

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

BAKIRI TOLERE EDEN VE BİRİKTİREN
BUĞDAY(*Triticum aestivum* L.)
VARYETELERİNİN SEÇİLMESİ VE
GELİŞTİRİLMESİNE YÖNELİK ÇALIŞMALAR

Faruk YELEN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

98263

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. İ. Yavuz SEZEN
Prof. Dr. Abdülrezzak MEMON

GEBZE
2000

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANLARI MERKEZİ

.....Faruk YELEN.....' ın, tez çalışması, G.Y.T.E. Mühendislik
ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 29.06.2000..... tarih ve
.....2000.115..... sayılı kararıyla oluşturulan Jüri tarafından
.....Diyolet.....Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi
olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE : Prof. Dr. İ.Yavuz SEZEN
(Tez Danışmanı)

Yavuz Sezen

ÜYE : Prof. Dr. Abdülkadir AKÇİN

Abdülkadir Akçin

ÜYE : Yrd. Doç. Dr. Aziz TANRISEVEN

A. Tanriseven

ONAY

G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nu
.....18.07.2000..... tarih ve 2000.116..... sayılı kararı

İmza / mühür

İmza

ÖZET

Teknolojik gelişmelerin, sanayileşmenin ve sosyal yaşamın insanlığa kazandırdığı sayısız faydaların yanısıra istenmeyen ve ekolojik dengeyi bozan etkilerinden biri olan ağır metal kirliliği her geçen gün artmaktadır. Bu oluşum önemli bir çevresel kirliliktir ve çok küçük konsantrasyonlarda bile toksiktir. Hava, su ve toprakların bu şekilde kirlenmesi temel çevresel ve insan sağlığı problemi olarak çözüm beklemektedir. Bu konudaki klasik metotlar yetersiz ve pahalıdır. Bu çalışmada ucuz verimli biyolojik çözümler hedeflenmiştir.

Bu doğrultuda çevre kirliliğinin önemli bir kısmını oluşturan ağır metaller ve bunların etkileri incelendikten sonra, çevredeki yaygınlıkları düşünülerek, bakırla çalışmalarımız yoğunlaşmış ve bu kirliliğin temizlenmesi için çözüm üretecek durumlar araştırılmıştır. Buna yönelik olarak ağır metalleri tolere eden ve biriktiren bitkilerin belirlenmesi ve geliştirilmesi konusundan yola çıkarak ülkemizde en çok yetiştirilen ve deneysel tekrar bakımından gerçekleştirilmesi en uygun bitkilerden olan buğday türünün ırkları arasında ağır metallere karşı dirençlilik ve biriktirme oranları hakkında araştırmalar yapılmıştır. Dirençliler, hassaslar ve en çok biriktirenler tespit edilmeye çalışılmıştır. Mevcut çalışmalar ve bulgular dikkate alınarak bu bitkilerin sahip oldukları özelliklerin çevresel kirliliğe faydalı olabileceği düşünülerek, yapılabilecek çalışmalar ve metotlar hakkında bilgiler toplanmış, ve bunların sonuçlandırılmasına çalışılmıştır.

Ülkemizde yetiştirilen söz konusu buğday ırkları invitro ortamda çimlendirilerek su kültüründe ortalama 5'er haftalık yetiştirme periyotlarıyla, çeşitli konsantrasyonlarda bakır ağır metaline tabi tutulmuş, bakırın etkileri gözlenmiş ve biriktirdikleri metal oranları atomik absorpsiyon cihazında ölçülmüş sonuçlar değerlendirilmiştir.

Araştırma sonuçlarımıza göre çevre kirliliğine karşı iyi bir mücadele ve iyileştirme şekli olarak bitkilerin kullanılabileceği ve bunların yeterli imkan ve zaman içerisinde biyoteknolojik olarak daha da etkili yapılandırılmaları sokulabileceği anlaşılmıştır.

SUMMARY

Beside all the benefits that the technological developments, the industrialization, and the social life provided human being, the heavy metal pollution which is one of their effects that destroys the ecological balance is increasing day by day. This is a serious environmental pollution and poisonous even in little amounts of concentrations. Pollution of air, water, and soil by this way is not only an environmental problem but also a health problem which threatens human beings which is to be solved. Classical methods used today in order to solve this problem is both expensive and inadequate.

