde gözlenmiştir. Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve üç enzimin aktiviteleri ve işlevleri Glutasyon peroksidaz (GPX) önemli bir artış göstermiştir. ( $P<0.01$ ) Genel olarak bunların maksimum tepkileri enzimler de toprakta en yüksek kurşun ve bakır seviyesinde gözlenmiştir (Beladi vd., 2011).

Toprağı değiştirmek ve ağır metallerin uzaklaştırılmasını arttırmak için yeşil gübre olarak Fabaceae türlerinin kullanılması umut verici bir araştırma yaklaşımıdır. Odunsu türler ile tarımsal bitkileri birleştiren terk edilmiş maden sahaları için bir fitoremediasyon

projesinin bir parçası olarak bu çalışma, kullanılacak en uygun türü belirlemeyi amaçlamaktadır. Bu nedenle, dört Fabaceae türü (*Vicia faba*, *Cicer arietinum*, *Lens culinaris* ve *Medicago arborea*), yüksek konsantrasyonlarda Pb, Zn ve Cd içeren muti-metal kontamine toprağa ve 15 gün boyunca kontrol toprağına maruz bırakılmıştır. Daha sonra çıkış hızı, büyüme parametreleri, lipid peroksidasyonu, prolin ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) konsantrasyonları, antioksidan enzim aktiviteleri (katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve guaiakol peroksidaz (GPX)) ve ağır metal birikimi değerlendirilmiştir. Sonuçlar, *V. faba*'nın en toleranslı olduğunu göstermiştir. *V. faba* dışındaki tüm türler için çimlenme aşamasında nispi bir duyarlılık kaydedilmiştir. *V. faba*, Pb ve Zn'nin en düşük translokasyon faktörlerine ve Zn ve Cd'nin en düşük biyobirikim faktörlerine sahiptir. Bu da fito-stabilizasyon potansiyelinin altını çiziyor ve ağır metallere kirlenmiş toprakların değiştirilmesi ve rehabilitasyonu için yeşil gübre olarak kullanımını desteklemektedir (Hachani vd., 2022).

Kent ortamındaki kurşun (Pb), insan sağlığı, özellikle de çocuk sağlığı üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilir. Ev ortamında yüksek Pb maruziyetini azaltmak esastır. Bu çalışmanın amacı, kirlenmiş topraktan hangi süs bitkilerinin Pb aldığını belirlemektir. Hem gölge hem de güneş için bitkiler seçilmiştir. Gölge bitkileri [Brake eğrelti otu (*Pteris vittata*), Asya Yasemini, Liriope ve güneş bitkileri için *Variegated liriope*, kuşkonmaz eğreltiotu ve *Bermuda grass* yer örtücü peyzaj bitkileri, 250 ppm ve 500 ppm Pb konsantrasyonları içeren toprakta yetişen Pb'yi başarıyla asimile ettiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, hem güneşe hem de gölgeye uyum sağlayan peyzaj bitkilerinin, kirlenmiş topraklardan Pb'nin uzaklaştırılmasına yardımcı olabileceği ve toprağın hareketini azaltarak toprak partiküllerini stabilize edebileceği belirlenmiştir (Thompson vd., 2021).

Bir diğer çalışmanın amacı, potansiyel bir metal hiperakümülatörü olan pelin (*Artemisia absinthium* L.)'nin bakır biriktirme kapasitesinin ve fitoremediasyon uygunluğunun değerlendirilmesinin yanı sıra bazı şelatlama ajanlarının ve bunların kombinasyonlarının bakır fitoremediasyon etkinliği üzerindeki etkisinin belirlenmesidir. Çalışmaların sonuçları, *A. absinthium*'un, Zangezür Bakır ve Molibden Kombine (Ermenistan'ın güney doğusunda) çevresinden toplanan bakırla kirlenmiş topraklarda yetişme kabiliyetine sahip, nispeten iyi adapte olmuş bir bitki türü olduğunu göstermiştir. Çeşitli kimyasal ajanların bitki üzerindeki etkilerini bir araya getirerek, bitki büyümesinin



destekleyicisi olan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  uygulamasının sitrik ve malik asitlerin ortak kullanımı ile birleştirildiğinde büyüme şemasının en uygun yaklaşım olarak uygulanabileceği sonucuna varılmıştır (Ghazaryan vd., 2022).

Son zamanlarda, artan kuraklık riskleri nedeniyle, su stresi toleransı daha yüksek olan ürünlere olan ihtiyaç güçlü bir şekilde artmıştır. Bu mahsuller, gıda temini ve arazi restorasyonu gibi geniş bir kullanım alanına sahiptir. *Medicago scutellata* (L.) Mill. yüksek kaliteli yem üretme kapasitesi nedeniyle yaygın olarak yetiştirilen bir yem bitkisidir. Bu çalışmanın sonuçlara göre, 100 mg kg<sup>-1</sup>'e kadar artan Cd seviyeleri ile farklı organlardaki Cd alımı artarken, su stresi *M. scutellata* tarafından Cd alımını olumsuz yönde etkilemiştir. Farklı organların Fe, Zn ve K konsantrasyonları, artan Cd seviyesi ile önemli ölçüde azalmış, tüm organlarda artan su stresi ile Fe ve Zn konsantrasyonu artarken, su stresi seviyesi arttıkça köklerde K konsantrasyonu azalırken, yaprak ve sürgünlerde artmıştır. Bu sonuçlar, *M. scutellata*'nın, Cd için güçlü absorpsiyon ve birikimine bağlı olarak, kirlenmiş topraktan Cd'yi ortadan kaldırmak için iyi bir yeteneğe sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca yapraklarda prolin ve K birikimi ile gösterilen su stresi ve Cd'nin birlikte maruz kalması altında da iyi bir performans göstermiştir (Parsamanesh ve Sadeghi, 2019).

Bir başka çalışma ise, fitoremediasyon amacıyla tür seçimi için bitkilerin toleransının değerlendirilmesinde antioksidan yanıt kullanımının potansiyelini belirlemeyi amaçlamıştır. Yonca ve soya fasulyesi bitkileri, DDT ile kirlenmiş topraklarda yetiştirilmiştir. 60 gün sonra bitki dokularında büyüme, protein içeriği, antioksidan kapasite, GST aktivitesi, proteinli ve proteinsiz tiyol gruplarının konsantrasyonu, klorofil içeriği ve karotenoid içeriği ölçülmüştür. Sonuçlar, yonca veya soya fasulyesi fotosentetik pigmentleri üzerinde hiçbir etki göstermedi, ancak protein içeriği, antioksidan kapasite, GST aktivitesi ve tiyol gruplarında kökler, gövdeler ve yapraklar üzerinde farklı tepkiler göstermiş, bu da DDT'lerin her iki türü de etkilediğini göstermiştir. Soya fasulyesi, en düşük DDT birikimine sahip olmasına rağmen, yapraklarda daha düşük antioksidan kapasite ve GST aktivitesi nedeniyle yonca bitkilerinden daha yüksek duyarlılık göstermiştir. Bu çalışma, bitkinin DDT maruziyetine tepkisinin önemli bir bileşeni olarak oksidatif stresin rolüne dair yeni bilgiler sağlamaktadır (Mitton vd., 2016).

Potansiyel olarak toksik elementler (PTE'ler) ile toprak kontaminasyonu, canlı organizmalar için ciddi tehditler oluşturan, artan bir çevre sorunudur. Fitoremediasyon, PTE ile kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi için sürdürülebilir ve oldukça kabul gören bir teknolojidir. Yonca, geniş biyokütle üretkenliği, yüksek PTE toleransı ve PTE'leri almak için güçlü kapasitesi nedeniyle PTE ile kirlenmiş toprakların fitoremediasyonu için yaygın olarak benimsenmiştir. Bununla birlikte, yoncanın fitoremediasyondaki potansiyelini sistematik olarak özetleyen bir literatür incelemesi henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle, PTE alımını, fitotoksitesini, tolerans mekanizmalarını ve fitoremediasyon etkinliğini geliştiren yardımcı teknikleri sunan mevcut literatürler bu çalışmada gözden geçirilmiştir. Bu çalışmada, yonca, özellikle kök dokularında yüksek miktarda PTE birikimi göstermektedir. Bu arada, (i) antioksidan enzim sisteminin aktivasyonu, (ii) hücre altı lokalizasyonu, (iii) glutatyon, fitoşelatinler ve prolin üretimi ve (iv) yoncada PTE toleransının ve birikiminin iç mekanizmaları tartışılmıştır. Gerçekten de aşırı PTE, yonca bitkilerinde oksidatif hasara neden olan savunma sisteminin üstesinden gelebilir, böylece büyüme ve fizyolojik süreçleri inhibe eder ve PTE alım kabiliyetini zayıflatır. Şimdiye kadar, yonca bitkilerinde PTE toleransını ve/veya birikimini geliştirmek için aşağıdaki gibi çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir: (i) PTE'ye toleranslı çeşitlerin seçimi, (ii) bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulanması, (iii) şelatlama ajanlarının eklenmesi, gübre ve biyokömür malzemeleri ve (iv) toprak mikroplarının aşılması bu yaklaşımları tanımlar. Son olarak, toprak mikroplarının aşılmasıyla birlikte PTE'ye toleranslı çeşitlerin seçiminin, toprak PTE fitoremediasyonunun verimli ve çevre dostu bir stratejisi olabileceğini belirtilmiştir (Chen vd., 2022).

Bitki besin maddeleri, ağır metallerin toprak-bitki ortamındaki aktivitesini ve biyoyararlanımını etkileyerek bitkide birikimlerini etkileyebilir. Azotlu gübrelemenin yonca "*Medicago sativa*" tarafından kadmiyum (Cd) alımını üzerindeki etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Cd'ye maruz bırakılan ve azotlu gübrelerle beslenen yoncanın oksidatif durumunu, fizyolojik stres parametrelerini ve Cd alımını karakterize etmeyi amaçlamaktadır. Deneme, Cd ile kirlenmiş toprakta (3.6 ppm) yetiştirilen ve iki farklı gübre ile değiştirilmiş yonca ile bir serada gerçekleştirilmiştir. Çıkan sonuç azot arzının yonca tarafından Cd alım oranını artırabileceğini ve yonca kullanılarak gelecekteki fitoremediasyon uygulamalarına

yönelik azot gübrelemesinin önemi hakkında yeni bilgiler sağlayabileceğini göstermektedir (Hattab vd., 2014).

### **2.3. Ağır Metallerin Bitkilerde Savunma Sistemleri Üzerine Etkileri ile İlgili Çalışmalar**

Ağır metaller, yer kabuğunun doğal bileşenleridir, ancak ayırım gözetmeyen insan faaliyetleri, jeokimyasal döngülerini ve biyokimyasal dengelerini büyük ölçüde değiştirmiştir. Bu, belirli bir farmakolojik aktiviteden sorumlu olan ikincil metabolitlere sahip bitki kısımlarında metallerin birikmesine neden olur. Kadmiyum, bakır, kurşun, nikel ve çinko gibi ağır metallere uzun süre maruz kalmak insanlarda zararlı sağlık etkilerine neden olabilir. Bitki metal birikiminin moleküler olarak anlaşılması, uzun vadeli etkileri henüz bilinmeyen çok sayıda biyoteknolojik çıkarımlara da sahiptir (Singh vd., 2011).

2007 yılında yapılan bir çalışmada, iki mangrov bitkisi olan *Kandelia candel* ve *Bruguiera gymnorhiza* türlerinin köklerinde ve yapraklarında çoklu ağır metal stresine bağlı olarak, antioksidan enzimlerin ve lipid peroksidasyon aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Kontrol grubu ve ağır metal uygulanmamış bitkiler iki ay sonra hasat edilmiş, ağır metal stresli bitkilerin yapraklarında, SOD ve POX aktiviteleri, kontrole kıyasla farklı stres seviyelerinde dalgalanırken, CAT aktivitesi *K. candel* türünde stres seviyesi artarken, *B. gymnorhiza* türünün yapraklarında değişmeden kalmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında, SOD, CAT ve POX aktivitelerinin, ağır metal stresi altındaki bitkilerin köklerinde yükselme eğilimi gösterdiği ve ardından düşüş göstermediği görülmüştür. Bu yükseliş enzim aktivitelerinde, *K. candel* türünün in ağır metallere karşı *B. gymnorhiza* türünden daha toleranslı olduğunu göstermiştir (Zhang vd., 2007).

Başka bir çalışmada, farklı Cd toleranslarına sahip iki kadmiyum (Cd) stresli baklagil mahsulü üzerinde salisilik asidin (SA) iyileştirici etkilerini incelenmiştir. *Phaseolus aureus* L. (Cd duyarlı) ve *Vicia sativa* L. (Cd toleranslı). 50 µM'de Cd, *P. aureus* ve *V. sativa*'nın kök apoplastlarında hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) üretimini önemli ölçüde arttırmıştır. İki türü

karşılaştırırken, Cd kaynaklı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretiminin olduğunu belirlenmiştir. *P. aureus* kök apoplastlarında *V. sativa* kök apoplastlarından daha belirgin gözlenmiştir. *V. sativa*, kök sementoplastlarında ve apoplastlarında *P. aureus*'tan daha yüksek SOD, CAT ve APX aktivitesi saptanmıştır (Zhang vd., 2011).

Bir diğer çalışmada, farklı seviyelerde kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) (0, 0,5, 1,0 ve 2,0 mM) stresine maruz kalan *Alternanthera bettzickiana* (Regel) G. Nicholson bitkisinin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerini değerlendirmeyi amaçlamıştır. *A. bettzickiana*, Cd ve Pb'yi farklı bitki kısımlarında biriktirebilmiş ve her iki metalin toplam alımı sürgünlerde köklerden daha yüksek olmuştur. Bitki büyümesi, biyokütle ve fotosentetik pigmentler, toprakta 1,0 mM'ye kadar artan metal konsantrasyonları ile artmış ve daha sonra yüksek metal seviyeleri ile azalmıştır. Süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD), katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) aktiviteleri, düşük metal seviyelerinde (0,5 ve 1,0 mM) artarken, daha yüksek metal seviyelerinde (2,0 mM) azalmıştır. Yaprak ve kök elektrolit sızıntısı (EL), malondialdehit (MDA) ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) içerikleri düşük metal seviyelerinde ( $\leq 1,0$  mM) azalırken, yüksek seviyelerde artmıştır. Bu çalışma, *A. bettzickiana* bitkisinin özellikle düşük metal seviyelerinde Cd ve Pb toleransına ve birikimine yönelik potansiyelini açıkça göstermektedir (Tauqeer vd., 2016).

Şili'de yapılan bir çalışmada, (La Serena, Los Tilos, Chillán ve Temuco) farklı tarımsal alanlarda, üç artan Cd oranının uygulandığı topraklarda üç makarnalık buğday çeşidinin olduğu tarla deneyleri yapılmıştır. Sonuçlar, Cd 'nin toprağa uygulanmasının, tesiste verimi veya biyo kütle üretimini etkilemediğini göstermiştir. Tahıl, saman ve köklerde kadmiyum birikimi Cd oranlarının artmasından önemli ölçüde etkilenmiştir. Bitkideki kadmiyum dağılımı tahıllarda düşük, samanlarda ve kökte yüksek bulunmuştur. Değerlendirilen üç çeşitten sadece, "Lleuque-INIA", düşük Cd akümülatörleri olarak tanımlanan uluslararası nitelikteki genotiplerden düşük bir Cd konsantrasyonu sergilemiştir (Hirzel vd., 2017).

Bir diğer çalışmada, ağır metallere maruz kalmanın ardından yeşil alg *Chlorella vulgaris* te antioksidan enzimlerin (katalaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz,

ssüperoksit dismutaz) aktivitesinde konsantrasyona bağlı bir artış ve toplam askorbat ve indirgenmiş glutatyon gözlenmiştir. Düzenleme řu şekilde gözlenmiştir: bakır > kurşun > kadmiyum. Ayrıca ağır metallere muamele edilmiş *C. vulgaris* kültürlerinde brassinolidin enzimatik ve enzimatik olmayan sistemi aktive ettiği bulunmuştur. Brassinolide, bitkinin ağır metallere stresine tepki vermesinde önemli bir rol oynar. Ağır metallere kirlenmiş *Chlorella vulgaris* üzerinde anti-stres etkisi vardır (Bajguz, 2010).

Jasmonik asit (JA), diğerlerinin yanı sıra bitki biriktiren ağır metalin düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir fitohormondur. Bu çalışmada, Hoagland çözeltisinde yoncanın Cu stresine (100 µM) tepkileri üzerinde eksojen JA'nın etkileri araştırılmıştır. Cu ilaveli işleme 1, 5 veya 10 mM JA eklendiğinde, yoncanın kök ve yapraklarındaki Cu konsantrasyonları, JA ilavesiz işleme kıyasla bazı ölçülerde önemli ölçüde azalma göstermiştir. JA ilavesi muamelelerinde yonca kök ve yapraklarının biyokütleleri, Cu stres muamelesine kıyasla önemli ölçüde artış göstermiştir. Benzer şekilde klorofil, antioksidan enzim aktiviteleri, MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonları da buna göre iyileştirilmiştir. Ancak, ortama eklenen konsantrasyonu en yüksek (10 mM) olduğunda, JA'nın bu faktörleri, iyileştirme rollerinin sınırlı olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, yonca üzerinde eksojen JA'nın pozitif rollerinin olduğunu ve Cu birikimini azalttığını ve toksisiteyi oksidatif stresi azaltarak olabileceğini düşündürmektedir (Dai vd., 2020).

Rui ve arkadaşları 2018 yılında yaptığı çalışmada, iki çeşit *Vicia sativa* L. köklerinde Cd'nin büyüme, lipid peroksidasyonu, reaktif oksijen türleri (ROS) birikimi, antioksidan enzimatik aktivite ve lignin içeriği üzerindeki etkilerini incelemiştir. Cd ile muamele, bitki büyümesini azaltmış ve ROT ve lipid peroksidasyon seviyelerini, Cd'ye duyarlı çeşit ZM'de, Cd'ye toleranslı çeşit L3'e göre daha büyük ölçüde arttırmıştır. Cd uygulaması, apoplastta lignin birikimini ve guaiakol peroksidaz (GPOD) aktivitelerini ZM kökünde L3'ten daha önemli ölçüde arttırmıştır. Ancak kök lakkaz aktivitesi L3'te ZM'den daha yüksekti. Böylece Cd toksisitesi *Vicia sativa* L. köklerinde önemli lignifikasyona neden olmuştur.

Başka bir çalışmada, 8 hafta boyunca saksılarda artan kadmiyum (Cd; 0.35 ve 7 mg·kg<sup>-1</sup> kuru toprak) ve bakır (Cu; 3.5 ve 70 mg·kg<sup>-1</sup> kuru toprak) konsantrasyonlarına

maruz bırakılan yonca (*Medicago sativa* L.) bitkileri ağır metal için test edilmiştir. Köklerde ve yapraklarda birikim, büyüme inhibisyonu ve oksidatif stres tepkisine bakılmıştır. Araştırılan parametreler biyometrik ölçümler (kök ve sürgün uzunluğu), malondialdehit birikimi (MDA; lipid peroksidasyon indeksi), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ve azaltılmış glutatyon (GSH) içeriğidir. Cd alımının analizi, köklerin bitkinin toprak üstü kısımlarından neredeyse 40 kat daha fazla Cd biriktirdiğini göstermiştir. Cu, yapraklara göre köklerde sadece 2 ila 6 kat daha yüksek konsantrasyon sergilediği için daha hareketli olmuşlardır. Her iki metal de, özellikle en yüksek dozlarda köklerde belirgin bir MDA birikimi sağlamı ve buna paralel olarak antioksidan enzimler CAT, GR ve SOD'nin aktivitelerinde bir azalma ve ayrıca GSH içeriğinde bir azalma meydana gelmiştir (Sabrine vd., 2013).

Yapılan bir diğer çalışmada, arsenatın kırmızı yonca bitkileri üzerindeki etkileri araştırılmış, bunun üzerine, kırmızı yonca bitkileri farklı konsantrasyonlarda Na<sub>2</sub>HAsO<sub>4</sub> (5, 10 ve 50 mgAs kg<sup>-1</sup> toprak) veya ağır metal karışımı (5 mg Cd, 300 mg Zn ve 10 mgAs kg<sup>-1</sup> toprak) ile değiştirilmiş kumlu bir toprakta bir serada yetiştirilmiştir. Makro ve mikro besinlerin yanı sıra arsenik birikimini de incelenmiş ve yonca sürgünlerinde arsenik katılımının neden olduğu biyokimyasal stres tepkilerini araştırılmıştır. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesindeki artışlar, peroksidaz aktivitesi ile klorofil (chl) ve karotenoid konsantrasyonlarındaki düşüşlerin, bitkilerde artan arsenik içeriği ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar, daha yüksek dozlarda arsenatın yonca sürgünlerinde oksidatif hasar ürettiğini göstermektedir. Zn ve Cd karışımının As ile birlikte uygulanmasının koruyucu rolü tartışılmıştır (Mascher vd., 2002).

Başka bir çalışmada, Yonca (*Medicago sativa* L.) bitkileri saksılarda 8 hafta boyunca artan kadmiyum konsantrasyonlarına (Cd; 0.35 ve 7 mg·kg<sup>-1</sup>) maruz bırakılmıştır. İncelenen parametreler malonedialdehit birikimi (MDA; lipid peroksidasyon indeksi), glutatyon redüktaz aktivitesi (GR) ve azalmıştır. Her iki metal de, özellikle en yüksek dozlarda, köklerde belirgin bir oksidatif hasara neden olmuştur. MDA konsantrasyonu artmış, buna paralel olarak GSH içeriğinde de bir azalma meydana gelmiştir. Cd ve Cu ile muamele edilmiş bitkilerde gözlemlenen farklı stres imzası, ekotoksikolojik araştırmalara uygulanabilecek potansiyel biyobelirteçlere yol açabilir.

Ağır metal olarak kadmiyumun rolünü incelemek amacıyla bir araştırma yapılmış ve *Trifolium resupinatum* L. türünde deki katalaz ve peroksidazın kadmiyum uygulanmasıyla nasıl değiştiği bakılmıştır. Bitkiye 0, 100, 200, 300 ppm olacak şekilde kadmiyum uygulaması yapılmış, bitkiler 10 gün süresince bekletilmiştir. Çalışma üç tekrarlı gerçekleştirilmiştir. Çalışma, katalaz aktivitesinin kadmiyum artışıyla azaldığını göstermiştir. Ayrıca peroksidaz aktivitesi kadmiyum tüketiminin artmasıyla artmıştır. Yüksek kadmiyum konsantrasyonlarında protein azalmıştır. Bulgular ayrıca kadmiyumun köklerdeki konsantrasyonun sürgünlerdekinden daha yüksek olduğunu göstermiştir (Ghasemi vd., 2014).

Başka bir çalışmada, yonca bitkileri, Cd (II), Cu (II) ve Zn (II) (her biri 60 mg/kg) karışımı ile kirlenmiş toprak saksılarda 4.8, 6 ve 7.2 pH'larında yetiştirilmiş, bitkiler, aynı pH'a uygun şekilde ayarlanmış bir besin çözeltisi kullanılarak büyütülmüştür. Kontrol bitkilerinin büyümesi, incelenen üç pH'da aynı olduğu ve ağır mal stresli bitkiler de her pH'da benzer davranış gösterdiği gözlenmiştir. Kontrol arıtma tesislerinin sürgün uzunlukları ile ağır metal karışımı varlığında yetiştirilen bitkilerin boyları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ( $P < 0.01$ ) bulunmuştur. Ağır metal karışımının etkisi altında Kadmiyum, sırasıyla pH 7.2, 4.8 ve 6'da 130, 125 ve 115 ppm ile sürgün dokusunda en fazla biriken element olmuştur. Çinkonun pH 7.2, 4.8 ve 6'da sırasıyla 108 ppm, 102 ppm ve 101 ppm ile birikmiş konsantrasyonlarda ikinci olduğu bulunmuştur; bakırın ise üçüncü olduğu bulunmuştur (Stravinskiene ve Racaite, 2014).

Bir diğer çalışmada; iki yaygın baklagil bitkisinde, insan kaynaklı kirlilikte farklılık gösteren habitatlarda büyüyen beyaz tatlı yonca (*Melilotus albus* Merik.) ve zikzak yoncada (*Trifolium* L.) bakır kaynaklı strese adaptasyonun fizyolojik mekanizmaları incelenmiştir. Bir stres faktörü olan 10 mM CuSO<sub>4</sub>'e yanıt olarak bir antioksidan bitki savunma sistemi aktive edildiği görülmüştür. Test edilen bitki türlerinde bakır ile toprak kontaminasyonuna adaptasyon ile ilgili spesifik biyokimyasal özellikler gözlemlenmiş, süperoksit dismutaz, her iki türde de çeşitli habitatlardan gelen strese yanıt olarak aktive edilmiştir. Etki bölgesinden gelen *M. albus*, daha az kirli habitatlardan gelen bitkilere kıyasla daha iyi prolin birikimi

kapasitesi göstermiştir. Etki bölgesinden *Trifolium* L. bitkisi daha aktif peroksidaz içerdiği bulunmuş, stresli koşullar altında uzun süre büyüyen bitkilerin, stres yaşamayan veya daha hafif strese maruz kalan bitkilere göre bakır iyonlarına karşı daha fazla tolerans gösterdiği öne sürülmüştür (Fazlieva vd., 2012).

2015 yılında yapılmış bir çalışmada, ortamda artan nikel klorür konsantrasyonlarında fiğ fidelerinin (*Vicia sativa* L.) kök ve sürgünlerinde nikel iyonlarının birikimi incelenmiştir. Ortamdaki nikel klorür konsantrasyonu 50 µM'den fazla olduğunda sürgünlerde nikel birikiminin arttığı gösterilmiştir. Deneysel koşullar altında fiğ fideleri için biyokonsantrasyon faktörü ve sürdürülebilirlik indeksi hesaplanmıştır. Ortamda nikel klorür varlığından kaynaklanan oksidatif stresin bazı parametreleri gösterilmiştir. Fiğ fidelerinde ortamdaki düşük nikel konsantrasyonlarında, tohumlardaki yüksek amilaz aktivitesinin çeşitli biyokimyasal parametrelerde (katalaz aktivitesi ve prolin) artışa neden olduğu görülmüştür (Ivanishchev ve Abramova, 2015).

Cıva, tarım arazilerinde toksik metal kirliliğinin başlıca nedenlerinden biri haline gelmiştir. Bitkiler tarafından cıva birikimi birçok hücrel işlevi bozabilir ve büyüme ve gelişmeyi engelleyebilir. Cıva toksisitesini değerlendirmek için yoncanın (*Medicago sativa* L. ) Hg<sub>2+</sub> ile indüklenen oksidatif strese verdiği tepkilere odaklanan bir deney gerçekleştirilmiştir. Yonca bitkileri, 7 gün boyunca 0-40 µM HgCl<sub>2</sub> ile muamele edilmiş, Hg<sub>2+</sub> konsantrasyonları, yapraklarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve oluşumu ile pozitif korelasyon göstermiştir.. Hg stresi altındaki biyokimyasal tepkileri anlamak için çeşitli antioksidan enzimlerin aktiviteleri, süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) denenmiştir. Denatüre edici olmayan poliakrilamid jel elektroforezi ile SOD aktivitesinin analizi, yapraklarda beş izoform ortaya çıkardı, ancak bunlar farklı desenler göstermiştir. Bu sonuçlar, Hg stresi altında artan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seviyelerinin, antioksidan enzimlerin gelişmiş kapasitesi ile yakından bağlantılı olduğunu göstermektedir. Veriler sadece toksik ve tolerans mekanizmalarının daha iyi anlaşılması için önemli bilgiler sağlamakla kalmaz, aynı zamanda Hg ile toprak kontaminasyonu için bir biyo-gösterge olarak kullanılabilir (Zhou vd., 2008).



Bir diğer araştırmada  $Cd^{+2}$ ,  $Cr^{+6}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$ 'nin yonca bitkisi (*Medicago sativa* L.) üzerindeki etkileri incelenmiştir. 0, 5, 10, 20 ve 40 ppm dozları kullanılmıştır. Tohum imlenmesi ve bitki buyumesi, 10 ppm'de  $Cd^{+2}$  ve  $Cr^{+6}$ 'dan ve ayrıca 20 ppm ve daha yuksek konsantrasyonlarda  $Cu^{+2}$  ve  $Ni^{+2}$ 'den önemli ölçüde etkilenmiştir.  $Zn^{+2}$  tohum çimlenmesini etkilememiştir. Bitki kökleri 5 ppm dozunda  $Cd^{+2}$ , 5 ve 10 ppm dozunda  $Cr^{+6}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$ 'ye maruz bırakılmıştır. Bu arada 5 ppm  $Cr^{+6}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  dozu sürgün boyutunu sırasıyla %13,0, %59,0, %35,0 ve %6,6 oranında artırmıştır.  $Zn^{+2}$  sadece 20 ve 40 ppm dozlarında sürgün byumesini teşvik etmiştir (Aydınalp ve Marinova, 2009).

Bir diğer çalışmada, metalle kirlenmiş toprakta otlak avdar (*Lolium perenne* L.) ve baklagil yem yoncasının (*Medicago sativa* L.) byumesi üzerine ara ürün uygulamasının etkisini araştırmak için saksı deneyi yapılmıştır. Sonuçlar, ara kırpmanın, ağır metallerin bitki byumesine olan inhibisyonunu hafiflettiğini ve sürgünlerde ve köklerde azot ve klorofil içeriğini arttırdığını göstermişti. Ayrıca, ara mahsulde avdar ve yoncanın sürgün ve köklerindeki Pb konsantrasyonları, monokltrdekinden önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Ek olarak, ara ekim işlemi oksidatif hasarı azaltabilir ve kirlenmiş topraktaki bitkilerin direncini artırmak için enzimatik antioksidan aktivitelerini artırabilir. Ara kırpma işlemi, bitki oksidatif hasarını azaltarak ve antioksidan aktiviteyi artırarak bitkilerin ağır metallere karşı direncini artırabilir. Bu alışma, avdar ve yoncanın birlikte ekilmesinin biyokütleyi artırabileceği ve yem bitkilerinde Pb emilimini azaltabileceğini göstermiştir (Cui vd., 2018).

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bitkisel materyal

Araştırmamızda bitkisel materyal olarak *Medicago sativa* (Yonca) ve *Vicia sativa* (Fiğ) bitki türlerinin tohumdan yetiştirilen altı haftalık fideleri kullanılmıştır. Her iki türe ait olan sertifikalı tohumlar Ceylan Tarım Ltd. Şti. firmasından temin edilmiştir.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Deneme bitkilerinin yetiştirilmesi

Yonca bitkisine ait tohumlar öncelikle 3 saat steril saf suda bekletilmiştir. Daha sonra otoklavda steril edilmiş 3 kısım torf ile 1 kısım perlit karışımı (3:1) içeren 7x10 cm'lik tekli viyollere her bir viyolde 10 tohum, her bir uygulama grubunda 5 viyol olacak şekilde ekimleri tohum ekimleri yapılmıştır. Kontrol grubu için 5 viyole ekim yapılmıştır. Sulama iki günde bir her bir viyole 150 mL steril saf su olacak şekilde yapılmıştır. Tüm deneme grupları 3 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur.

Fiğ bitkisine ait tohumlar öncelikle 3 saat steril saf suda bekletilmiştir. Daha sonra otoklavda steril edilmiş 3 kısım torf ile 1 kısım perlit karışımı (3:1) içeren 7x10 cm'lik tekli viyollere her bir viyolde 10 tohum, her bir uygulama grubunda 10 viyol olacak şekilde ekimleri tohum ekimleri yapılmıştır. Kontrol grubu için 5 viyole ekim yapılmıştır. Sulama iki günde bir her bir viyole 150 mL steril saf su olacak şekilde yapılmıştır. Tüm deneme grupları 3 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur (Şekil 1, Şekil 2).



Şekil 1. Altı haftalık yonca bitkileri



Şekil 2. Altı haftalık fiğ bitkileri

### 3.2.2. Deneme serilerinin hazırlanması

Ağır metallerin uygun konsantrasyonlarının belirlenebilmesi için yonca ve fiğ bitkilerine ait tohumlar ikişer viyole ekilerek denemelerde kullanılması planlanan konsantrasyonların ve bunların etki sürelerinin belirlenmesi sağlanmıştır. Bu sayede farklı konsantrasyonlarda ağır metal uygulaması sonucunda, bitkilerin ne kadar süre dayanabildikleri (1-5 gün skalası) morfolojik olarak incelenerek hasat için uygun sürenin belirlenmesi sağlanmıştır.

Ağır metal konsantrasyonları ön denemelerde çıkan sonuçlara göre belirlendikten sonra yonca ve fiğ bitkilerinin kurşun (50, 100, 150 ppm) uygulama grupları için 40'ar viyol, bakır (25, 50, 100 ppm) uygulama grupları için 40'ar viyol, kadmiyum (20, 30, 40 ppm) uygulama grupları için 40'ar viyol ve kontrol grupları için 10'ar viyol olmak üzere toplamda 140 viyole ekim yapılmıştır. Bitkilerin çimlendirme ve geliştirme işlemleri bölümümüzde bulunan, 16 saat ışık ve 8 saat karanlık uzun gün koşulları,  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  ve 28.000 lüks ışık şiddetinde, bitki yetiştirme odasında gerçekleştirilmiştir. Tüm deneme grupları 3 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur.

### 3.2.3. Ağır metal stok solüsyonlarının hazırlanması

Kurşun (50, 100, 150 ppm), bakır (25, 50, 100 ppm), kadmiyum (20, 30, 40 ppm) ağır metallerinin stok çözeltilerinden farklı uygulama konsantrasyonları hazırlanmıştır. Kurşun nitrat  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  çözeltisi için 1000ppm'lik (1000mg/L) stok çözelti hazırlanmıştır. 50, 100 ve 150 ppm'lik üç farklı çözelti 1000'er ml olacak şekilde saf su ile seyreltilmiştir.

Bakır nitrat  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  çözeltisi için 1000 ppm'lik (1000mg/L) stok çözelti hazırlanmıştır. 25, 50 ve 100 ppm'lik üç farklı çözelti 1000'er ml olacak şekilde saf su ile seyreltilmiştir.

Kadmiyum nitrat ( $\text{CdNO}_3$ )<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O çözeltisi için 1000 ppm'lik (1000mg/L) stok çözelti hazırlanmıştır. 20, 30 ve 40 ppm'lik üç farklı çözelti 10000'er ml olacak şekilde saf su ile seyreltilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Ağır Metal Stok Solüsyonları

### 3.2.4. Ağır metallerin bitkilere uygulanması

Saksıda tohumdan yetiştirilmiş olan 6 haftalık yonca ve fiğ bitkilerine kurşun (50, 100, 150 ppm) bakır (25, 50, 100 ppm), kadmiyum (20, 30, 40 ppm) ağır metalleri sulama yolu ile her bir viyole 150 mL olacak şekilde eşit miktarlarda verilmiştir. Uygulamalar sabah saatlerinde bir defa olarak gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.5. Ağır metal analizi için bitkilerin hasadı ve hazırlanması

Ağır metal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra bitkilerin toprak üstü kısımları ve kök hasatları yapılarak bu kısımlarda element analizleri (Pb, Cd, Cu) yapılması için, ayrıca yetiştirildikleri toprakların analizleri de yine ICP-OES yöntemi ile belirlenmesi için her bir grup için (84+84 adet) 0.5 g elenmiş toprak numunesi ve oda sıcaklığında kurutulmuş 0,5 g bitki numunesi ile 0.5 g kök numunesi kilitli naylon poşetler içerisinde Burdur Mehmet

Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarına gönderilerek hizmet alımı şeklinde analizleri yaptırılmıştır (Şekil 4 - Şekil 9).



Şekil 4. Yonca Bitkisi Toprak Üstü Analiz Örnekleri



Şekil 5. Yonca Bitkisi Kök Analiz Örnekleri



Şekil 6. Yonca Bitkisi Toprak Analiz Örnekleri



Şekil 7. Fiğ Bitkisi Toprak üstü Analiz Örnekleri



Şekil 8. Fiğ Bitkisi Kök Analiz örnekleri



Şekil 9. Fiğ Bitkisi Toprak Analiz Örnekleri



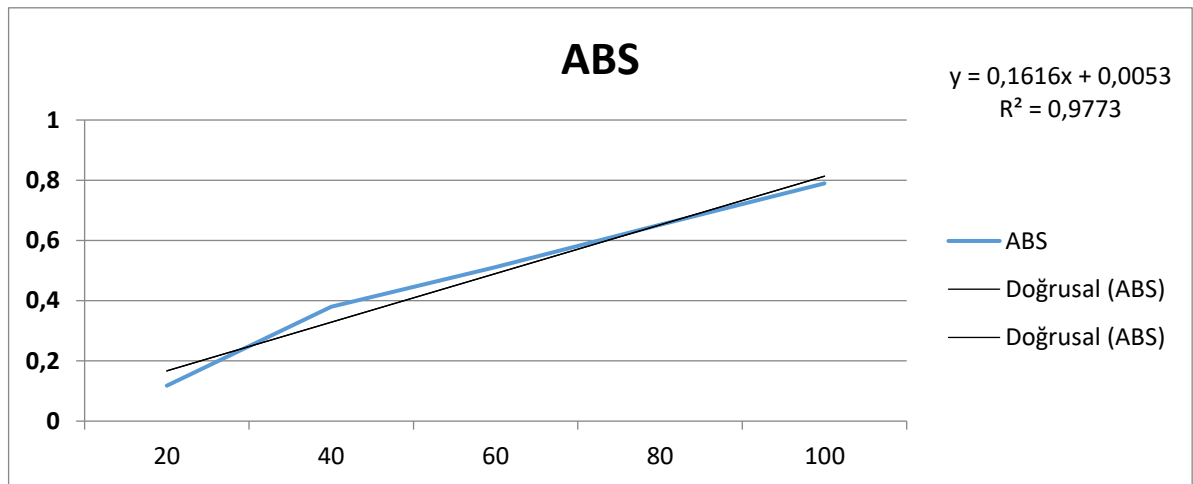
### 3.2.6. Fizyolojik parametrelerin belirlenmesi için bitkilerin hasadı ve hazırlanması

Altı haftalık yonca ve fiğ bitkilerine ağır metal uygulamalarından 24- 48- 72 saat sonra bitkilerin toprak üstü kısımlarının hasatları yapılarak standart homojenizasyon yöntemi kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının yonca ve fiğ bitkilerinin fizyolojik parametrelerini antioksidan enzim kapasitesini [toplam protein, POX (peroksidaz), CAT (katalaz), SOD (süper oksitdismutaz)] ne ölçüde değiştirdiği belirlenmiştir.