In this study biological methods which are cheap and effective are aimed. To achieve this aim heavy metals and their effects which causes a great deal of the environmental pollution is investigated. And then taking into consideration their being widespread in the nature our studies with copper gained density. For this aim, moving from the point of determining and developing the plants that can tolerate and accumulate heavy metals, races of wheat, which is suitable in terms of experimental recurrence and widely grown in our country, were investigated in terms of ratios of resistance and accumulations. Those of which are most sensitive, most resistant, and most accumulative were tried to be determined. Taking the studies and findings into consideration, the features that these plants posses were thought to be beneficial in remedying the environmental pollution. Therefore data were collected about the studies and methods that can be applied and they were tried to be concluded.

The races of wheat that is grown in our country, which were mentioned above were got sprouted in invitro environment. These plants were exposed to different concentrations of copper, which is a heavy metal, in hydroponic in growing periods of five week and the effects of copper were observed. The ratios of metal that these plants accumulated were measured by using atomic absorption apparatus and the results were evaluated.

It is revealed as a result of our research that plants could be used in fighting against the environmental pollution and these plants could be developed so that they could become biotechnologicaly more effective provided that there are enough opportunity and time.

TEŞEKKÜR



Tez konumun belirlenmesinden, tamamlanmasına kadar her türlü yardımı ve desteği esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. İ. Yavuz SEZEN ve Prof. Dr. Abdülrezzak MEMON' a ayrıca konumla ilgili olarak birikimlerinden faydalandığımız Prof. Dr. Adem KILIÇ' a atomik absorpsiyon çalışmalarımızdaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Salim ÖNCEL' e ve ihtiyaç duyduğumuz zaman yardımlarını esirgemeyen GYTE akademisyen ve personeline saygı ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca tez çalışmalarım için laboratuvarlarını açan TÜBİTAK MAM Gen Mühendisliği Ve Biyoteknoloji Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Engin BERMEK'e, diğer yetkililerine, destek veren araştırmacı ve personele, özellikle araştırmacılar Diğdem AKTOPRAKLIGİL, Aylin ÖZDEMİR, Anastassia VERTİL, teknisyen Ömer KAÇAR' a Tohum Sertifikasyon Merkezi yetkililerine teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	İV
SUMMARY	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
TABLolar DİZİNİ	XI
GRAFİKLER DİZİNİ	XII
1.GİRİŞ	1
2.KONUyla İLGİLİ YAYINLAR VE ÇALIŞMALAR	3
2.1.Genel Bilgiler	3
2.1.1.Çevre Kirliliği	3
2.1.2.Çevre Kirlenmesinin Kaynakları	6
2.1.3.Ağır Metal Kaynaklı Olarak Çevre Kirliliği Ve Etkileri	7
2.1.4.Metal Toksiklenmesi ve Bitkilere Etkisi	9
2.1.5.Metal Fitotoksitlenmesinin Biyokimyası Ve Fizyolojisi	13
2.1.6.Ağır Metallere Karşı Dayanıklılıkta Bitkilerin Farklılık Göstermesi	14
2.1.7.Metale Karşı Duyarlılığın Fizyolojik ve Biyokimyasal Mekanizması	16
2.1.8.Metallere Duyarlılığın ve Metal Tutmanın (Biriktirmenin) Moleküler Mekanizması	20
3.MATERYAL METOT	27
3.1.Materyal	27
3.1.1.Tohumların Temini	27
3.1.2.Su kültürü Çözeltisi (Hoagland Solüsyonu)	27
3.1.3.Diğer Malzemeler	29
3.2.Metot	29
3.2.1.Hoagland Çözeltisinin Hazırlanması	29
3.2.3.Denenecek Buğday Varyetelerinin Çimlendirilmesi	31

3.2.4.Fidelerin Su Kùltürüne Transferi ve Ağır Metal Derecelerinin Uygulanması	32
3.3.Buğday Varyetelerinin Farklı Bakır Konsantrasyon Derecelerine Tepkileri	35
3.4.Örneklerdeki Cu Konsantrasyonunun Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre (AAS) Cihazında Ölçümü	43
3.4.1.AAS Cihazı ve Çalışma İlkeleri	43
3.4.2.Bitki Örneklerinin Hazırlanması	45
4.BULGULAR	47
4.1.Bitki Fizyolojisi ve Bakır	47
4.2. Aas Cihazından Alınan Bulguların Değerlendirilmesi	50
5. TARTIŞMALAR	58
6.SONUÇ	60
7.ÖNERİLER	61
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ	67