### 3.2.7. Bitki örneklerinde fizyolojik parametrelerin belirlenmesi

#### Toplam protein miktarı tayini

Toplam protein miktarı tayini için protein standartları hazırlanmış, bu amaçla Bovine Serum Albumin (BSA) stok solüsyonu kullanılmıştır. 2 mg/mL' lik stok ampul BSA'den standart prosedür kapsamında referans eğrisi oluşturulmuştur. Daha sonra Brilliant Blue G-250 yöntemi ile spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda ölçümler gerçekleştirilmiştir. Bitki homojenatlarından toplam protein analizleri Bradford (1976)'un yöntemine uygun olarak yapılmıştır. Tüm analizler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. BSA Standart Grafiği (mg/ml)

### **Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) aktivitesinin belirlenmesi**

Peroksidaz aktivitesinin spektrofotometrik ölçümlerinde Kanner ve Kinsella (1983)'nin metodu kullanılmıştır. Reaksiyon karışımında sodyum asetat tamponu, pyrogallol ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kullanılmıştır. Ölçümler quartz küvet içerisinde 300nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Kinetik reaksiyon yöntemine uygun olarak 2 dakika boyunca reaksiyon takibi yapılmıştır. Bu süreç içerisinde her on saniyede bir kere absorbans ölçümleri alınmıştır. En büyük farkı gösteren absorbans aralığı belirlenerek her bir örnekteki protein miktarına göre çevrim gerçekleştirilmiştir. Tüm analizler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) aktivitesinin belirlenmesi**

Enzim ünitesi dakikada tüketilen  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  miktarı 240 nm'de spektrofotometrik ölçüm ile belirlenmiştir. Enzim aktivitesi, enzim ünitesi mg protein-1 g olarak belirtilmiştir (Bergmeyer,1970). Tüm analizler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### **Süperoksit Dismutaz (SOD; EC1.15.1.1) aktivitesinin belirlenmesi**

50 mM Na-P tamponu (pH 7,8), 1 mM NBT, 0,2 mM Riboflavin, 0,1 M LMetiyonin, 0,01 M EDTA.Na<sub>2</sub> içeren reaksiyon karışımı 300  $\mu\text{mol/m}^2$  ışık şiddetinde 10 dk bekletildikten sonra örnekler spektrofotometrede 560 nm' de okunmuştur. NBT' nin yüzde 50 inhibisyonu 1 ünite SOD enzim miktarı olarak hesaplanmıştır (Beauchamp ve Fridovich, 1971; Giannipolities ve Ries, 1977). Tüm analizler üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.8. Bitki ve toprak örneklerinde ağır metal analizleri

Yonca ve Fiğ bitki örneklerinde bulunan ağır metallerin belirlenmesi için nitrik asit: hidrojen peroksit ( $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}$ ) karışımında  $110\text{ }^\circ\text{C}$  (15 dakikada  $110\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye çıkıyor) ve  $110\text{ }^\circ\text{C}$  (15 dakikada  $180\text{ }^\circ\text{C}$ 'de kalıyor) mikrodalga fırınında yakılmıştır. Daha sonra ise ICP-OES cihazında analizler gerçekleştirilmiştir. Bitkilerin numune hazırlığı: 0,25 g bitki örneği + 9 mL 10 M  $\text{HNO}_3$  + 3 mL 10 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Yonca ve Fiğ bitkilerinin yetiştirilmiş olduğu topraklardaki ağır metallerin belirlenmesi için 0,25 g toprak örneği+5 mL %65  $\text{HNO}_3$ +3 mL %40 HF ile ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.  $110\text{ }^\circ\text{C}$  (15 dakikada  $110\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye çıkıyor) ve  $110\text{ }^\circ\text{C}$  (15 dakikada  $180\text{ }^\circ\text{C}$ 'de kalıyor) mikrodalga fırınında yakılmıştır. Daha sonra ise ICP-OES cihazıyla analizler gerçekleştirilmiştir.

Pb elementi 220,3 dalgaboyunda LOD (ppb) 5,

Cd elementi 226,5 dalga boyunda LOD (ppb) 2,5

Cu elementi 324,7 dalgaboyunda LOD (ppb) 2,5 olarak okunmuştur.

### 3.2.9. İstatistiki Değerlendirme

Bu tez çalışmasında elde edilen verilerde tesadüfi parseller deneme desenine göre IBM SPSS 21 istatistik paket programında tek yömlü varyans analizi ONE-WAY ANOVA yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiki anlamda önemlilikleri Tukey testi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ortalama=standart hataları içerecek şekilde grafiklerde gösterilmiştir.

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

### ARAŞTIRMA BULGULARI

Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının yonca ve fiğ bitkilerinin fizyolojik parametrelerini antioksidan enzim kapasitesini [toplam protein, POX (peroksidaz), CAT (katalaz), SOD (süper oksitdismutaz)] ne ölçüde değiştirdiği belirlenmiştir. Her iki bitkinin fitoremediasyon kapasitelerinin belirlenebilmesi ağır metal analizleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 11).

Kodlar	Uygulama Dozları ve Süreleri	Kodlar	Uygulama Dozları ve Süreleri
Y1 -F1	Kurşun 50 ppm 24 saat	Y14-F14	Kadmiyum 30 ppm 48 saat
Y2 -F2	Kurşun 50 ppm 48 saat	Y15 -F15	Kadmiyum 30 ppm 72 saat
Y3 -F3	Kurşun 50 ppm 72 saat	Y16-F16	Kadmiyum 40 ppm 24 saat
Y4 -F4	Kurşun 100 ppm 24 saat	Y17-F17	Kadmiyum 40 ppm 48 saat
Y5 -F5	Kurşun 100 ppm 48 saat	Y18-F18	Kadmiyum 40 ppm 72 saat
Y6 -F6	Kurşun 100 ppm 72 saat	Y19-F19	Bakır 25 ppm 24 saat
Y7 -F7	Kurşun 150 ppm 24 saat	Y20-F20	Bakır 25 ppm 48 saat
Y8 -F8	Kurşun 150 ppm 48 saat	Y21-F21	Bakır 25 ppm 72 saat
Y9 -F9	Kurşun 150 ppm 72 saat	Y22-F22	Bakır 50 ppm 24 saat
YK -FK	Kontrol	Y23-F23	Bakır 50 ppm 48 saat
Y10 -F10	Kadmiyum 20 ppm 24 saat	Y24-F24	Bakır 50 ppm 72 saat
Y11-F11	Kadmiyum 20 ppm 48 saat	Y25-F25	Bakır 100 ppm 24 saat
Y12 -F12	Kadmiyum 20 ppm 72 saat	Y26-F26	Bakır 100 ppm 48 saat
Y13 -F13	Kadmiyum 30 ppm 24 saat	Y27-F27	Bakır 100 ppm 72 saat

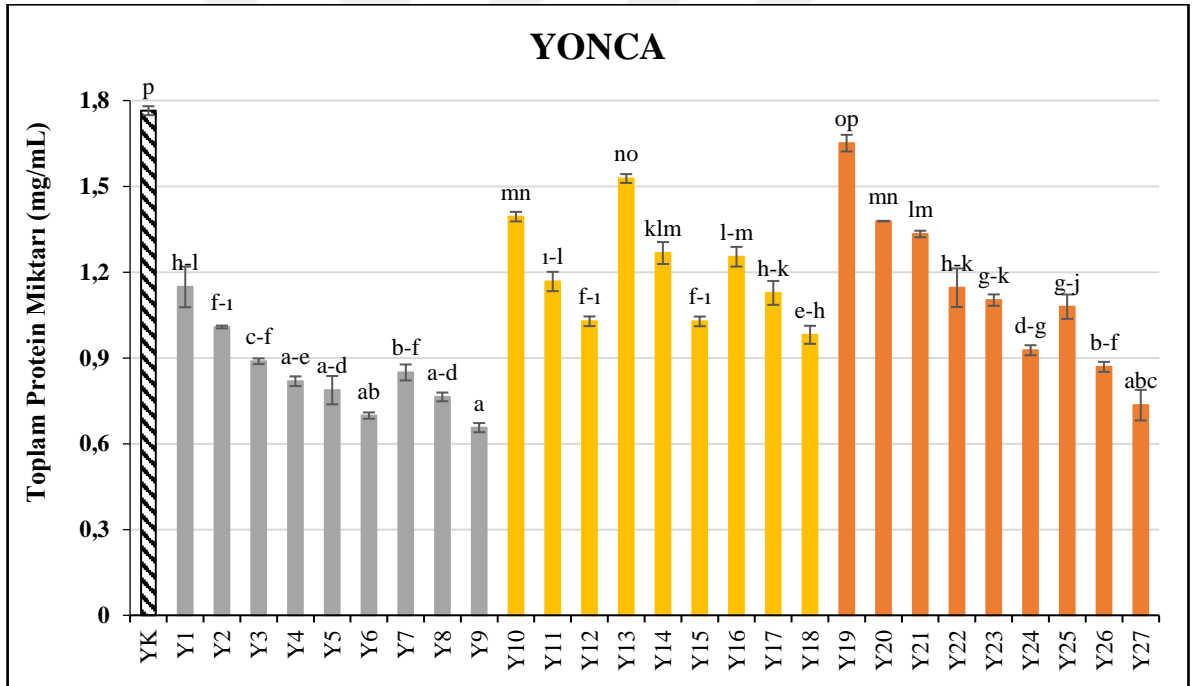
Şekil 11. Yonca ve Fiğ Bitkisinde Kod Detayları

#### 4.1. Bitkilerde toplam protein bulguları

Her iki bitki türünde de ağır metal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra fizyolojik parametrelerin belirlenmesi için gerekli spektrofotometrik analizler gerçekleştirilmiştir. Yonca ve Fiğ bitkilerine yapılan kurşun, kadmiyum ve bakır uygulamalarında ağır metallerin üç farklı konsantrasyonu uygulanarak uygulamalardan 24, 48 ve 72 saat sonra bitki hasatları yapılarak toplam protein analizi gerçekleştirilmiştir.

#### 4.1.1. Yonca bitkisine ait toplam protein bulguları

Yonca bitkisinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (YK) toplam proteindeki en fazla düşüşün 72. saat sonunda %62,81'lik düşüşle kurşun uygulamasının en yüksek dozu olan 150 ppm dozunda görülmüştür. Onu takiben diğer yüksek düşüş ise kurşun uygulamasının orta dozu olan 100 ppm dozunda görülmüştür. Genel tabloya baktığımız zaman tüm ağır metal uygulama dozlarının toplam protein miktarını düşürdüğü görülmektedir. Şekildeki harf farklılıkları grupların birbiri arasındaki istatistik olarak farklılık olduğunu göstermektedir (Şekil 12). Yonca bitkisinde protein miktarında doza ve zamana bağlı olarak değişen yüzdeler oranların detaylı sayısal verileri Tablo 1'de gösterilmiştir.



Şekil 12. Yonca bitkisinde toplam protein miktarında doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler

Tablo 1

Yonca bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole göre yüzelik değişimler (protein).

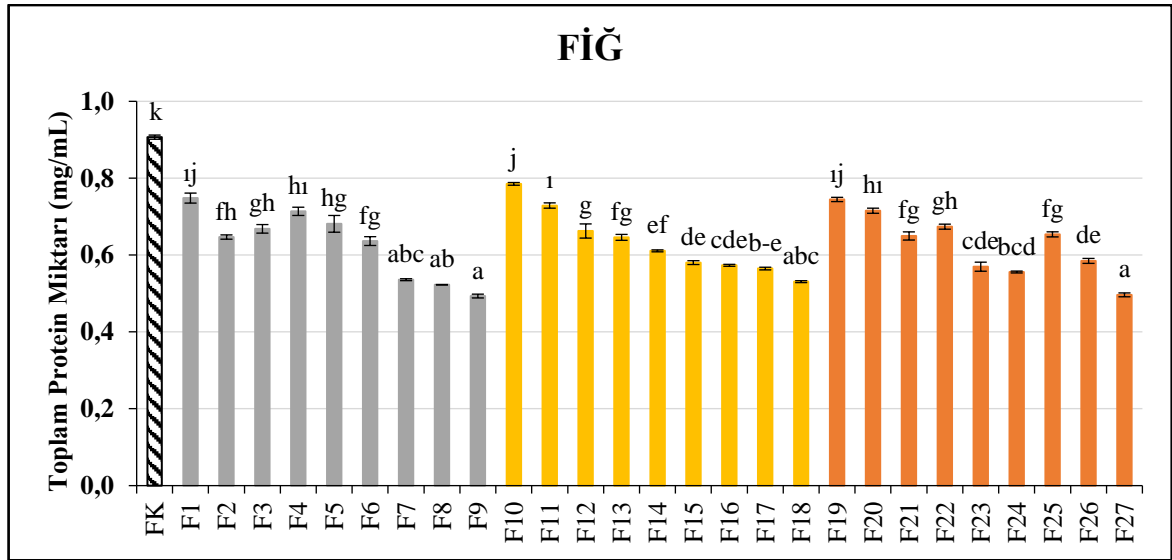
<b>Pb</b>	-34,9233	-42,8656	-49,6576	-53,6132	-55,387	-60,425	-51,8734	-56,7244	-62,8137
<b>Cd</b>	-20,9965	-33,8522	-41,7322	-13,4423	-28,2078	-41,7577	-28,9445	-36,1077	-44,4156
<b>Cu</b>	-6,43211	-21,889	-24,4364	-35,0848	-37,5414	-47,4758	-38,8449	-50,7627	-58,3566

\* Kontrolle göre yüzelik değişimler. Kontrolle kıyasla değişim tablosu kontrol grubuna (FK ve YK) göre olan % (yüzde) değişimleri göstermektedir.

\*\*Renk sıkalasındaki renklerin anlamı: Kırmızı; En Çok Azalan, Yeşil; En Çok Artan Değeri İfade Eder

#### 4.1.2. Fiğ bitkisine ait toplam protein bulguları

Fiğ bitkisinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (FK) toplam proteindeki en fazla düşüşün 72. saat sonunda %45,59 olarak kurşun uygulamasının en yüksek dozu olan 150 ppm dozunda meydana geldiği belirlenmiştir. Diğer yüksek düşüş ise 72. saat sonunda bakır uygulamasının en yüksek dozu olan 100 ppm dozunda görülmüştür. Genel tabloya baktığımız zaman tüm ağır metal uygulama dozlarının toplam protein miktarını düşürdüğü görülmektedir. Şekildeki harf farklılıkları grupların birbiri arasındaki istatistiki olarak farklılık olduğunu göstermektedir (Şekil 13). Fiğ bitkisinde protein miktarında doza ve zamana bağlı olarak değişen yüzelik oranların detaylı sayısal verileri Tablo 2 de gösterilmiştir.



Şekil 13. Fiğ bitkisinde toplam protein miktarında doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler

Tablo 2

Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole göre yüzdelik değişimler (protein).

<b>Pb</b>	-17,4784	-28,6712	-26,3113	-21,2884	-24,8723	-29,8236	-40,9116	-42,3452	-45,5982
<b>Cd</b>	-13,4093	-19,6232	-26,9344	-28,7594	-32,6411	-36,0044	-36,7763	-37,7137	-41,463
<b>Cu</b>	-17,8809	-21,1119	-28,3569	-25,6883	-37,1733	-38,7061	-27,9048	-35,5137	-45,2674

\* Kontrole göre yüzdelik değişimler. Kontrole kıyasla değişim tablosu kontrol grubuna (FK ve YK) göre olan % (yüzde) değişimleri göstermektedir.

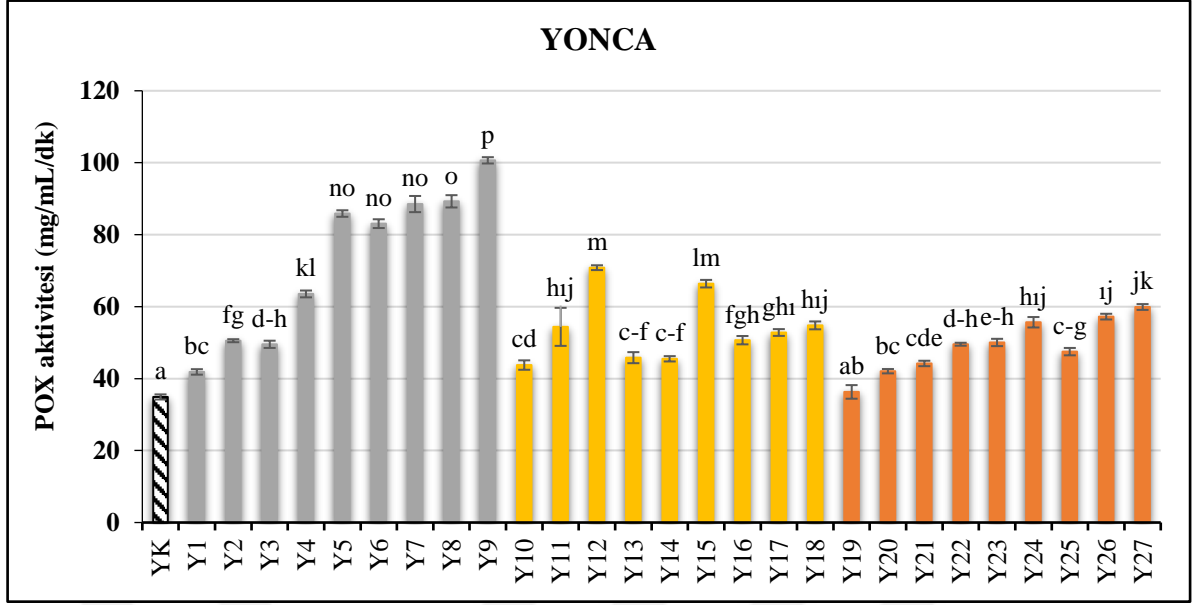
\*\*Renk sıkalasındaki renklerin anlamı: Kırmızı;En Çok Azalan, Yeşil; En Çok Artan Değeri İfade Eder

## 4.2. Bitkilerde peroksidaz aktivitesi bulguları (POX; EC 1.11.1.7)

Her iki bitki türünde de ağır metal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra fizyolojik parametrelerin belirlenmesi için gerekli spektrofotometrik analizler gerçekleştirilmiştir. Yonca ve Fiğ bitkilerine yapılan kurşun, kadmiyum ve bakır uygulamalarında ağır metallerin üç farklı konsantrasyonu uygulanarak uygulamalardan 24, 48 ve 72 saat sonra bitki hasatları yapılarak peroksidaz aktivitesi gerçekleştirilmiştir.

### 4.2.1. Yonca bitkisine ait peroksidaz aktivitesi bulguları

Yonca bitkisinde ağır metal uygulamalarının peroksidaz enzim aktivitesindeki değişimleri değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre POX aktivitesindeki en büyük artış kurşunun en yüksek dozu olan 150 ppm uygulamasından 72 saat sonra %188,39 olarak meydana gelmiştir. POX aktivitesindeki en az artış ise kurşunun en düşük dozu olan 50 ppm uygulamasından 24 saat sonra %19,92 olarak meydana gelmiştir. Tüm ağır metal uygulama gruplarına baktığımızda POX aktivitesinde artış olduğu görülmektedir. Araştırma sonuçlarımıza göre uyguladığımız tüm ağır metallerin bitki savunma sistemini uyarabileceği ve bu bitkinin uygulanan tüm ağır metalleri bir tehdit sinyali olarak algılaması nedeniyle POX aktivitelerini arttırdığı görülmüştür. Şekildeki harf farklılıkları grupların birbiri arasındaki istatistiksel farklılık olduğunu göstermektedir (Şekil 14). Yonca bitkisinde POX miktarında doza ve zamana bağlı olarak değişen yüzdelik oranların detaylı sayısal verileri Tablo 3'de gösterilmiştir.



Şekil 14. Yonca bitkisinde peroksidaz (POX) aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler

Tablo 3

Yonca bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole göre yüzdelik değişimler (POX).

<b>Pb</b>	19,92049	44,77743	41,91289	82,03125	146,0405	137,9933	153,5919	155,7686	188,3966
<b>Cd</b>	25,38612	55,81669	102,9342	31,27945	30,37503	90,192	45,20301	51,31171	56,98015
<b>Cu</b>	4,007461	20,49758	26,65481	41,96817	43,37776	59,47153	36,07907	63,94893	71,6193

\* Kontrole göre yüzdelik değişimler. Kontrole kıyasla değişim tablosu kontrol grubuna (FK ve YK) göre olan % (yüzde) değişimleri göstermektedir.

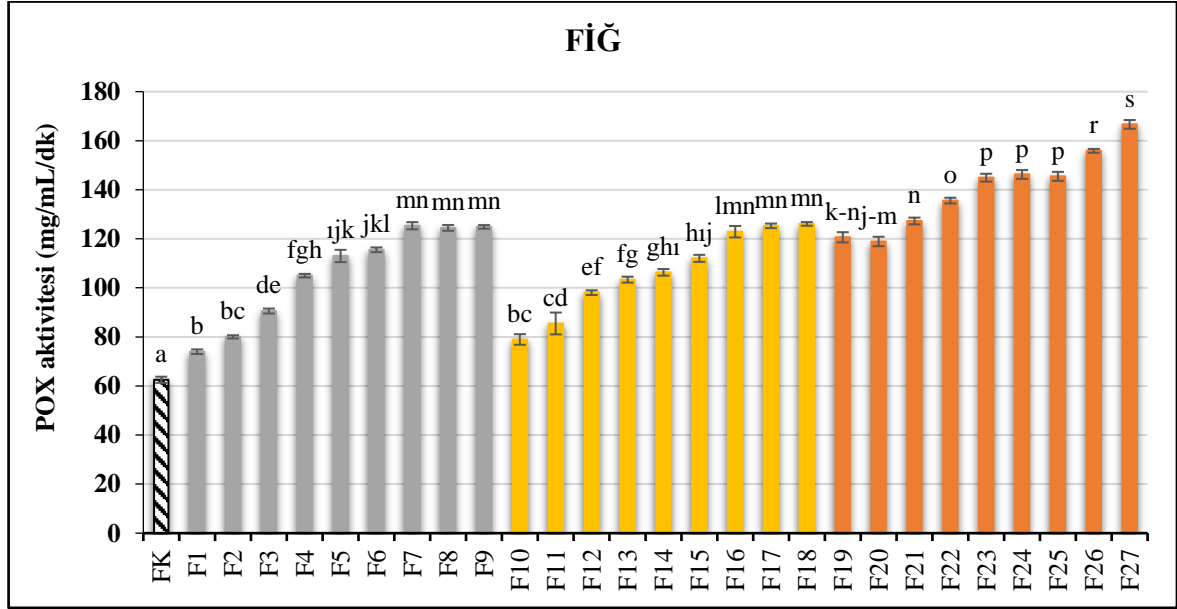
\*\*Renk sıkalasındaki renklerin anlamı: Kırmızı; En Çok Azalan, Yeşil; En Çok Artan Değeri İfade Eder

#### 4.2.2. Fiğ bitkisine ait peroksidaz aktivitesi bulguları

Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamalarının kontrol grubuna göre peroksidaz enzim aktivitesindeki değişimlerine baktığımızda POX aktivitesindeki en büyük artışın bakırın en yüksek dozu olan 100 ppm uygulamasından 72 saat sonra %166,47 olarak meydana geldiği belirlenmiştir. POX aktivitesindeki en az artış ise kurşunun 50 ppm uygulamasından 24 saat sonra %18,29 olarak meydana gelmiştir. Tüm ağır metal uygulama gruplarına baktığımızda POX aktivitesinde artış olduğu görülmektedir. Araştırma sonuçlarımıza göre uyguladığımız tüm ağır metallerin bitki savunma sistemini uyarabileceği ve bu bitkinin uygulanan tüm ağır metalleri bir tehdit sinyali olarak algılaması nedeniyle POX aktivitelerini arttırdığı



görülmüştür. Şekildeki harf farklılıkları grupların birbiri arasındaki istatistiksel olarak farklılık olduğunu göstermektedir (Şekil 15). Fiğ bitkisinde POX miktarında doza ve zamana bağlı olarak değişen yüzdelik oranların detaylı sayısal verileri Tablo 4’te gösterilmiştir.



Şekil 15. Fiğ bitkisinde peroksidaz (POX) aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler

Tablo 4

Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole göre yüzdelik değişimler (POX).

<b>Pb</b>	18,2978	27,96267	44,80401	67,85379	80,68564	84,72658	100,4064	98,99629	99,66009
<b>Cd</b>	26,26524	36,70059	56,77976	65,25642	70,02762	79,14646	96,50753	100,3398	101,5924
<b>Cu</b>	92,8616	90,13545	103,4996	116,807	131,7355	133,8644	132,6123	149,2253	166,477

\* Kontrole göre yüzdelik değişimler. Kontrole kıyasla değişim tablosu kontrol grubuna (FK ve YK) göre olan % (yüzde) değişimleri göstermektedir.

\*\*Renk sıkalasındaki renklerin anlamı: Kırmızı; En Çok Azalan, Yeşil; En Çok Artan Değeri İfade Eder

### 4.3. Bitkilerde CAT aktivitesi bulguları (CAT; EC 1.11.1.6)

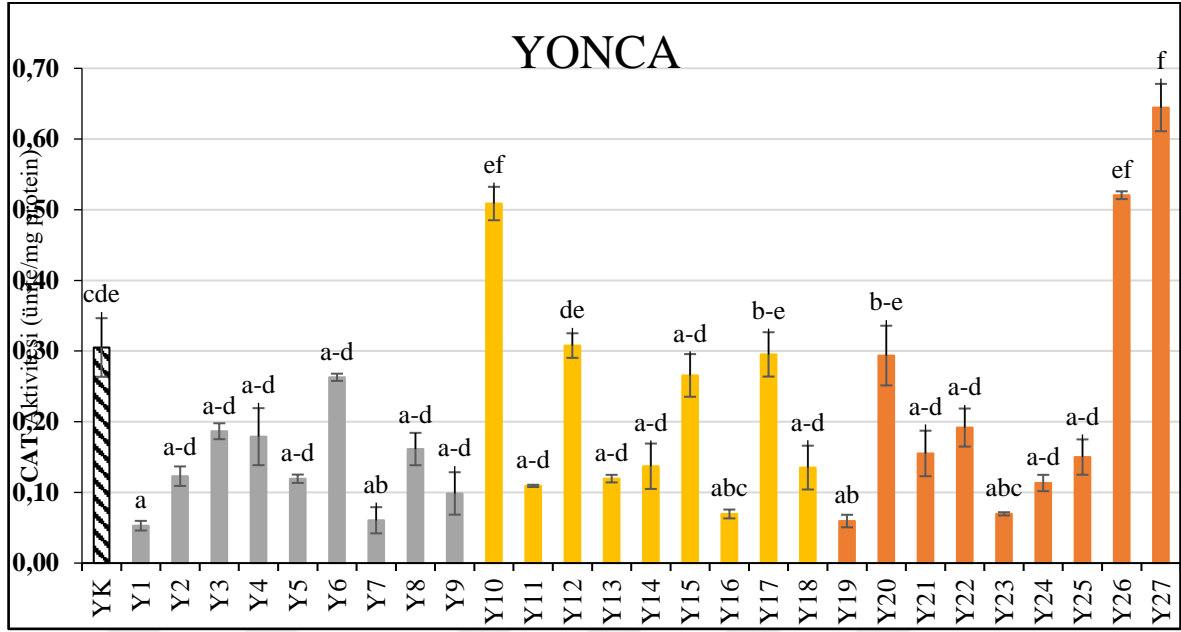
Her iki bitki türünde de ağır metal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra fizyolojik parametrelerin belirlenmesi için gerekli spektrofotometrik analizler gerçekleştirilmiştir. Yonca ve Fiğ bitkilerine yapılan kurşun, kadmiyum ve bakır uygulamalarında ağır metallerin üç farklı konsantrasyonu uygulanarak uygulamalardan 24, 48 ve 72 saat sonra bitki hasatları yapılarak katalaz aktivitesi gerçekleştirilmiştir.

#### 4.3.1. Yonca bitkisinde CAT aktivitesi bulguları

Pb uygulaması sonucunda artan süreye ve artan konsantrasyona bağlı olarak tüm dozlarda CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre azalmalar meydana gelmiştir. En fazla düşüş kurşunun ilk dozu olan 50 ppm uygulamasından 24 saat sonra Y1 grubunda %82,66 olarak meydana gelmiştir.

Cd uygulaması sonucunda artan süreye ve artan konsantrasyonuna bağlı olarak kısa süreli bir tepki oluşmuş ve kadmiyum başlangıç dozu olan 20 ppm uygulamasından 24 saat sonra bir %64,52'lik bir artış görülmüştür. Genel olarak CAT aktivitesinde bir azalma gözlenmiştir. En fazla azalma Y16 grubunda (40 ppm/24 saat) %77,42 olarak belirlenmiştir.

Cu uygulaması sonucunda en yüksek doz olan Y26 ve Y27 gruplarında kontrol grubuna oranla CAT miktarının sırası ile %70,65 ve %111,30 oranında artmış olduğu gözlenmektedir. Cu uygulaması yapılan diğer tüm dozlarda düşüş gözlemlenmiştir. Şekildeki harf farklılıkları grupların birbiri arasındaki istatistiksel farklılık olduğunu göstermektedir (Şekil 16). Yonca bitkisinde CAT miktarında doza ve zamana bağlı olarak değişen yüzdelik oranların detaylı sayısal verileri Tablo 5'te gösterilmiştir.



Şekil 16. Yonca bitkisinde CAT aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler

Tablo 5

Yonca bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole göre yüzdelik değişimler (CAT).

<b>Pb</b>	-82,6656	-59,6987	-38,8395	-41,3489	-60,8816	-13,8155	-80,1453	-47,0991	-67,7015
<b>Cd</b>	66,77392	-64,1871	0,900213	-60,8257	-55,0794	-12,9554	-77,2134	-3,20477	-55,7098
<b>Cu</b>	-80,4974	-3,74915	-49,1545	-37,1341	-77,158	-62,8572	-50,8212	70,65055	111,305

\* Kontrolle göre yüzdelik değişimler. Kontrolle kıyasla değişim tablosu kontrol grubuna (FK ve YK) göre olan % (yüzde) değişimleri göstermektedir.

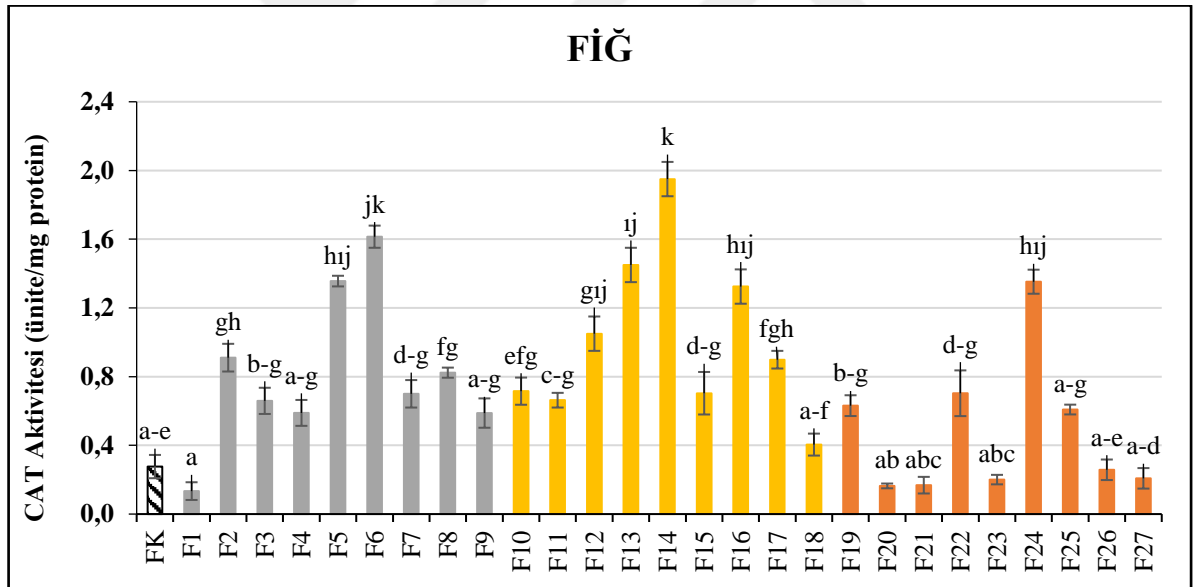
\*\*Renk sıkalasındaki renklerin anlamı: Kırmızı;En Çok Azalan, Yeşil; En Çok Artan Değeri İfade Eder

#### 4.3.2. Fiğ bitkisinde CAT aktivitesi bulguları

Pb uygulaması sonucunda artan süreye ve artan konsantrasyona bağlı olarak CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre artışlar gözlenmiştir. Pb ilk dozu olan 50 ppm uygulamasından 24 saat sonra katalaz aktivitesinde düşme görülmüş, sonrasında diğer tüm dozlarda yükseliş gözlenmiştir. Katalaz aktivitesinde en fazla artışın 100 ppm Pb uygulaması neticesinde F6 grubunda kontrole göre %475 oranında olduğu belirlenmiştir.

Cd uygulaması sonucunda artan süreye ve artan konsantrasyonuna bağlı olarak genellikle kontrol grubuna göre CAT aktivitesinde artışlar gözlenmiştir. Katalaz aktivitesinde en fazla artışın 30 ppm Cd uygulaması neticesinde F14 grubunda kontrole göre %596,42 oranında olduğu belirlenmiştir.

Cu uygulaması sonucunda artan süreye ve artan Cu konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol grubuna göre bazı gruplarda (F20, F21, F23, F26, F27) CAT aktivitesinde düşüşler meydana geldiği belirlenmiştir. Katalaz aktivitesinde en fazla artışın 30 ppm Cd uygulaması neticesinde F14 grubunda kontrole göre %605,31 oranında olduğu belirlenmiştir. Şekildeki harf farklılıkları grupların birbiri arasındaki istatistiksel olarak farklılık olduğunu göstermektedir (Şekil 17). Fiğ bitkisinde CAT miktarında doza ve zamana bağlı olarak değişen yüzdelik oranların detaylı sayısal verileri Tablo 6’da gösterilmiştir.



Şekil 17. Fiğ bitkisinde CAT aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler

Tablo 6

Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole göre yüzdelik değişimler (CAT).

<b>Pb</b>	-51,6659	229,2894	138,3556	113,0102	390,5226	483,9883	153,1899	197,7242	112,6209
<b>Cd</b>	158,7738	139,7311	279,7849	424,4649	605,3148	154,4246	379,012	225,0378	46,25363
<b>Cu</b>	128,2836	-40,7306	-39,1571	154,3763	-27,4448	389,2129	120,0857	-6,78027	-24,7832

\* Kontrole göre yüzdelik değişimler. Kontrole kıyasla değişim tablosu kontrol grubuna (FK ve YK) göre olan % (yüzde) değişimleri göstermektedir.

\*\*Renk sıkalasındaki renklerin anlamı: Kırmızı;En Çok Azalan, Yeşil; En Çok Artan Değeri İfade Eder

#### 4.4. Bitkilerde SOD aktivitesi bulguları (SOD; EC 1.15.1.1)

Her iki bitki türünde de ağır metal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra fizyolojik parametrelerin belirlenmesi için gerekli spektrofotometrik analizler gerçekleştirilmiştir. Yonca ve Fiğ bitkilerine yapılan kurşun, kadmiyum ve bakır uygulamalarında ağır metallerin üç farklı konsantrasyonu uygulanarak uygulamalardan 24, 48 ve 72 saat sonra bitki hasatları yapılarak süperoksit dismutaz aktivitesi gerçekleştirilmiştir.

##### 4.4.1. Yonca bitkisinde SOD aktivitesi bulguları

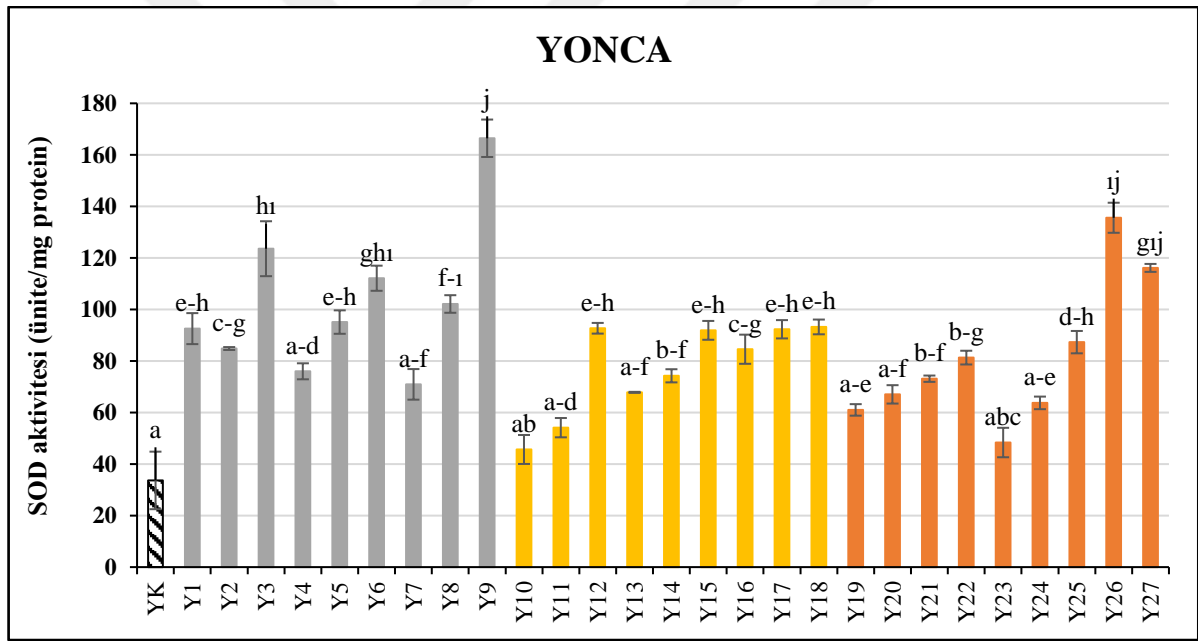
Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının yonca ve fiğ bitkilerinin SOD enzim miktarlarını uygulama zamanına bağlı olarak (24, 48, 72 saat) ne ölçüde değiştirdiği belirlenmiştir.