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

WHO: Dünya Sağlık Teşkilatı

SH: Sülfhidril

MT: Metallothionein (*Metallothioneins*)

gsh: Glutathionein (*Glutathione*)

PC: *Phytochelatins*

mRNA: Mesajcı Ribo Nükleik Asit

EDTA: Etilen Diamin Tetra Asetikası

ppm: *Parts Per Million* mg/kg

DNA: Deoksi Ribonükleik Asit

GYTE: Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü

AAS: Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre

e: Elektron

K: Hesaplanan Konsantrasyon (ppm: Mikro /gr/gr)

K_a: Aletsel Olarak Ölçülmüş Konsantrasyon. (Mikro / l)

V: Örnek Çözelti Hacmi (lt)

m: Örnek Kütlesi (gr).

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Biyosfer ve Madde Döngüsü.	4
2.2. Cd ⁺² İyonunun Bitki Hücresi İçerisinde Vakuole Taşınması	26
3.1. Su Kültürü (Hydroponic) Sistemi	30
3.2. Buğday Varyetesinin Çimlenme Aşamaları.	33
3.3. Su Kültürüne Transfer Edilmiş Bir Varyetenin Deney Sistematiği Olarak Görüntüsü	34
3.4. 8 Varyetenin Deney Görüntüsü	34
3.5. Bir Varyetenin Deneme Sonunda Bakırdan Etkilenmesinin Temsili Resmi.	37
3.6. Seçilmiş 3 Varyetenin Topluca Fotoğrafı.	38
3.7. Seçilmiş 3 Varyetenin 200 ppm CuCl ₂ 'den Etkilenmesinin Görünüşü	39
3.8. Seçilmiş 3 Varyetenin 100 ppm . CuCl ₂ 'den Etkilenmesinin Görünüşü	40
3.9. Seçilmiş 3 Varyetenin 50 ppm CuCl ₂ 'den Etkilenmesinin Görünüşü	41
3.10. Seçilmiş 3 Varyetenin 0 ppm CuCl ₂ 'den Etkilenmesinin Görünüşü	42
4.1. AAS Cihazının Resmi.	51

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Denemede Kullanılan Buğday Varyetelerinin İsimleri, Yetiştirildiği Bölge Ve Temin Edilebilecek Yerleri.	27
4.1. Aşama Deneme Sonuçlarının Topluca Tablosu.	51
4.2. II. Aşama Denemelerinde Seçilmiş 3 Varyetelerinin Sonuçlarının Tablosu.	54
4.3. II. Aşama Denemelerinde Seçilmiş 3 Varyetelerinin Sonuçlarının Farklı Diziliş Tablosu.	55

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik

Sayfa

- | | |
|---|----|
| 4.1. 12 Varyetenin Toplu Sonuçlarının Grafiği. | 52 |
| 4.2. 12 Varyeteden seçilmiş 3 Varyetenin I. Aşama Deney Sonuçlarını
Grafiği. | 52 |
| 4.3. II. Aşama 1. Deney Sonuçlarının Grafiği. | 56 |
| 4.4. II. Aşama 2. Deney Sonuçlarının Grafiği. | 56 |
| 4.5. II. Aşama 3. Deney Sonuçlarının Grafiği. | 57 |



1.GİRİŞ

Yaklaşık olarak bir asırdır dünya gündeminde olan çevre kirliliği yaşadığımız şu günlerde insan toplumlarını ve diğer canlıları tehdit eden en önemli tehlikelerden biri haline gelmiştir. Bu durum bilim ve teknoloji birikimlerinin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımları sonucu oluşmaktadır. Bu araştırmada ekolojik dengeyi tehdit eden oluşumların iyileştirmesine yönelik çalışmalar hedeflenmiştir.