Pb uygulaması (50, 100, 150 ppm) neticesinde, artan süreye (24, 48, 72 saat) ve artan Pb konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinde özellikle en yüksek uygulama dozu olan 150 ppm Pb uygulaması neticesinde Y9 grubunda kontrole göre %394,65 oranında artış meydana geldiği belirlenmiştir.

Cd uygulaması (20, 30, 40 ppm) neticesinde artan süreye (24, 48, 72 saat) ve artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinde en yüksek uygulama dozu olan 40 ppm

Cd uygulaması neticesinde Y18 grubunda 72 saat sonra kontrole göre %177,02 artış meydana geldiği belirlenmiştir.

Cu uygulaması (25, 50, 100 ppm) neticesinde artan süreye (24, 48, 72 saat) ve artan Cu konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinde en yüksek uygulama dozu olan 100 ppm Cd uygulaması neticesinde Y26 grubunda 48 saat sonra kontrole göre %302,94 oranında artış meydana geldiği belirlenmiştir. Şekildeki harf farklılıkları grupların birbiri arasındaki istatistik olarak farklılık olduğunu göstermektedir (Şekil 18). Yonca bitkisinde SOD miktarında doza ve zamana bağlı olarak değişen yüzdelik oranların detaylı sayısal verileri Tablo 7’de gösterilmiştir.



Şekil 18. Yonca bitkisinde SOD aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler

Tablo 7

Yonca bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole göre yüzdelik değişimler (SOD).

<b>Pb</b>	175,0989	152,1457	267,2793	125,8733	182,6568	233,2241	110,8009	203,5229	394,6501
<b>Cd</b>	35,7088	60,85143	175,5215	101,5708	120,6922	173,0918	151,3276	174,3598	177,0544
<b>Cu</b>	81,33576	99,27194	117,3271	141,6685	43,70332	89,44152	159,4985	302,9558	245,1278

\* Kontrole göre yüzdelik değişimler. Kontrole kıyasla değişim tablosu kontrol grubuna (FK ve YK) göre olan % (yüzde) değişimleri göstermektedir.

\*\*Renk sıkalasındaki renklerin anlamı: Kırmızı;En Çok Azalan, Yeşil; En Çok Artan Değeri İfade Eder

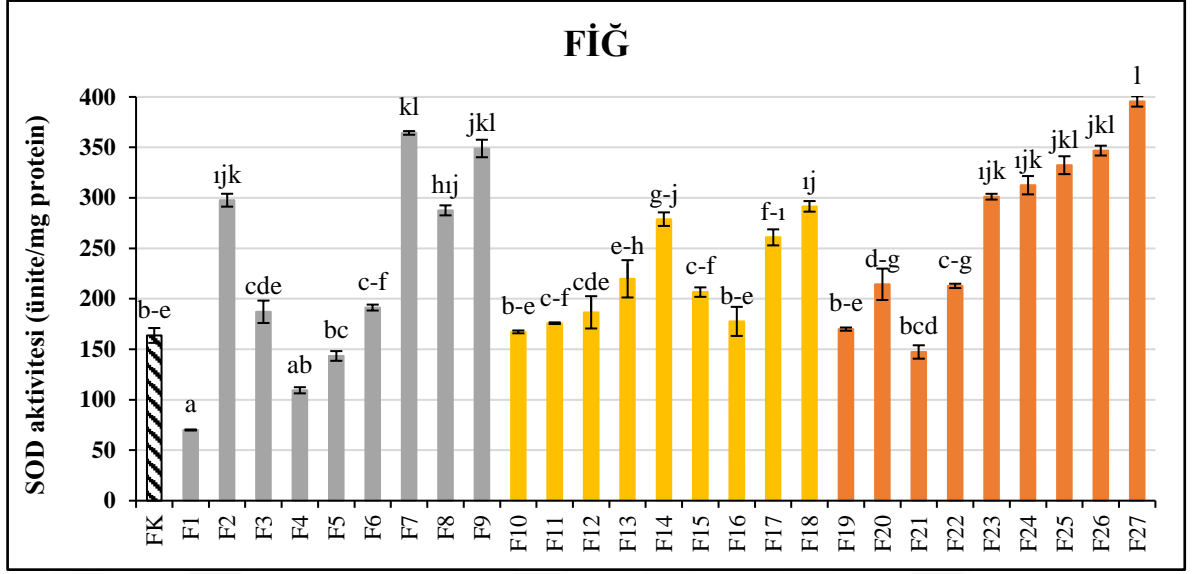
#### 4.4.2. Fiğ bitkisinde SOD aktivitesi bulguları

Farklı konsantrasyonlardaki ağır metal uygulamalarının yonca ve fiğ bitkilerinin SOD enzim miktarlarını uygulama zamanına bağlı olarak (24, 48, 72 saat) ne ölçüde değiştirdiği belirlenmiştir.

Pb uygulaması (50, 100, 150 ppm) neticesinde, artan süreye (24, 48, 72 saat) ve artan Pb konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinde özellikle en yüksek uygulama dozu olan 150 ppm Pb uygulaması neticesinde F7 grubunda kontrole göre %122,57 artış meydana geldiği belirlenmiştir.

Cd uygulaması (20, 30, 40 ppm) neticesinde artan süreye (24, 48, 72 saat) ve artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinde en yüksek uygulama dozu olan 40 ppm Cd uygulaması neticesinde F18 grubunda kontrole göre %78,12 artış meydana geldiği belirlenmiştir.

Cu uygulaması (25, 50, 100 ppm) neticesinde artan süreye (24, 48, 72 saat) ve artan Cu konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinde özellikle en yüksek uygulama dozları olan 50 ppm F22, F23, F24 gruplarında en yüksek %90,92 ve 100 ppm uygulanan F25, F26, F27 gruplarında en yüksek %141,63 olan artışlar meydana gelmiştir. Şekildeki harf farklılıkları grupların birbiri arasındaki istatistiki olarak farklılık olduğunu göstermektedir (Şekil 19). Fi bitkisinde SOD miktarında doza ve zamana bağlı olarak değişen yüzdelik oranların detaylı sayısal verileri Tablo 8'de gösterilmiştir.



Şekil 19. Fiğ bitkisinde SOD aktivitesinde doza ve zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler

Tablo 8

Fiğ bitkisinde ağır metal uygulamasından sonra kontrole göre yüzdelik değişimler (SOD).

<b>Pb</b>	-57,2176	81,84631	14,30464	-33,1835	-12,4134	16,87239	122,5767	75,69854	113,1417
<b>Cd</b>	2,145733	7,412954	13,98908	34,26965	70,3757	26,22503	8,513456	59,35738	78,12375
<b>Cu</b>	3,841539	30,95939	-10,0033	29,98605	83,97195	90,92178	103,0397	111,8604	141,6379

\* Kontrolle göre yüzdelik değişimler. Kontrolle kıyasla değişim tablosu kontrol grubuna (FK ve YK) göre olan % (yüzde) değişimleri göstermektedir.

\*\*Renk sıkalasındaki renklerin anlamı: Kırmızı;En Çok Azalan, Yeşil; En Çok Artan Değeri İfade Ede



#### 4.5. İstatiksel Bulgular

Çalışmada incelenen parametrelerin istatistiksel bulguları Tablo 9 ve Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 9

Yonca çeşidinde incelenen parametrelerin tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları

#### ANOVA

Parametreler	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Gruplar İçi	4,405	27	,163	81,280	,000
Protein Gruplar Arası	,056	28	,002		
Toplam	4,461	55			
Gruplar İçi	68420,337	27	2534,087	18,335	,000
SOD Gruplar Arası	7739,677	56	138,209		
Toplam	76160,014	83			
Gruplar İçi	1,209	27	,045	13,656	,000
CAT Gruplar Arası	,092	28	,003		
Toplam	1,301	55			
Gruplar İçi	24301,879	27	900,070	244,431	,000
POX Gruplar Arası	206,209	56	3,682		
Toplam	24508,089	83			

Tablo 10

Fiğ çeşidinde incelenen parametrelerin tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları

## ANOVA

Parametreler	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F	Sig.
Protein					
Gruplar İçi	,492	27	,018	125,957	,000
Gruplar Arası	,004	28	,000		
Toplam	,496	55			
SOD					
Gruplar İçi	558015,984	27	20667,259	42,311	,000
Gruplar Arası	27353,840	56	488,461		
Toplam	585369,824	83			
CAT					
Gruplar İçi	12,458	27	,461	31,577	,000
Gruplar Arası	,409	28	,015		
Toplam	12,867	55			
POX					
Gruplar İçi	52119,913	27	1930,367	305,898	,000
Gruplar Arası	353,388	56	6,310		
Toplam	52473,301	83			

#### 4.6. Ağır Metal Analiz Sonuçları

Yonca ve Fiğ bitkilerine yapmış olduğumuz Pb için 50, 100, 150 ppm, Cd için 20, 30, 40 ppm, Cu için 25, 50, 100 ppm ağır metal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra hasat edilmiş olan bitkilere ait toprak üstü, kök ve toprak örneklerinden alınan 0,25 g'lık numunelerdeki ağır metal analizleri ICP-OES cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Yonca ve Fiğ bitkilerinin Pb, Cd ve Cu ağır metallerinin farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak üstü, kök ve toprak numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir.

#### 4.6.1. Yonca Bitkisinde Ağır Metal Analiz Sonuçları

Yonca bitkisine uygulanmış olan Pb için 50, 100, 150 ppm, Cd için 20, 30, 40 ppm, Cu için 25, 50, 100 ppm ağır metal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra hasat edilmiş olan bitkilere ait toprak üstü, kök ve toprak örneklerinden alınan 0,25 g'lık numunelerde ağır metal birikimlerini belirlemek için ICP-OES cihazı ile analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları Yonca ve Fiğ bitkileri için ayrı ayrı olacak şekilde tablolar halinde sunulmuştur.

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Yonca bitkisinde Pb'un farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak üstü, kök numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Yonca bitkisinde 50 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 16,71 olduğu belirtilmiştir. Göstermektedir ki; 50 ppm in %33,42 si bitki tarafından tutulmuştur. Yonca bitkisinde 100 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 31,28 olduğu belirlenmiştir. Göstermektedir ki; 100 ppm in %31,28 i bitki tarafından tutulmuştur. Yonca bitkisinde 150 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın %48,12 olduğu tespit edilmiştir. Göstermektedir ki; 150 ppm in %32,08 i bitki tarafından tutulmuştur (Tablo 11).

Tablo 11

Yonca bitkisi Pb uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)

Toprak Üstü	(mg/kg)	Kök	(mg/kg)	Bitkide tutulan toplam miktar
Kontrol	0,011	Kontrol	0,018	
Yonca Toprak Üstü (Y1) 50	1,79	Yonca Kök (Yk1) 50	10,28	12,07
Yonca Toprak Üstü (Y2) 50	2,33	Yonca Kök (Yk2) 50	12,87	15,2
Yonca Toprak Üstü (Y3) 50	3,49	Yonca Kök (Yk3) 50	13,22	16,71
Yonca Toprak Üstü (Y4) 100	5,48	Yonca Kök (Yk4) 100	18,25	23,73
Yonca Toprak Üstü (Y5) 100	6,69	Yonca Kök (Yk5) 100	21,89	28,58
Yonca Toprak Üstü (Y6) 100	8,44	Yonca Kök (Yk6) 100	22,84	31,28
Yonca Toprak Üstü (Y7) 150	12,29	Yonca Kök (Yk7) 150	25,19	37,48
Yonca Toprak Üstü (Y8) 150	14,86	Yonca Kök (Yk8) 150	28,28	43,14
Yonca Toprak Üstü (Y9) 150	16,39	Yonca Kök (Yk9) 150	31,73	48,12

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Yonca bitkisinde Pb'nin farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Yonca bitkisinde 50 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra %50 sinin toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir. 100 ppm uygulamasından 72 saat sonra %54,65 inin toprakta tutulduğu, 150 ppm uygulamasından 72 saat sonra ise %57 sinin toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir (Tablo 12).

Tablo 12

Yonca bitkisi Pb uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)

<b>Toprak Sonuçları</b>	<b>Topraktaki</b>	<b>Toplam ağır</b>
<b>Yonca</b>	<b>Miktar</b>	<b>metal miktarı</b>
Kontrol	0,032	0,061
Yonca Toprak (Y1) 50	31,45	43,52
Yonca Toprak (Y2) 50	29,54	44,74
Yonca Toprak (Y3) 50	25,45	42,16
Yonca Toprak (Y4) 100	59,52	83,25
Yonca Toprak (Y5) 100	57,25	85,83
Yonca Toprak (Y6) 100	54,65	85,93
Yonca Toprak (Y7) 150	95,65	133,13
Yonca Toprak (Y8) 150	90,54	133,68
Yonca Toprak (Y9) 150	85,48	133,6

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Yonca bitkisinde Cd'nin farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak üstü, kök numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Yonca bitkisinde 20 ppm kadmiyum uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 1,40 olduğu belirtilmiştir. Göstermektedir ki; 20 ppm in %7 si bitki tarafından tutulmuştur. Yonca bitkisinde 30 ppm kadmiyum uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 1,83 olduğu belirlenmiştir. Göstermektedir ki; 30 ppm in %6,1 i bitki tarafından tutulmuştur. Yonca bitkisinde 40 ppm kadmiyum uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 2,37 olduğu tespit edilmiştir. Göstermektedir ki; 40 ppm in %5,93 ü bitki tarafından tutulmuştur (Tablo 13).

Tablo 13

Yonca bitkisi Cd uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)

Toprak Üstü	(mg/kg)	Kök	(mg/kg)	Bitkide tutulan toplam miktar
Kontrol	0,015	Kontrol	0,021	
Yonca Toprak Üstü (Y11)20	0,33	Yonca Kök (Yk11) 20	0,48	0,81
Yonca Toprak Üstü (Y12)20	0,45	Yonca Kök (Yk12) 20	0,76	1,21
Yonca Toprak Üstü (Y13)20	0,51	Yonca Kök (Yk13) 20	0,89	1,40
Yonca Toprak Üstü (Y14)30	0,73	Yonca Kök (Yk14) 30	0,88	1,61
Yonca Toprak Üstü (Y15)30	0,78	Yonca Kök (Yk15) 30	0,95	1,73
Yonca Toprak Üstü (Y16)30	0,84	Yonca Kök (Yk16) 30	0,99	1,83
Yonca Toprak Üstü (Y17)40	0,92	Yonca Kök (Yk17) 40	1,13	2,05
Yonca Toprak Üstü (Y18)40	1,04	Yonca Kök (Yk18) 40	1,18	2,22
Yonca Toprak Üstü (Y19)40	1,15	Yonca Kök (Yk19) 40	1,22	2,37

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Yonca bitkisinde Cd'un farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Yonca bitkisinde 20 ppm kadmiyum uygulamasından 72 saat sonra %69,25'inin toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir. 30 ppm uygulamasından 72 saat sonra %66 sinin toprakta tutulduğu, 40 ppm uygulamasından 72 saat sonra ise %68,7 sinin toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir (Tablo 14).

Tablo 14

Yonca bitkisi Cd uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)

<b>Toprak Sonuçları</b>	<b>Topraktaki</b>	<b>Toplam ağır</b>
<b>Yonca</b>	<b>Miktar</b>	<b>metal miktarı</b>
Kontrol	0,045	0,081
Yonca Toprak (Y11) 20	16,52	17,33
Yonca Toprak (Y12) 20	15,54	16,75
Yonca Toprak (Y13) 20	13,85	15,25
Yonca Toprak (Y14) 30	23,58	25,19
Yonca Toprak (Y15) 30	21,46	23,19
Yonca Toprak (Y16) 30	19,85	21,68
Yonca Toprak (Y17) 40	31,58	33,63
Yonca Toprak (Y18) 40	29,65	31,87
Yonca Toprak (Y19) 40	27,51	29,88

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Yonca bitkisinde Cu'nun farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak üstü, kök numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Yonca bitkisinde 25 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 15,12 olduğu belirtilmiştir. Göstermektedir ki; 25 ppm in %60,48 i bitki tarafından tutulmuştur. Yonca bitkisinde 50 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 28,64 olduğu belirlenmiştir. Göstermektedir ki; 50 ppm in %57,28 i bitki tarafından tutulmuştur. Yonca bitkisinde 100 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 46,36 olduğu tespit edilmiştir. Göstermektedir ki; 40 ppm in %46,36 sı bitki tarafından tutulmuştur (Tablo 15).

Tablo 15

Yonca bitkisi Cu uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)

Toprak Üstü	(mg/kg)	Kök	(mg/kg)	Bitkide tutulan toplam miktar
Kontrol	0,025	Kontrol	0,028	
Yonca Toprak Üstü (Y20) 25	3,97	Yonca Kök (Yk20) 25	7,88	11,85
Yonca Toprak Üstü (Y21) 25	4,41	Yonca Kök (Yk21) 25	8,94	13,35
Yonca Toprak Üstü (Y22) 25	5,29	Yonca Kök (Yk22) 25	9,83	15,12
Yonca Toprak Üstü (Y23) 50	7,14	Yonca Kök (Yk23) 50	14,53	21,67
Yonca Toprak Üstü (Y24) 50	7,79	Yonca Kök (Yk24) 50	16,73	24,52
Yonca Toprak Üstü (Y25) 50	9,65	Yonca Kök (Yk25) 50	18,99	28,64
Yonca Toprak Üstü (Y26) 100	12,68	Yonca Kök (Yk26) 100	20,82	33,50
Yonca Toprak Üstü (Y27) 100	16,25	Yonca Kök (Yk27) 100	21,29	37,54
Yonca Toprak Üstü (Y28) 100	22,77	Yonca Kök (Yk28) 100	23,59	46,36

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Yonca bitkisinde Cu'un farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Yonca bitkisinde 25 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra %27,12 sinin toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir. 50 ppm uygulamasından 72 saat sonra %31,28 inin toprakta tutulduğu, 1000 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra ise %45,23 ünün toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir (Tablo 16).



Tablo 16

Yonca bitkisi Cu uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)

<b>Toprak Sonuçları</b>	<b>Topraktaki</b>	<b>Toplam ağır</b>
<b>Yonca</b>	<b>Miktar</b>	<b>metal miktarı</b>
Kontrol	0,051	0,104
Yonca Toprak (Y20) 25	8,21	20,06
Yonca Toprak (Y21) 25	7,54	20,89
Yonca Toprak (Y22) 25	6,78	21,90
Yonca Toprak (Y23) 50	20,48	42,15
Yonca Toprak (Y24) 50	18,69	43,21
Yonca Toprak (Y25) 50	15,64	44,28
Yonca Toprak (Y26) 100	51,22	84,72
Yonca Toprak (Y27) 100	47,85	85,39
Yonca Toprak (Y28) 100	45,23	91,59

#### 4.6.2. Fiğ Bitkisinde Ağır Metal Analiz Sonuçları

Fiğ bitkisine uygulanmış olan Pb için 50, 100, 150 ppm, Cd için 20, 30, 40 ppm, Cu için 25, 50, 100 ppm ağır metal uygulamalarından 24, 48 ve 72 saat sonra hasat edilmiş olan bitkilere ait toprak üstü, kök ve toprak örneklerinden alınan 0.25 g'lık numunelerde ağır metal birikimlerini belirlemek için ICP-OES cihazı ile analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları Yonca ve Fiğ bitkileri için ayrı ayrı olacak şekilde tablolar halinde sunulmuştur.

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Fiğ bitkisinde Pb'un farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak üstü, kök numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Fiğ bitkisinde 50 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 20,68 olduğu belirtilmiştir. Göstermektedir ki; 50 ppm in %41,3ü bitki tarafından tutulmuştur. Fiğ bitkisinde 100 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra

bitkide tutulan toplam miktarın 35,57 olduğu belirlenmiştir. Göstermektedir ki; 100 ppm in %35,57 si bitki tarafından tutulmuştur. Fiğ bitkisinde 150 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 53,81 olduğu tespit edilmiştir. Göstermektedir ki; 150 ppm in %35,87 si bitki tarafından tutulmuştur (Tablo 17).

Tablo 17

Fiğ bitkisi Pb uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)

<b>Toprak Üstü</b>	<b>(mg/kg)</b>	<b>Kök</b>	<b>(mg/kg)</b>	<b>Bitkide tutulan toplam miktar</b>
Kontrol	0,017	Kontrol	0,024	
Fiğ Toprak üstü (F1)50	2,83	Fiğ Kök (Fk1) 50	12,62	15,45
Fiğ Toprak üstü (F2)50	3,02	Fiğ Kök (Fk2) 50	15,26	18,28
Fiğ Toprak üstü (F3)50	4,92	Fiğ Kök (Fk3) 50	15,76	20,68
Fiğ Toprak üstü (F4)100	6,37	Fiğ Kök (Fk4) 100	22,27	28,64
Fiğ Toprak üstü (F5)100	8,29	Fiğ Kök (Fk5) 100	23,21	31,5
Fiğ Toprak üstü (F6)100	9,93	Fiğ Kök (Fk6) 100	25,64	35,57
Fiğ Toprak üstü (F7)150	16,59	Fiğ Kök (Fk7) 150	27,53	44,12
Fiğ Toprak üstü (F8)150	19,19	Fiğ Kök (Fk8) 150	29,46	48,65
Fiğ Toprak üstü (F9)150	20,98	Fiğ Kök (Fk9) 150	32,83	53,81

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Fiğ bitkisinde Pb'nin farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Fiğ bitkisinde 50 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra %48,3 ünün toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir. 100 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra %52,23 ünün toprakta tutulduğu, 150 ppm kurşun uygulamasından 72 saat sonra ise %57 sinin toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir (Tablo 18).

Tablo 18

Fiğ bitkisi Pb uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)

<b>Toprak Sonuçları</b>	<b>Topraktaki</b>	<b>Toplam ağır</b>
<b>Fiğ</b>	<b>Miktar</b>	<b>metal miktarı</b>
Kontrol	0,032	0,073
Fiğ Toprak (F1) 50	33,45	48,9
Fiğ Toprak (F2) 50	28,56	46,84
Fiğ Toprak (F3) 50	24,15	44,83
Fiğ Toprak (F4) 100	65,48	94,12
Fiğ Toprak (F5) 100	59,86	91,36
Fiğ Toprak (F6) 100	52,23	87,8
Fiğ Toprak (F7) 150	98,23	142,35
Fiğ Toprak (F8) 150	91,52	140,17
Fiğ Toprak (F9) 150	85,54	139,35

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Fiğ bitkisinde Cd'nin farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak üstü, kök numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Fiğ bitkisinde 20 ppm kadmiyum uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 1,56 olduğu belirtilmiştir. Göstermektedir ki; 20 ppm in %7,8' i bitki tarafından tutulmuştur. Fiğ bitkisinde 30 ppm kadmiyum uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 2,37 olduğu belirlenmiştir. Göstermektedir ki; 30 ppm in %7,9 u bitki tarafından tutulmuştur. Fiğ bitkisinde 40 ppm kadmiyum uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 3,04 olduğu tespit edilmiştir. Göstermektedir ki; 40 ppm in %7,6 sı bitki tarafından tutulmuştur (Tablo 19)

Tablo 19

Fiğ bitkisi Cd uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)

Toprak Üstü	(mg/kg)	Kök	(mg/kg)	Bitkide tutulan toplam miktar
Kontrol	0,028	Kontrol	0,032	
Fiğ Toprak üstü (F11) 20	0,44	Fiğ Kök (Fk11) 20	0,55	0,99
Fiğ Toprak üstü (F12) 20	0,52	Fiğ Kök (Fk12) 20	0,72	1,24
Fiğ Toprak üstü (F13) 20	0,74	Fiğ Kök (Fk13) 20	0,82	1,56
Fiğ Toprak üstü (F14) 30	0,85	Fiğ Kök (Fk14) 30	0,94	1,79
Fiğ Toprak üstü (F15) 30	0,95	Fiğ Kök (Fk15) 30	1,03	1,98
Fiğ Toprak üstü (F16) 30	1,12	Fiğ Kök (Fk16) 30	1,25	2,37
Fiğ Toprak üstü (F17) 40	1,21	Fiğ Kök (Fk17) 40	1,3	2,51
Fiğ Toprak üstü (F18) 40	1,32	Fiğ Kök (Fk18) 40	1,42	2,74
Fiğ Toprak üstü (F19) 40	1,46	Fiğ Kök (Fk19) 40	1,58	3,04

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Fiğ bitkisinde Cd'un farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Fiğ bitkisinde 20 ppm kadmiyum uygulamasından 72 saat sonra %72,6 sının toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir. 30 ppm uygulamasından 72 saat sonra %76 sının toprakta tutulduğu, 40 ppm uygulamasından 72 saat sonra ise %75,57 sinin toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir (Tablo 20).

Tablo 20

Fiğ bitkisi Cd uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)

<b>Toprak Sonuçları</b>	<b>Topraktaki</b>	<b>Toplam ağır</b>
<b>Fiğ</b>	<b>Miktar</b>	<b>metal miktarı</b>
Kontrol	0,045	0,105
Fiğ Toprak (F11) 20	17,56	18,55
Fiğ Toprak (F12) 20	16,21	17,45
Fiğ Toprak (F13) 20	14,52	16,08
Fiğ Toprak (F14) 30	26,35	28,14
Fiğ Toprak (F15) 30	24,54	26,52
Fiğ Toprak (F16) 30	22,85	25,22
Fiğ Toprak (F17) 40	35,25	37,76
Fiğ Toprak (F18) 40	33,78	36,52
Fiğ Toprak (F19) 40	30,23	33,27

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Fiğ bitkisinde Cu'nun farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak üstü, kök numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Fiğ bitkisinde 25 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 15,77 olduğu belirtilmiştir. Göstermektedir ki; 25 ppm in %63,08 i bitki tarafından tutulmuştur. Fiğ bitkisinde 50 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 31,43 olduğu belirlenmiştir. Göstermektedir ki; 50 ppm in %62,86 sı bitki tarafından tutulmuştur. Fiğ bitkisinde 100 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra bitkide tutulan toplam miktarın 49,32 olduğu tespit edilmiştir. Göstermektedir ki; 40 ppm in %49,32 si bitki tarafından tutulmuştur (Tablo 21).

Tablo 21

Fiğ bitkisi Cu uygulaması sonrasında toprak üstü ve kök analiz sonuçları (mg/kg)

Toprak Üstü	(mg/kg)	Kök	(mg/kg)	Bitkide tutulan toplam miktar
Kontrol	0,032	Kontrol	0,038	
Fiğ Toprak üstü (F20) 25	5,15	Fiğ Kök (Fk20) 25	8,98	14,13
Fiğ Toprak üstü (F21) 25	5,95	Fiğ Kök (Fk21) 25	9,14	15,09
Fiğ Toprak üstü (F22) 25	6,23	Fiğ Kök (Fk22) 25	9,54	15,77
Fiğ Toprak üstü (F23) 50	8,75	Fiğ Kök (Fk23) 50	14,75	23,5
Fiğ Toprak üstü (F24) 50	9,48	Fiğ Kök (Fk24) 50	17,91	27,39
Fiğ Toprak üstü (F25) 50	11,69	Fiğ Kök (Fk25) 50	19,74	31,43
Fiğ Toprak üstü (F26) 100	18,96	Fiğ Kök (Fk26) 100	21,78	40,74
Fiğ Toprak üstü (F27) 100	20,28	Fiğ Kök (Fk27) 100	23,54	43,82
Fiğ Toprak üstü (F28) 100	22,85	Fiğ Kök (Fk28) 100	26,47	49,32

Elde edilen sonuçlar kapsamında değerlendirme yapıldığında, Fiğ bitkisinde Cu'un farklı konsantrasyonlarında ve farklı uygulama sürelerinde toprak numunelerinde ağır metalleri farklı oranlarda biriktirdikleri ve fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu belirlenmiştir fiğ bitkisinde 25 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra %24,6 sının toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir. 50 ppm uygulamasından 72 saat sonra %31,08 inin toprakta tutulduğu, 100 ppm bakır uygulamasından 72 saat sonra ise %45,85'inin toprakta tutulduğu gözlemlenmiştir (Tablo 22).

Tablo 22

Fiğ bitkisi Cu uygulamasından 72 saat sonra toprak analiz sonuçları (mg/kg)

Toprak Sonuçları Fiğ	Topraktaki Miktar	Toplam ağır metal miktarı
Kontrol	0,051	0,121
Fiğ Toprak (F20) 25	9,47	23,6
Fiğ Toprak (F21) 25	8,12	23,21
Fiğ Toprak (F22) 25	6,15	21,92
Fiğ Toprak (F23) 50	23,58	47,08
Fiğ Toprak (F24) 50	20,54	47,93
Fiğ Toprak (F25) 50	15,54	46,97
Fiğ Toprak (F26) 100	55,25	95,99
Fiğ Toprak (F27) 100	51,23	95,05
Fiğ Toprak (F28) 100	45,85	95,17

#### 4.7. Tartışma

Araştırmamızda, ülkemizde ve bölgemizde yaygın bir şekilde yetiştirilen yem bitkilerinden *Medicago sativa* (Yonca), *Vicia sativa* (Fiğ) türlerinin ağır metal stresi altında vermiş oldukları fizyolojik cevaplar ve fitoremediasyon kapasitelerinin karşılaştırılmasına çalışılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar kapsamında farklı ağır metallere karşı Yonca ve Fiğ bitkilerinin vermiş oldukları cevapların farklılık gösterdikleri belirlenmiştir. Bu farklılık hem fizyolojik olarak enzim seviyesinde hem de fitoremediasyon kapasitelerinin farklılığı şeklinde belirlenmiştir.

Bugüne kadar yapılan bilimsel araştırmalarda farklı bitki türlerinde ağır metallerin bitkiler üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Araştırmamızın farklı yönü bu iki bitkinin hem fizyolojik açıdan hem de fitoremediasyon açısından kapasitelerin karşılaştırılması oluşturmaktadır.

Ağır metal olan bakır yaşam için gerekli olan bir mikrobesindir. Ancak aşırı miktarda alındığında toksik etki göstermektedir. 2018 yılında yapılan bir çalışmada, farklı dozlarda bakır uygulanan dört baklagil bitkisinde (*Vicia faba*, *Vicia sativa*, *Trigonella foenum*, *Medicago truncatula*) fizyolojik parametrelerin belirlenmesi sonucunda artan yüksek dozlarla orantılı olarak lipit peroksidasyon içeriğinde, SOD, CAT ve POX antioksidan enzimlerinde artış gözlenmiştir (Jalali vd.,2018). Araştırmamızda fiğ bitkisinde bakır uygulamasının dozu arttıka POX ve SOD aktivitelerinde artışlar gözlenmiştir. Bu anlamda yapılan araştırma çalışmamız ile savunma enzimlerinin artışı açısından paralellik göstermektedir.

Yonca ve fiğ bitkilerinde tüm ağır metal uygulama gruplarına baktığımızda POX, CAT ve SOD aktivitelerinde genel olarak artış olduğu gözlenmiştir. Bitkiler tarafından tehdit sinyali olarak algılanan ağır metaller, bitkide savunma sistemini uyarmıştır. Bitkiler artan strese karşı antioksidan enzim aktivitelerini arttırarak uyum sağlamaya çalışırlar. Yapılan başka bir çalışmada, yonca bitkilerinin fotosentez ve ROS'a tolerans mekanizmaları üzerindeki Cu stresinin etkileri floresan ve biyokimyasal yöntemler kullanarak araştırılmıştır. Sonuçlar, Cu stresinin yaprakların klorofil içeriğini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Cu stresi yapraklarda SOD, POD, CAT, APX ve GPX aktivitelerini arttırmıştır. Yapılan bu çalışmada bakır stresi altında yonca yapraklarındaki fotoinhibisyon ve oksidatif hasarın derecesi yüksek bulunmuştur (Chen vd., 2022).

Beladi ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları bir araştırmada, yonca bitkisine dört farklı doz bakır dört farklı doz kurşun uygulaması yapılmış, SOD ve CAT enzim aktivitelerine ve ağır metal emilim oranlarına bakılmıştır. Sonuçlar, toprak üstü kısımlarda kök sisteminden daha fazla kurşun ve bakır emildiğini göstermiştir. Ölçülen kurşun ve bakır iletim faktörü değerleri, kök sistemine göre toprak üstü kısımlarda daha fazla kurşun ve bakır absorpsiyonunu açıkça göstermiştir. Bakır, kurşundan daha fazla toprak üstü kısımlarda emilim göstermiştir. SOD ve CAT sonuçlarına bakıldığında kurşun ve bakır seviyesindeki artışla birlikte iki enzimin antioksidan davranışlarının önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir. Bizim alışmamızda yonca bitkisine baktığımız zaman hem kurşun hem de bakır kök sisteminde daha fazla emilim göstermiştir. Antioksidan enzimlerin ağır metal dozu arttıka artış göstermesi bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla uyumludur.



Başka bir çalışmada ise yonca bitkisinde, kadmiyum (0, 25 ve 50  $\mu\text{M}$ ) ve giberellik asidin (0,5 ve 10  $\mu\text{M}$ ) farklı konsantrasyonlarının belirli fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Deney sonuçları, Hoagland besin çözeltilisinde artan kadmiyum klorür konsantrasyonunun, büyüme parametrelerini ve pigment içeriklerini ve GPX aktivitesini azalttığını göstermiştir. Ancak, bitkilerin kök ve yapraklarında prolin içeriği, SOD ve CAT aktiviteleri artmıştır. Giberellik asidin yoncada stres kadmiyum klorürün olumsuz etkilerini hafifletebileceği sonucuna varılmıştır (Taghizadeh, 2022).

Bu tez çalışmasında, yonca bitkisinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (YK) toplam proteindeki en fazla düşüşün 72. saat sonunda %62,81'lik düşüşle kurşun uygulamasının en yüksek dozu olan 150 ppm dozunda görülmüştür. Fiğ bitkisinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (FK) toplam proteindeki en fazla düşüşün 72. saat sonunda %45,59'luk düşüşle kurşun uygulamasının en yüksek dozu olan 150 ppm dozunda görülmüştür. Genel olarak tüm ağır metal dozları toplam proteinde azalmaya sebep olmuştur.

Ağır metallerin proteinleri denatüre ederek enzimleri inaktive etmesi protein miktarında azalmaya sebep olabilir. Metallerin proteinlerin sülfidril gibi fonksiyonel gruplarına bağlanması ve proteinleri bloke etmesi sonucu proteinlerin normal formundaki bozulmalar nedeniyle de azalma görülebilmektedir (Koç vd., 2012).

Yonca bitkisinde kontrol grubuna göre POX aktivitesindeki en büyük artış kurşunun en yüksek dozu olan 150 ppm uygulamasından 72 saat sonra %188,39 olarak, fiğ bitkisinde de bakırın en yüksek dozu olan 100 ppm uygulamasından 72 saat sonra %166,47 olarak meydana geldiği belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarımıza göre uyguladığımız tüm ağır metallerin bitki savunma sistemini uyarabileceği ve bu bitkinin uygulanan tüm ağır metalleri bir tehdit sinyali olarak algılaması nedeniyle POX aktivitelerini arttırdığı görülmüştür.

Yonca bitkisinde ağır metal uygulaması sonucunda artan süreye ve artan konsantrasyona bağlı olarak çoğunlukla CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre azalmalar meydana gelmiştir. Yonca bitkisinde kadmiyum 20 ppm (Y10), bakır 100 ppm (Y26, Y27) dozları dışında CAT aktivitesinde kontrol grubuna göre düşüşler meydana gelmiştir. En fazla düşüş kurşunun ilk dozu olan 50 ppm uygulamasından 24 saat sonra Y1 grubunda %82,66

olarak belirlenmiştir. Fiğ bitkisinde katalaz aktivitesinde genel olarak artışlar olmuştur. En fazla artışın 30 ppm Cd uygulaması neticesinde F14 grubunda kontrole göre %605,31 oranında olduğu belirlenmiştir.

Yonca bitkisinde Pb uygulaması (50, 100, 150 ppm) neticesinde, artan süreye (24, 48, 72 saat) ve artan Pb konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinde özellikle en yüksek uygulama dozu olan 150 ppm Pb uygulaması neticesinde Y9 grubunda kontrole göre %394,65 oranında artış meydana geldiği belirlenmiştir. Fiğ bitkisinde, Cu uygulaması (25, 50, 100 ppm) neticesinde artan süreye (24, 48, 72 saat) ve artan Cu konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivitesinde özellikle en yüksek uygulama dozları olan 50 ppm F22, F23, F24 gruplarında en yükseği %90,92 ve 100 ppm uygulanan F25, F26, F27 gruplarında en yükseği %141,63 olan artışlar meydana gelmiştir.