Bu konudaki çalışmalar sosyolojik değer yargıları da dikkate alınarak yapılmalı ve söz konusu faktörlerin insan hayatına kazandırdığı güzellikler, kolaylıklar ve yeni imkanlara karşı körü körüne bir karşıtlık olarak yorumlanmasına izin vermeyecek tarzlarda çalışmalar yürütülerek kamuoyu desteği sağlanmalıdır. Ekolojik kirliliğe karşı en önemli mücadele biçimi yine ekolojik donelerin kullanılmasıyla yapılabilecek bir karşı koyma biçimi daha etkili olacağı anlayışı ile bu çalışmanın içeriği belirlenmiştir. Çevre kirliliği biçimlerinden olan ağır metal atıkları ve artıkları yerküremizdeki canlılığı tehdit eden en önemli kirliliklerdendir. Havayı ve çevreyi kirleten en önemli ağır metaller şunlardır: Hg, As, Cd, Pb, Be, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Sb, Se, V, Zn, Zr' dir. Çok geniş bir açıdan bakılırsa her metal ve metalik bileşik endüstride bir endüstri zehiri olarak ortaya çıkar. Bütün canlı organizmalar kendi hayat döngülerini tamamlamak için, düşük konsantrasyonlarda metalleri ihtiyaç duyarlar. Fakat bu metallerin konsantrasyonu fazla olursa toksik etki gösterebilirler (Memon ve ark. 1980). Geçen yüzyıl boyunca sınırlandırılmamış madencilik, imalat ve atık çalışmaları çevreye çok yüksek miktarda ağır metal atılmasına sebep olmuştur. Bazı bitki türleri ağır metal biriktiren olarak adlandırılırlar ve topraktan kendi kuru ağırlıklarının % 3'ü kadar metal toplayabilirler (Memon ve ark. 1981,1983,Memon ve yatazawa 1988).Bu bitkilerin kendine özgü olan topraktan metalleri toplayabilme özellikleri kirlenmiş bölgelerin temizlenmesinde önem taşımaktadır (Memon ve Yatazawa 1988). Ancak bu tip fonksiyon gösteren bitkilerde metal alım hızı düşük olduğundan kirlenmiş bölgeleri temizlemede bu sistem çok etkili değildir. Bu nedenle ağır metalleri toplama yeteneğini artırmak amacıyla metal toleransından ve toplanmasından sorumlu genleri bulmak ve başka bir proje kapsamında bu genleri metal biriktiren bitkiler içinde yüksek düzeyde eksprese ederek "süper metal toplayan" bitkiler meydana getirmek amaçlanmıştır.

Ancak kimyasal metaller mikroorganizmalar tarafından parçalanmadığından kirli bölgelerin temizlenmesinde bu açıdan sınırlı uygulamaya sahiptirler. Çevredeki belirli elementleri toplayan solardriver pompaları ile kıyaslandığında bu özellikteki bitkiler çevre temizliğinde kullanıldığında daha ekonomik ve daha etkin bir sistem olacaktır. Bütün bitkiler kendileri için gerekli olan bu metalleri toplayabilme yeteneğine sahiptirler. Bu metaller Fe, Mn, Cu ve Zn' dir. Bazı bitki türleri biyolojik görevlerini bilmediğimiz ağır metalleri, Cd, Cr, Pb, Co, Se ve Hg (Brooks ve ark. 1978, yine Brooks ve ark. 1979, Baker ve Brooks 1989) toplama yeteneğine sahiptir. Fakat bu ağır metallerin fazla miktarda toplanması bu bitkiler için toksik olabilir. Bazı bitkilerde metallere karşı dirençli olma özelliği mevcut iken diğer bazı türler bu metalleri normal olmayan seviyelere kadar bünyelerinde toplayabilirler. Hatta bazı bitkilerde bu iki özellik beraberce bulunabilir. Mn ve Cu (Memon ve ark. 1979) Co ve Ni (Memon ve ark. 1980a) Zn ve Cd (Memon ve ark. 1980b) toplayıcı bitkiler belirlenmiştir. Bu toplayıcı bitkilerin çevre temizlenmesinde kullanılabileceği kanısı son zamanlarda dikkat çekmiştir (Memon ve Yatazawa 1982, Cunningham ve Berti 1993).

Çalışmış olduğumuz buğday ırkları ülkemizin endüstriyel potansiyelinin en çok yoğunlaştığı Marmara, Ege bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilen bitki türleridir. Deneysel tekrarının kolaylığı, yetiştirme alanlarının yaygınlığı ve endüstriyel yoğunluğunun olduğu bölgelerde yetiştiriliyor olmalarından dolayı çalışmalarımız bu bitkilerle olmuştur. Ayrıca maliyetinin de uygunluğu ayrı bir avantajdır.