Dünya çapında sanayileşmenin bir sonucu olarak Cd, Pb, Cr, Zn, Ni ve Cu gibi toksik ağır metaller son birkaç yılda gözle görülür şekilde artmıştır (Tangahu vd.,2011). Fitoremediasyon, çevredeki kirleticilerin konsantrasyonlarını veya toksik etkilerini azaltmak için, maliyetli yöntemler yerine kirleticileri stabilize eden, dönüştüren ya da bulunduğu ortamdan kaldıran biyolojik materyalleri kullanan etkin, ekonomik ve ekolojik, çevre dostu ve uygun maliyetli bir yöntemdir. Bu yöntemde kullanılan bitkiler hiperakümülatör bitkiler olarak adlandırılmaktadır.

Tamamlanantez çalışmasında, fiğ ve yoncanın uygulanan doza ve süreye bağlı olarak fitoremediasyon kapasitelerinin de farklı olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlara bakıldığında kurşun ağır metalinin topraktan temizlenmesinde fiğ bitkisi daha yüksek fitoremediasyon kapasitesi göstermiştir. Kadmiyum ağır metalinin topraktan temizlenmesinde fiğ ve yonca yaklaşık değerler vermiştir. Her iki bitki de kadmiyumun temizlenmesinde kullanılabilir. Bakır ağır metalinin topraktan temizlenmesinde fiğ bitkisi daha yüksek fitoremediasyon kapasitesi göstermiştir.

Peralta ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları çalışmada, her biri 0-40 ppm arasındaki konsantrasyonlarda hazırlanan Cr, Zn, Cu ve Ni ağır metalleri yonca bitkisine uygulamışlardır. Hasattan sonra analiz sonuçlarına göre Cd alımında doza bağlı artış olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma doza bağlı artış açısından çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Bir diğer çalışmada, üç tarım bitkisinin (bezelye, fiğ çiçek salkımı, yonca) aldığı ağır metal miktarları analiz edilmiş ve bu üç tür birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Analizler kurşun ve çinko arttıkça bitkilerin kök ve sürgünlerindeki tüm kirleticilerin miktarının önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Fiğın kökten sürgüne kurşun transferinde diğer ikisine göre daha yüksek bir yeteneğe sahip olduğu bulunmuştur (Nezami ve Kalantari., 2013). Çıkan bu sonuçlar yaptığımız çalışma ile uyumludur.

Araştırmamızın hipotezini oluşturmakta olan alanda bugüne kadar yapılan bilimsel araştırmalarda kimisi farklı bitki türlerinde ve farklı türden ağır metaller ile yapılmış olsalar da; ağır metallerin temelde tüm bitki türlerinde ağır metal tipine bağlı olarak değişebilen düşük veya yüksek konsantrasyonlarda fitotoksik etkiler göstermekte olduğu ve bunun karşılığında bitkilerde savunma ve dayanıklılık mekanizmalarının devreye sokularak hem metabolik hem de fizyolojik olarak gerekli uyarıların yapıldığı anlaşılmaktadır.

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, bitkisel materyal olarak ülkemizde ve bölgemizde yaygın bir şekilde yetiştirilen yem bitkilerinden yonca ve fiğ türleri kullanılmıştır. Deneme serilerinde daha önceden bu konuda yapılmış olan bilimsel araştırmalarda kullanılan konsantrasyonlar ve ön deneme sonuçlarımız dikkate alınarak ağır metallerin üç farklı konsantrasyonu; kurşun (50, 100, 150 ppm), bakır (25, 50, 100 ppm), kadmiyum (20, 30, 40 ppm) kullanılmıştır. Ağır metal uygulamalarından sonra bitkilerin toprak üstü kısımlarından ve köklerinden alınacak materyallerde nicel element analizleri ve bu bitkilerin yetiştirildikleri toprakların nicel toprak analizleri ICP-OES yöntemi ile yapılmıştır.

Ayrıca kurşun kadmiyum ve bakır ağır metallerinin bu bitkilerde antioksidan enzim aktivitesi üzerine olan etkileri karşılaştırmalı olarak belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında, yonca ve fiğ bitkilerinde tüm ağır metal uygulama dozlarının toplam protein miktarını düşürdüğü görülmektedir. Yonca ve fiğ bitkilerinde tüm ağır metal uygulama gruplarına baktığımızda POX, CAT ve SOD aktivitelerinde genel olarak artış olduğu gözlenmiştir. Bitkiler tarafından tehdit sinyali olarak algılanan ağır metaller, bitkide savunma sistemini uyarmıştır.

Bugüne kadar gerçekleştirilmiş olan pek çok bilimsel araştırmadan da bilindiği üzere bitkilerin abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı dayanıklılıkları bitkilerin yetiştikleri ortama, bitkilerin türlerine, çevresel stres faktörlerine, strese maruz kalma sürelerine ve stresin bitkinin hangi bölgesini etkilediğine bağlı olarak değişiklikler gösterebilmektedir. Araştırmamızda da ağır metal stresinin farklı konsantrasyonlarda, farklı sürelerde deneme bitkilemizi nasıl etkiledikleri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Farklı ağır metallerin toksisitesine karşı farklı bitkilerin geliştirmiş oldukları dayanıklılık mekanizmalarının ortaya çıkartılması açısından bu sonuçlar önem arz etmektedir.

Yonca ve fiğ bitkilerinde meydana gelmiş olan ağır metal toksisitesi ve bitkilerin dayanıklılık sınırlarının bilinebilmesi için hem fizyolojik parametrelere bakılmış hem de fitoremediasyon kapasiteleri karşılaştırılmıştır.

Her iki bitki türü için de bu özelliklerin belirlenebilmesi yaygın olarak yetiştirilen ve yem bitkisi olarak kullanımı sonucunda ekosisteme dahil olarak sofralarımıza kadar gelmekte olan ürünlerin güvenilirliklerini bilmemiz açısından da önemlidir.

Bunun yanı sıra ağır metalleri ve diğer toksik maddeleri bünyelerinde biriktirebilme yeteneğinde olan hiperakümülatör adı verilen bitkilerin önemi bu çalışmamız ile bir kez daha ortaya konulmaya çalışılmıştır. Hiperakümülatör bitkiler ağır metallerle kirlenmiş alanların temizlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Çalışmamızda yonca ve fiğ bitkilerinin kurşun kadmiyum ve bakırın yüksek dozlarını bünyelerinde biriktirerek uzaklaştırabildiği sonucuna varılmıştır. Ağır metal dozlarının artması ile hem yonca hem de fiğ bitkisi yapraklarında sararma bitki boylarında gözle görülür azalma tespit edilmiştir. Uygulanan ağır metal dozlarıyla orantılı olarak kök ve yaprak kuru ağırlığında azalma gözlenmiştir.

Yaygın kullanılan bu iki yem bitkisinin fitoremediasyonda kullanılabilirliği tarım alanlarının daha az maliyetle iyileştirilmesi açısından avantajlı gibi gözükse de, hayvanların bu yemleri doğrudan yemesi ve etinden ve sütünden bizlerin yararlanması göz önünde bulunursa bu bir dezavantaj olmaktadır.

Fitoremediasyon ile belli oranda ekosistemin iyileştirilmesi sağlanabilir. Hiperakümülatör bitkiler birer mucize olarak görüldüğü takdirde ortamın kirletilmesinde duyarsızlaşma daha da artabilir. Bu nedenlerden ötürü, çevre kirletici tüm kaynakların ve özellikle ekosisteme ağır metal salınımını yüksek oranda gerçekleştirmekte olan kaynakların kontrollerinin yapılması, endüstriyel üretimlerde atık kontrol mekanizmalarının acilen devreye alınması, mümkün olan en kısa vadede tarımsal ve sucul alanların korunmasına yönelik tedbirler alınarak ekosistem açısından hayati önem taşımakta olan kaynaklarımızın ağır metal kirliliğinden kurtarılması gerekmektedir.

Tüm bunlar yapılmadığı durumlarda tarımsal alanları kirleten ağır metal türlerinin ekonomik önemleri olan tarımsal ürünlerin yapılarına girmeleri, yer altı su kaynaklarına ulaşarak buralarda aktif hale geçerek bu suları kontamine etmeleri, yararlı mikroorganizmaları yok ederek ekosistemin dengesini bozmaları mümkün olacaktır. Ayrıca bu ağır metallerin tarımsal alanlarda birikim neticesinde çalışmamızdaki örnekte görüldüğü

üzere bu alanda yetiştirilmekte olan bitkilerin fotosentezi, solunumu, büyümesi, gelişmesi buna bağlı olarak tüm metabolik faaliyetleri de olumsuz olarak etkilenecektir.

Önümüzdeki dönemlerde fitoremediasyon kapsamında ve biyoakümülatör bitkilerin belirlenmesi, yaygınlaştırılması konusunda yapılacak olan bilimsel araştırmalar kirletici kaynakların kontrol altında tutulmasında önemli sorunlar yaşamakta olan ve her geçen artan çevresel kirletici faktörlerin engellenmesi açısından yasal anlamda çok fazla yol alamayan ülkemiz açısından önem arz etmektedir.



## KAYNAKÇA

- Abdelhafez, A. A and Li, J. (2014). "Geochemical and statistical evaluation of heavy metal status in the region around Jinxi River, China". *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 23 (8), 850-868.
- Ak, A. and Yücel, E. (2011). "Ecotoxicological effects of heavy metal stress on antioxidant enzyme levels of *Triticum aestivum*. cv. Alpu". *Biological Diversity and Conservation*. 4 (3), 19-24.
- Alaboudi, K. A., Ahmed, B., and Brodie, G. (2018). "Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant". *Annals of agricultural sciences*. 63 (1), 123-127.
- Ali, H., Khan, E. And Sajad, M. A. (2013). "Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications". *Chemosphere*, 91 (7), 869-881.
- Amari, T., Ghnaya, T. and Abdelly, C. (2017). "Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction". *South African Journal of Botany*, 111, 99-110.
- Aransiola, S. A., Ijah, U. J. J. and Abioye, O. P. (2013). "Phytoremediation of lead polluted soil by *Glycine max* L. ". *Applied and Environmental Soil Science*, | <https://doi.org/10.1155/2013/631619>.
- Ashraf, U., Kanu, A. S., Deng, Q., Mo, Z., Pan, S., Tian, H. and Tang, X. (2017). "Lead (Pb) toxicity; physio-biochemical mechanisms, grain yield, quality, and Pb distribution proportions in scented rice". *Frontiers in Plant Science*, 8, 259.
- Aydinalp, C. and Marinova, S. (2009). "The effects of heavy metals on seed germination and plant growth on alfalfa plant (*Medicago sativa*) ". *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15 (4), 347-350.
- Bajguz, A. (2010). "An enhancing effect of exogenous brassinolide on the growth and antioxidant activity in *Chlorella vulgaris* cultures under heavy metals stress". *Environmental and Experimental Botany*, 68 (2), 175-179.

- Bassegio, C., Campagnolo, M. A., Schwantes, D., Gonçalves Junior, A. C., Manfrin, J., Schiller, A. D. P. and Bassegio, D. (2020). "Growth and accumulation of Pb by roots and shoots of *Brassica juncea* L. ". *International journal of phytoremediation*, 22 (2), 134-139.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971). "Superoxide Dismutase: Improved Assay and Applicable to Acrylamid Gels". *Anal. Biochem.*, 44, 276-287.
- Beladi, M., Habibi, D., Kashani, A., Paknejad, F. and Nooralvandi, T. (2011). "Phytoremediation of Lead and Copper by Sainfoin (*Onobrychis vicifolia*): Role of antioxidant enzymes and biochemical biomarkers". *Am Eurasian J Agric Environ Sci*, 10 (3), 440-449.
- Benavides, M. P., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2005). "Cadmium toxicity in plants". *Brazilian journal of plant physiology*, 17, 21-34.
- Bowler, C., Van Camp, W., Van Montagu, M., Inzé, D. and Asada, K. (1994). "Superoxide dismutase in plants". *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13 (3), 199-218.
- Cakmak, I. And Marschner, H. (1992). " Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves". *Plant physiology*, 98 (4), 1222-1227.
- Cennet, Ö. ve Mammadov, R. (2013). "Ağır metaller ve süs bitkilerinin fitoremediasyonda kullanılabilirliği". *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 15( 1), 68-77.
- Chen, L., Beiyuan, J., Hu, W., Zhang, Z., Duan, C., Cui, Q. Fang, L. (2022). "Phytoremediation of potentially toxic elements (PTEs) contaminated soils using alfalfa (*Medicago sativa* L.): A comprehensive review". *Chemosphere*, 133577.
- Chen, H., Song, L., Zhang, H., Wang, J., Wang, Y. and Zhang, H. (2022). "Cu and Zn Stress affect the photosynthetic and antioxidative systems of alfalfa (*Medicago sativa*)". *Journal of Plant Interactions*, 17 (1), 695-704.
- Cui, T., Fang, L., Wang, M., Jiang, M. and Shen, G. (2018). "Intercropping of gramineous pasture ryegrass (*Lolium perenne* L.) and leguminous forage alfalfa (*Medicago sativa* L.) increases the resistance of plants to heavy metals". *Journal of Chemistry*, <https://doi.org/10.1155/2018/7803408>.



- Çaylak, E. (2011). “Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar”. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9 (1), 73-83.
- Çelik, S. A. ve Ayran, İ. (2020). “ANTİOKSİDAN KAYNAĞI OLARAK BAZI TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLER”. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 13 (2), 115-125.
- Dai, H., Wei, S., Pogrzeba, M., Rusinowski, S., Krzyżak, J. and Jia, G. (2020). “Exogenous jasmonic acid decreased Cu accumulation by alfalfa and improved its photosynthetic pigments and antioxidant system”. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190, 110176.
- Das, S., Goswami, S. and Talukdar, A. D. (2014). “A study on cadmium phytoremediation potential of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. ”. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 92( 2), 169-174.
- Dumont, S. and Rivoal, J. (2019). “Consequences of oxidative stress on plant glycolytic and respiratory metabolism”. *Frontiers in Plant Science*, 10, 166.
- Eskandari, H. and Alizadeh-Amraie, A. (2016). “Ability of some crops for phytoremediation of nickel and zinc heavy metals from contaminated soils”. *Journal of Advances in Environmental Health Research*, 4( 4), 234-239.
- Fazlieva, E. R., Kiseleva, I. S. and Zhuikova, T. V. (2012). “Antioxidant activity in the leaves of *Melilotus albus* and *Trifolium medium* from man-made disturbed habitats in the Middle Urals under the influence of copper”. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59 (3), 333-338.
- Fu, Q., Tan, X., Ye, S., Ma, L., Gu, Y., Zhang, P. And Tang, Y. (2021). “Mechanism analysis of heavy metal lead captured by natural-aged microplastics”. *Chemosphere*, 270, 128624.
- Fukami, J., Ollero, F. J., de la Osa, C., Valderrama-Fernandez, R., Nogueira, M. A., Megías, M. and Hungria, M. (2018). “Antioxidant activity and induction of mechanisms of resistance to stresses related to the inoculation with *Azospirillum brasilense*”. *Archives of microbiology*, 200 (8), 1191-1203.
- Gechev, T., Willekens, H., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Camp, W., Toneva, V. and Minkov, I. (2003). “Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress”. *Journal of Plant Physiology*, 160 (5), 509-515.

- Gerhardt, K. E., Gerwing, P. D. and Greenberg, B. M. (2017). "Opinion: Taking phytoremediation from proven technology to accepted practice". *Plant Science*, 256, 170-185.
- Ghasemi, H., Yousefirad, M. and Sepehr, M. F. (2014). "Effect of cadmium on oxidative enzymes activity in Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.)". *Iranian Journal of Plant Physiology*, 5(1).
- Ghazaryan, K. A., Movsesyan, H. S., Minkina, T. M., Nevidomskaya, D. G. and Rajput, V. D. (2022). "Phytoremediation of copper-contaminated soil by *Artemisia absinthium*: Comparative effect of chelating agents". *Environmental Geochemistry and Health*, 44 (4), 1203-1215.
- Ghori, N. H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V. And Ozturk, M. (2019). "Heavy metal stress and responses in plants". *International journal of environmental science and technology*, 16 (3), 1807-1828.
- Giannopolities N. And Ries S. K. (1977). "Superoxide Dismutase. Occurance in Higher Plants". *Plant Physiol.*, 59, 309-314.
- Giannakoula, A., Therios, I. and Chatzissavvidis, C. (2021). "Effect of lead and copper on photosynthetic apparatus in citrus (*Citrus aurantium* L.) plants. The role of antioxidants in oxidative damage as a response to heavy metal stress". *Plants*, 10 (1), 155.
- Goswami, S. and Das, S. (2016). "Copper phytoremediation potential of *Calandula officinalis* L. and the role of antioxidant enzymes in metal tolerance". *Ecotoxicology and environmental safety*, 126, 211-218.
- Goyal, D., Yadav, A., Prasad, M., Singh, T. B., Shrivastav, P., Ali, A. and Mishra, S. (2020). "Effect of heavy metals on plant growth: an overview". *Contaminants in agriculture*, 79-101.
- Goyer, R. A. and Clarkson, T. W. (1996). "Toxic effects of metals". *Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons*, 5, 691-736.
- Goyer, R. A., Miller, C. R., Zhu, S. Y. and Victory, W. (1989). "Non-metallothionein-bound cadmium in the pathogenesis of cadmium nephrotoxicity in the rat". *Toxicology and applied pharmacology*, 101(2), 232-244.

- Gravand, F., Rahnavard, A. and Pour, G. M. (2021). "Investigation of vetiver grass capability in phytoremediation of contaminated soils with heavy metals (Pb, Cd, Mn, and Ni)". *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 30 (2), 163-186.
- Güneş, F. ve Bozkurt, S. (2021). "BAZI HİPERAKÜMÜLATÖR BİTKİLER VE ÖZELLİKLERİ". *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 14 (1), 67-90.
- Guzel, S. and Terzi, R. (2013). "Exogenous hydrogen peroxide increases dry matter production, mineral content and level of osmotic solutes in young maize leaves and alleviates deleterious effects of copper stress". *Botanical studies*, 54 (1), 1-10.
- Habiba, U., Ali, S., Farid, M., Shakoor, M. B., Rizwan, M., Ibrahim, M. and Ali, B. (2015). "EDTA enhanced plant growth, antioxidant defense system, and phytoextraction of copper by Brassica napus L.". *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (2), 1534-1544.
- Hachani, C., Lamhamedi, M. S., Abassi, M., Sleimi, N. and Béjaoui, Z. (2022). "Effects of Heavy Metal-Polluted Soil (Pb, Zn, and Cd) on Seed Emergence, Seedling Growth, and Antioxidant Activity in Four Fabaceae Species". *Water, Air, & Soil Pollution*, 233(7), 1-18.
- Hamutoğlu, R., Dinçsoy, A. B., Cansaran Duman, D. ve Aras, S. (2012). "Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları". *Türk hijyen ve deneysel biyoloji dergisi*, 4 (69) 235-253.
- Hattab, S., Boussetta, H. and Banni, M. (2014). "Influence of nitrate fertilization on Cd uptake and oxidative stress parameters in alfalfa plants cultivated in presence of Cd". *Journal of soil science and plant nutrition*, 14 (1), 89-99.
- Helaoui, S., Boughattas, I., Hattab, S., Mkhinini, M., Alphonse, V., Livet, A. and Banni, M. (2020). "Physiological, biochemical and transcriptomic responses of Medicago sativa to nickel exposure". *Chemosphere*, 249, 126121.
- Hirzel, J., Retamal-Salgado, J., Walter, I. And Matus, I. (2017). "Cadmium accumulation and distribution in plants of three durum wheat cultivars under different agricultural environments in Chile". *Journal of Soil and Water Conservation*, 72 (1), 77-88.