İn vitro ortamda çimlendirme ve yetiştirme süreci içerisinde örneklere çeşitli konsantrasyonlarda bir ağır metal olan Cu verilmiş ve örnekler üzerindeki etkileri gözlenmiştir. Bu gözlemler sonucunda dirençli ve hassas ırklar belirlenmiştir. Bu ırkların ve diğer ırkların kök ve gövdeleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile ölçülmüş kapasitelere göre sıralanmışlardır.

Çevre kirliliği için kullanılabilecek ırkların kapasitesini artıracak uygulamalar araştırılmış, konu ile ilgili taramalar sonucunda elde edilen bilgiler dikkate alınarak başka bir proje kapsamında yapılabilecekler ortaya konulmuştur.

2. KONU İLE İLGİLİ YAYINLAR VE ÇALIŞMALAR

2.1. Genel Bilgiler

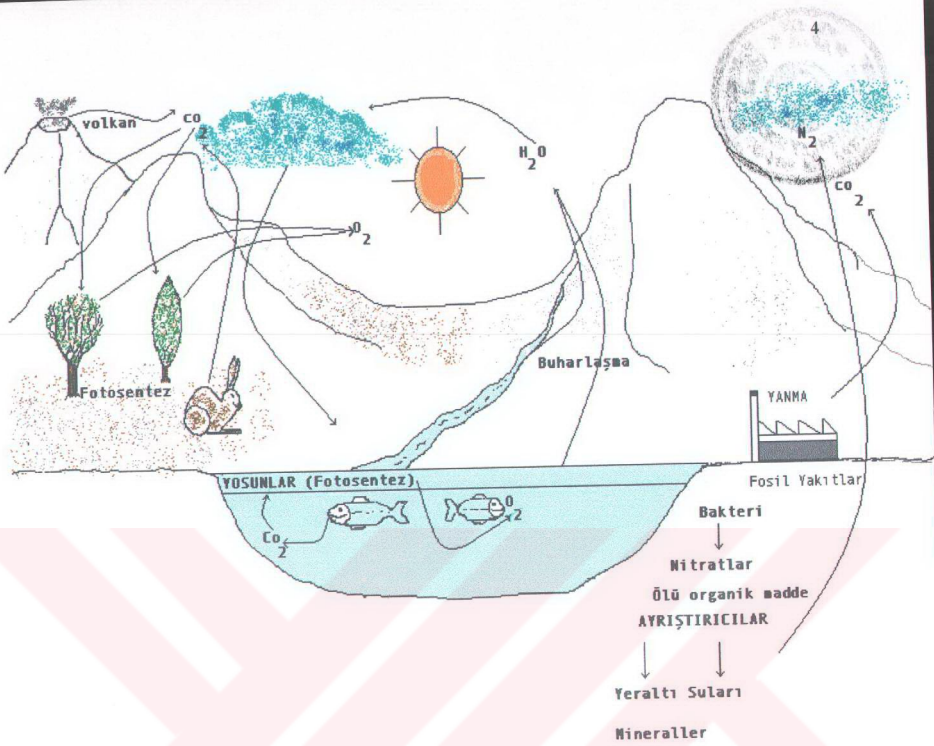
2.1.1. Çevre Kirliliği

“Birbirinden ayrılmaz bir şekilde bağlı ve biri diğerine sürekli tesir eden toprak, hava ve su, yaşadığımız çevreyi meydana getirir. Evrenin bir parçasının herhangi bir sebeple bozulması diğer parçalarını da aynı şekilde etkiler. Canlıların yaşadığı ortamı teşkil eden biyosferdeki elementler ve bunların birbirlerine tesirleri Şekil.2.1.’ de gösterilmiştir.

Canlı varlıklara tesir eden dış tesirlerin tümüne çevre adı verilir. Hava, su, toprak, bitki örtüsü, hayvanlar ve yaşadığımız gezegen üzerinde veya dışında olan, insanları etkileyen her türlü nesne çevre kavramının içine dahildir. Canlı varlıklar birey olarak sınırlıdır. Buna rağmen çevre için kesin bir sınır çizmek mümkün değildir. Pratik maksatlar için çevre denildiğinde biyosfer anlaşılır. Bu yerküresinin yüzeyi ve yeryüzünü çevreleyen atmosferden oluşur.

Bütün insanların kirlenmemiş bir ortamda (hava ve toprak) yaşama arzuları doğuştan getirdikleri bir özelliktir. Toplulukların bu arzuları doğrultusunda temiz bir çevrede faaliyet göstermeleri en tabii haklarıdır ve kimsenin dikkatsizlik, ihmal veya kasıtlı olarak bu ortamı bozmasına izin verilmemelidir.