- Huggins, D. R., Randall, G. W. And Russelle, M. P. (2001). "Subsurface drain losses of water and nitrate following conversion of perennials to row crops". *Agronomy Journal*, 93 (3), 477-486.
- Ibáñez, S. G., Alderete, L. G. S., Medina, M. I. and Agostini, E. (2012). "Phytoremediation of phenol using *Vicia sativa* L. plants and its antioxidative response". *Environmental Science and Pollution Research*, 19 (5), 1555-1562.
- Ivanishchev, V. V. and Abramova, E. A. (2015). "Accumulation of nickel ions in seedlings of *Vicia sativa* L. and manifestations of oxidative stress". *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (10), 7897-7905.
- Jalali, K., Nouairi, I., Kallala, N., M'Sehli, W. I. S. S. A. L., Zribi, K. And Mhadhbi, H. (2018). "Germination, seedling growth, and antioxidant activity in four legume (Fabaceae) species under copper sulphate fungicide treatment". *Pak. J. Bot*, 50 (4), 1599-1606.
- Jian, L., Bai, X., Zhang, H., Song, X. and Li, Z. (2019). "Promotion of growth and metal accumulation of alfalfa by coinoculation with *Sinorhizobium* and *Agrobacterium* under copper and zinc stress". *PeerJ*, 7, e6875.
- Kabir, M., Iqbal, M. Z. and Shafiq, M. (2009). "Effects of lead on seedling growth of *Thespesia populnea* L. ". *Advances in Environmental Biology*, 184-191.
- KAFKASYALI, D. (2021). "Bakır Toksisitesinin Bitkilerde Fizyolojik, Morfolojik, Biyokimyasal ve Transkripsiyonel Düzeydeki Etkileri". *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 47 (1), 16-34.
- Kennedy, C. D. and Gonsalves, F. A. N. (1987). "The action of divalent zinc, cadmium, mercury, copper and lead on the trans-root potential and H<sup>+</sup>, efflux of excised roots". *Journal of Experimental Botany*, 38 (5), 800-817.
- Kireççi, O. A. (2018). "Bitkilerde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar". *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7 (2), 473-483.
- Koç, E., Üstün, A. S. and Arıcı, Y. K. (2012). "Biber (*Capsicum annuum* L.) fidelerinde farklı çinko konsantrasyonlarının total protein, hidrojen peroksit içeriği ve peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi". *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 13 (2), 205.

- Kulakow, P. A., Schwab, A. P. and Banks, M. K. (2000). "Screening plant species for growth on weathered, petroleum hydrocarbon-contaminated sediments". *International Journal of Phytoremediation*, 2 (4), 297-317.
- Kumar, A., Mishra, S. and Chaudhary, M. (2019). "Alleviation of heavy metal stress in *Nyctanthes arbor-tristis* under the treatment of lead". *SN Applied Sciences*, 1(2), 1-8.
- Laghlimi, M., Baghdad, B., El Hadi, H. and Bouabdli, A. (2015). "Phytoremediation mechanisms of heavy metal contaminated soils: a review". *Open journal of Ecology*, 5 (08), 375.
- Lina, H., Budi, W. and Henna, R. S. (2018, December). "Phytoremediation of Lead Contaminated Soils using *Cordyline frucosa* (L) ". In *E3S Web of Conferences* (Vol. 73, p. 05023). EDP Sciences.
- Liu, N., Lin, Z., Guan, L., Gaughan, G. and Lin, G. (2014). "Antioxidant enzymes regulate reactive oxygen species during pod elongation in *Pisum sativum* and *Brassica chinensis*". *PLoS one*, 9 (2), e87588.
- Liu, C., Wang, Y., Zhang, X., Zhang, G. L., Liu, X., Gao, P. and Yao, S. (2022). "Antioxidant response by alfalfa (*Medicago sativa* L.) to Pb pollution—A study to value the feasibility of soil phytoremediation". *Soil and Water Research*, 17 (3), 191-199.
- Lu, N., Li, G., Sun, Y., Wei, Y., He, L. and Li, Y. (2021). "Phytoremediation potential of four native plants in soils contaminated with Lead in a mining area". *Land*, 10 (11), 1129.
- Lukić, N., Kukavica, B., Davidović-Plavšić, B., Hasanagić, D. and Walter, J. (2020). "Plant stress memory is linked to high levels of anti-oxidative enzymes over several weeks". *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104166.
- Ly, P., Wei, Z. M., Yu, Z. M., Zhang, J. Z. and Wang, L. M. (2019). "Heavy metal contamination in soils of greenhouse vegetable production systems in a cold region of China". *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 12 (2), 98– 102. <https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20191202.4306>.

- Lyons-Alcantara, M., Tarazona, J. V. and Mothersill, C. (1996). "The differential effects of cadmium exposure on the growth and survival of primary and established cells from fish and mammals". *Cell biology and toxicology*, 12 (1), 29-38.
- Mahardika, G., Rinanti, A. and Fachrul, M. F. (2018). "Phytoremediation of heavy metal copper (Cu<sup>2+</sup>) by sunflower (*Helianthus annuus* l.). In *IOP*". *Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 106, No. 1, p. 012120). IOP Publishing.
- Malar, S., Shivendra Vikram, S., JC Favas, P. and Perumal, V. (2016). "Lead heavy metal toxicity induced changes on growth and antioxidative enzymes level in water hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]". *Botanical studies*, 55 (1), 1-11.
- Mascher, R., Lippmann, B., Holzinger, S. and Bergmann, H. (2002). "Arsenate toxicity: effects on oxidative stress response molecules and enzymes in red clover plants". *Plant Science*, 163 (5), 961-969.
- Melih, O., Tozlu, E., Kumlay, A. and Pehlivan, M. (2009). "Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri". *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 17 (2), 14-26.
- Mezni, M., Albouchi, A., Bizid, E. and Hamza, M. (2010). "Minerals uptake, organic osmotica contents and water balance in alfalfa under salt stress". *Journal of Phytology*, 2 (11).
- Mildvan, A. S. (1970). "9 Metals in Enzyme Catalysis". *The enzymes*. 2, 445-536.
- Min, S. O. N. G., Wen-jing, X. U., Xiang-yong, P. E. N. G. And Fan-hua, K. O. N. G. (2013). "Effects of exogenous proline on the growth of wheat seedlings under cadmium stress". *Yingyong Shengtai Xuebao*, 24 (1).
- Minibaeva, F. V. And Gordon, L. K. (2003). "Superoxide production and the activity of extracellular peroxidase in plant tissues under stress conditions". *Russian Journal of Plant Physiology*, 50 (3), 411-416.
- Mitton, F. M., Ferreira, J. L. R., Gonzalez, M., Miglioranza, K. S. and Monserrat, J. M. (2016). "Antioxidant responses in soybean and alfalfa plants grown in DDTs contaminated soils: Useful variables for selecting plants for soil phytoremediation?". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 130, 17-21.

- Morsy, M., Nossier, M., Elsebaay, A. E. and Abd-Elrahman, S. (2022). "Phytoremediation of Pb and Cd by Alfalfa (*Medicago sativa* L.): An Applied Study in the Presence of Lettuce Plants (*Lactuca sativa* L.)". *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 30 (1), 163-174.
- Mukhtar, S. A. I. M. A., Bhatti, H. N., Khalid, M., Haq, M. A. U. and Shahzad, S. M. (2010). "Potential of sunflower (*Helianthus annuus* L.) for phytoremediation of nickel (Ni) and lead (Pb) contaminated water". *Pak. J. Bot*, 42 (6), 4017-4026.
- Munzuroglu, O. Ve Geckil, H. (2002). "Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*". *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43 (2), 203-213.
- Muthusaravanan, S., Sivarajasekar, N., Vivek, J. S., Paramasivan, T., Naushad, M., Prakashmaran, J. and Al-Duaij, O. K. (2018). "Phytoremediation of heavy metals: mechanisms, methods and enhancements". *Environmental chemistry letters*, 16 (4), 1339-1359.
- Nahakpam, S. and Shah, K. (2011). "Expression of key antioxidant enzymes under combined effect of heat and cadmium toxicity in growing rice seedlings". *Plant Growth Regulation*, 63 (1), 23-35.
- Nasser, S., Soad, E. and Fatma, E. (2014). "Phytoremediation of lead and cadmium contaminated soils using sunflower plant". *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 10 (1), 122-134.
- Nedjimi, B. (2021). "Phytoremediation: a sustainable environmental technology for heavy metals decontamination". *SN Applied Sciences*, 3 (3), 1-19.
- Nezami, M. T. and Kalantari, M. (2013). "Phytoremediation of heavy metals (lead and zinc) by three plant species; grass pea (*Lathyrus sativus*), Alfalfa (*Medicago sativa*), and Vetch flower cluster (*Vicia villosa*), and the role of Mycorrhiza (*Glomus intraradices*)". *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 3 (6), 460-464.
- Ningyu, L. I., Bin, G. U. O., Hua, L. I., Qinglin, F. U., Renwei, F. E. N. G. and Yongzhen, D. I. N. G. (2016). "Effects of double harvesting on heavy metal uptake by six forage species and the potential for phytoextraction in field". *Pedosphere*, 26 (5), 717-724.

- Norouzi, S. and Khademi, H. (2010). “Ability of alfalfa (*Medicago sativa* L.) to take up potassium from different micaceous minerals and consequent vermiculitization”. *Plant and soil*, 328 (1), 83-93.
- Palutoglu, M., Akgul, B., Suyarko, V., Yakovenko, M., Kryuchenko, N. and Sasmaz, A. (2018). “Phytoremediation of cadmium by native plants grown on mining soil”. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 100 (2), 293-297.
- Panneerselvam, B. and Priya K, S. (2021). “Phytoremediation potential of water hyacinth in heavy metal removal in chromium and lead contaminated water”. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1-16.
- Parsamanesh, S. and Sadeghi, H. (2019). “The phytoremediation effect of *Medicago scutellata* (L.) Mill. on soils under Cd–water stress: a good choice for contaminated dry lands”. *Environmental Science and Pollution Research*, 26 (28), 29065-29073.
- Patra, M., Bhowmik, N., Bandopadhyay, B. and Sharma, A. (2004). “Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance”. *Environmental and Experimental Botany*, 52 (3), 199-223.
- Peralta, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., Tiemann, K. J., Gomez, E., Arteaga, S., Rascon, E. and Parsons, J. G. (2001). “Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.) ”. *Bulletin of Environmental Contamination and toxicology*, 66 (6), 727-734.
- Picchi, C., Giorgetti, L., Morelli, E., Landi, M., Rosellini, I., Grifoni, M. and Barbafieri, M. (2022). “*Cannabis sativa* L. and *Brassica juncea* L. grown on arsenic-contaminated industrial soil: potentiality and limitation for phytoremediation”. *Environmental Science and Pollution Research*, 29 (11), 15983-15998.
- Prochazkova, D. And Wilhelmova, N. (2007). “Leaf senescence and activities of the antioxidant enzymes”. *Biologia plantarum*, 51 (3), 401-406.
- Rad, M. Y. and Ghasemi, H. (2015). “Phytoremediation ability and oxidative enzymes activity of Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.) in the presence of nickel”. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 5 (4).



- Rajput, V. D., Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F. R., Meena, M. and Mandzhieva, S. (2021). "Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress". *Biology*, 10 (4), 267.
- Rascio, N. and Navari-Izzo, F. (2011). "Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? ". *Plant science*, 180 (2), 169-181.
- Raskin, I., Kumar, P. N., Dushenkov, S. and Salt, D. E. (1994). "Bioconcentration of heavy metals by plants". *Current Opinion in biotechnology*, 5 (3), 285-290.
- Ravet, K. and Pilon, M. (2013). "Copper and iron homeostasis in plants: the challenges of oxidative stress". *Antioxidants & redox signaling*, 19 (9), 919-932.
- Remacle, J., Michiels, C. and Raes, M. (1992). "The importance of antioxidant enzymes in cellular aging and degeneration". *Free radicals and aging*, 99-108.
- Rui, H., Chen, C., Zhang, X., Shen, Z. and Zhang, F. (2016). "Cd-induced oxidative stress and lignification in the roots of two *Vicia sativa* L. varieties with different Cd tolerances". *Journal of Hazardous Materials*, 301, 304-313.
- Sairam, R. K., Vasanthan, B. and Arora, A. (2011). "Calcium regulates *Gladiolus* flower senescence by influencing antioxidative enzymes activity". *Acta physiologiae plantarum*, 33 (5), 1897-1904.
- Sabrine, H., Sara, H., Mohamed, B., Luis, E. H. and Hamadi, B. (2013). "Modulation of antioxidant responses of *Medicago sativa* under cadmium and copper stress". *African Journal of Agricultural Research*, 8 (19), 2297-2306.
- Sarma, H. (2011). "Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology". *Journal of Environmental Science and Technology*, 4 (2), 118-138.
- Seven, A. ve Candan, G. (1996). "Antioksidan savunma sistemleri". *Cerrahpaşa J.* 27(1), 41-50.
- Seven, T., Büşra, C., Darende, B. N. ve Sevda, O. (2018). "Hava ve toprakta ağır metal kirliliği". *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi*, 1 (2), 91-103.

- Shah, V. And Daverey, A. (2021). “ Effects of sophorolipids augmentation on the plant growth and phytoremediation of heavy metal contaminated soil”. *Journal of Cleaner Production*, 280, 124406.
- Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. and Avudainayagam, S. (2005). “Chromium toxicity in plants”. *Environment international*, 31(5), 739-753.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A. and Zhao, C. X. (2008). “Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants”. *Comptes rendus biologiques*, 331 (3), 215-225.
- Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005). “Lead toxicity in plants”. *Brazilian journal of plant physiology*, 17, 35-52.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. and Pessarakli, M. (2012). “Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions”. *Journal of botany*, <https://doi.org/10.1155/2012/217037>.
- Sharma, I. and Ahmad, P. (2014). “Catalase: a versatile antioxidant in plants”. In *Oxidative damage to plants*, 131-148.
- Shim, I. S., Momose, Y., Yamamoto, A., Kim, D. W. and Usui, K. (2003). “Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants”. *Plant Growth Regulation*, 39 (3), 285-292.
- Shulaev, V., Cortes, D., Miller, G. And Mittler, R. (2008). “Metabolomics for plant stress response”. *Physiologia plantarum*, 132 (2), 199-208.
- Singh, R., Gautam, N., Mishra, A. and Gupta, R. (2011). “Heavy metals and living systems: An overview”. *Indian journal of pharmacology*, 43 (3), 246.
- Song, Y., Jin, L. and Wang, X. (2017). “Cadmium absorption and transportation pathways in plants”. *International journal of phytoremediation*, 19 (2), 133-141.
- Stravinskienė, V. and Račaitė, M. (2014). “ Impact of cadmium and zinc on the growth of white clover (*Trifolium repens* L.) shoots and roots”. *Pol J Environ Stud*, 23 (4), 1355-1359.
- Taghizadeh, Z. (2022). “The effects of gibberellic acid on certain physiological parameters in alfalfa (*Medicago sativa* L.) under cadmium stress”. *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 10.30495/IPER.2022.690252.

- Tangahu, B. V., Sheikh Abdullah, S. R., Basri, H., Idris, M., Anuar, N. and Mukhlisin, M. (2011). "A review on heavy metals (As, Pb, and Hg) uptake by plants through phytoremediation". *International Journal of Chemical Engineering*, <https://doi.org/10.1155/2011/939161>.
- Tauqeer, H. M., Ali, S., Rizwan, M., Ali, Q., Saeed, R., Iftikhar, U. and Abbasi, G. H. (2016). "Phytoremediation of heavy metals by *Alternanthera bettzickiana*: growth and physiological response". *Ecotoxicology and environmental safety*, 126, 138-146.
- Thompson, D., Bush, E. and Kirk-Ballard, H. (2021). "Lead phytoremediation in contaminated soils using ornamental landscape plants". *Journal of Geoscience and Environment Protection*, 9 (5), 152-164.
- Varma, S. (2021). "Heavy metals stress and defense strategies in plants: An overview". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10 (1), 608-614.
- van der Ent, A., Przybyłowicz, W. J., de Jonge, M. D., Harris, H. H., Ryan, C. G., Tylko, G. and Mesjasz-Przybyłowicz, J. (2018). "X-ray elemental mapping techniques for elucidating the ecophysiology of hyperaccumulator plants". *New Phytologist*, 218 (2), 432-452.
- Xiong, P. P., He, C. Q., Kokyo, O. H., Chen, X., Liang, X., Liu, X. and Shi, Z. C. (2018). "Medicago sativa L. enhances the phytoextraction of cadmium and zinc by Ricinus communis L. on contaminated land in situ". *Ecological Engineering*, 116, 61-66.
- Yanqun, Z., Yuan, L., Schwartz, C., Langlade, L. and Fan, L. (2004). "Accumulation of Pb, Cd, Cu and Zn in plants and hyperaccumulator choice in Lanping lead-zinc mine area China". *Environment International*, 30 (4), 567-576.
- Yoshida, K., Kaothien, P., Matsui, T., Kawaoka, A. and Shinmyo, A. (2003). "Molecular biology and application of plant peroxidase genes". *Applied microbiology and Biotechnology*, 60 (6), 665-670.
- Zhang, F., Zhang, H., Xia, Y., Wang, G., Xu, L. and Shen, Z. (2011). "Exogenous application of salicylic acid alleviates cadmium toxicity and reduces hydrogen peroxide accumulation in root apoplasts of *Phaseolus aureus* and *Vicia sativa*". *Plant Cell Reports*, 30 (8), 1475-1483.

- Zhang, S., Wang, L., Zhao, R., Yu, W., Li, R., Li, Y. and Shen, L. (2018). “Knockout of SIMAPK3 reduced disease resistance to *Botrytis cinerea* in tomato plants”. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66 (34), 8949-8956.
- Zhou, Z. S., Wang, S. J. and Yang, Z. M. (2008). “Biological detection and analysis of mercury toxicity to alfalfa (*Medicago sativa*) plants”. *Chemosphere*, 70 (8), 1500-1509.
- Zhu, T., Li, L., Duan, Q., Liu, X. and Chen, M. (2021). “Progress in our understanding of plant responses to the stress of heavy metal cadmium”. *Plant Signaling & Behavior*, 16 (1), 1836884.