Kirlenmenin yüzyıl öncesinden farkına varıldığı ve çözümü için tariflenmesine çalışıldığı literatürde kayıt edilmiştir. Bu sıralarda kirlenme çok kötü ve uğursuz bir olay olarak ele alındığı için verilen tariflerde bir idealden öteye geçememiştir. Zira kirlenmenin tamamen ortadan kaldırılması isteniyordu; bu ise günümüzün modern medeniyetinin elimine edilmesi demektir. Bu mümkün değildir hiç kimse modern teknolojinin sağladığı konfordan vazgeçmek istemez. Bundan dolayı yapılacak tariflerin pratik değeri olması için daha gerçekçi olması gerekir.



Şekil.2.1.Canlıların Yaşadığı Ortam Biyosfer ve Madde Döngüsü.

Çevre kirlenmesini farklı yönlerden tarif edilmesi mümkündür. Her bir özel durum için ayrı bir tarif yapılması gerekli ve önemli olabilir. Çeşitli ilim ve meslek dalları çevre kirlenmesi ile doğrudan ilgilidir. Bunun için farklı meslek grupları kendi ihtiyaçlarına cevap verecek tarzda çevre kirlenmesinin tarifini yapmışlardır. Bu tariflerden bazıları aşağıda verilmiştir.

Ekolojistler (organizmaların çevre ve diğer organizmalarla olan ilgilerini araştıranlar) geniş bir görüş açısı ile sistemin dengesini bozan her şeye kirlenme gözü ile bakmışlardır. Tipik bir örnek olmak üzere bu daldaki ilim adamları su

kirlenmesini “su ortamında yaşayan canlı türlerinde azalma meydana getiren ve bazı türleri kaybolması ile sistemin dengesini bozan her şey” veya “bir su yatağındaki organizmalara kötü yönde tesir eden herhangi bir maddenin bu su yatağına girmesi” şeklinde tarif edilmektedir. Ekolojistler su yataklarının insanlara olan doğrudan faydalarından çok insan faaliyetleri veya tabii olaylar gibi dış tesirlerin su yataklarından meydana getirdikleri olumsuz neticelerle uğraştıklarından bu tarifler onlar için uygun olabilir. Aslında bu tarifler pratik olarak da küçümsenemez, eğer insanlar uzun vadede günümüz medeniyetinin ekolojik denge üzerindeki kötü etkilerini azaltıp ekosistem ile bağdaştıramazlarsa mücadelenin insanlar aleyhine kaybedeceği açıktır.

Bir diğer grup tarafından hava kirlenmesi “toz, duman, gaz, koku, buhar, is ve sis gibi kirleticilerden bir veya bir kaçının miktar veya karakter itibarı ile herhangi bir zaman aralığında atmosferde bulunması ve bu süre zarfında insan, hayvan, bitki hayatını veya eşyaların kullanılmasını tehlikeye sokması veya hayat tarzını tehdit ederek kabul edilemeyecek tesirler meydana getirmesi” olarak tarif edilmiştir. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) hava kirlenmesini “insanlara, bitkilere, hayvanlara ve eşyalara zarar veren her şey” olarak tanımlamaktadır. Bununla beraber: Çevre kirlenmesinde üzerinde münakaşa edilen bir başka husus da kirlenmiş kaynaklardan yeni kullanıcıların istifade etmek istemeleri halinde ortaya çıkan bir durumdur. Sınırlı bulunan bir kaynağın yeni kimseler tarafından kullanılması ilave masrafı gerektirecek veya daha önce kullananlar tarafından fazla kirlendiği için belki de hiç kullanılmayacaktır.

Görülüyor ki kirlenme hakkında çeşitli görüşler ve kirlenmenin uzun ve kısa vadedeki tesirleri üzerinde bir görüş birliğine varılamamıştır. Bundan dolayı bazı kimseler tarafından çevre kirlenmesi ve kontrolüne yeteri kadar önem verilmediği söylenirken bazı sanayi kuruluşlarınca ifade edildiği gibi pis su deşarjları için idareci ve yetkililerin çok katı davrandıkları iddiaların sebepleri açık bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Bütün bunlardan da anlaşılacağı gibi herkesi tatmin edecek bir çevre kirlenmesi tarifi vermek mümkün değildir. Aslında buna gerek yoktur ” (Karpuzcu 91).

2.1.2. Çevre Kirlenmesinin Kaynakları

“İlk insanlar bütün zamanlarını, yaşayabilmek için yiyecek ve barınak teminine harcamışlardır. Çiftçilik ve avcılığın geliştiği çağlarda insanoğlu zamanının tamamını temel ihtiyaçlar için harcayıp, bir kısmını ihtisaslaşmaya ayırabilmiştir. Böylece ilk meslek grupları doğmaya başlamıştır. Çeşitli mesleklerin ortaya çıkması ve iş bölümünün artmasıyla insanlar daha iyi bir hayat sürmeye başlamışlardır. Bunun çevre kirlenmesi bakımından iki tesiri olmuştur. Birincisi, dünya nüfusunun artması, ikincisi ise, fert başına tüketilen maddelerin fazlalaşmasıdır.

16. yy.a kadar insanlar, gerek gıda maddeleri ve diğer ihtiyaç maddelerinin üretiminde ve gerekse hastalıkların kontrol edilmesinde kullanılacak bilgi ve imkanlara sahip değildi; bunun için salgın hastalıklar ve büyük kıtlıklar nüfus artışını sınırlandırıyordu. Fakat sanayi inkılabı ve yeni ilaçların icadıyla birlikte dünya nüfusu hızlı bir şekilde artmaya başladı. Neticede insan faaliyetleri sonucu ortaya çıkan kirleticilerin cins ve miktarı artarak çeşitli şekillerde çevreye verilmeye başlandı. Bu kirleticiler, çevrenin tabii yapısını ve ekolojik dengeyi bozdu veya değiştirdi. Bununla beraber dünya nüfусundaki artış, çevredeki tahribatın tek sorumlusu değildir. Ekonomik bakımdan gelişmiş ülkelerde son 20-30 senelik zaman zarfında gerek mamullerin ve gerekse tabii kaynakların kullanımı son derece artmıştır. Bir bakıma bugün pek çok ülkedeki çevre kirlenmesi aşırı tüketimden kaynaklanmaktadır. Nüfus artışının çevre kirlenmesi ve kaynak tüketimindeki payı sadece %10 mertebesinde-dir. Dünya gelirinin %75'inin dünya nüfusunun %25'i tarafından kullanılmakta olduğu düşünülürse, çevre kirlenmesinin nüfus artışından ziyade tüketimin artmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Tüketimdeki bu aşırılık, kaynakların bitişine kadar son bulmayacağına benzemektedir. Ancak bunun kabul edilmesi de mümkün değildir. Bir çare olarak tüketimdeki alışkanlıkların değiştirilmesi teklif edilebilir. Bugüne kadar tabii kaynakların kullanılmasına bir sınır konmamıştır ve tüketimden dolayı da kimse bir şey ödememektedir. Dolayısıyla buna bir çözüm aranmalıdır. Çevre kirlenmesinin tarifinin zor olmasına rağmen yaşadığımız çevreyi sürekli olarak bozma yolunda faaliyet gösterdiğimiz apaçık ortadadır. Bunun için nüfus artışının ve aşırı tüketimin kontrol altına alınması, kaynakların daha iyi ve tekrar kullanma imkanlarının

geliştirilmesi gerekmektedir. Bütün insanların, dünyamız tamamen elden çıkmadan, çevreyi temiz tutma ve koruma ilkesi etrafında birleşmeleri gereklidir” (Karpuzcu 91).

Çevre kirliliği çok boyutlu bir oluşum olarak karşımıza çıkmaktadır. Hava, su ve karalar olmak üzere çok çeşitli kirleticilerle kirlenmektedir. Suların ve toprakların toksik metallerle kirlenmesi önde gelen çevre kirliliği problemlerindendir ve bu kirlenmenin en önemli kaynakları fosil yakıtlarının yanması, maden işlemleri, belediye çöplükleri, gübreler, tarım ilaçları ve kanalizasyonlardır (Memon ve ark. 1980a, 1980b, Kabata-Pendias ve Pendias 1989). Toprağın atık su bölgelerinin ve dip sularının toksik metal kirlenmesi insan sağlığı ve çevre açısından önemli bir problemdir. Bu problem etkili ve maliyeti uygun olacak bir teknolojik çözüm beklemektedir. Son zamanlarda kirliliği azaltmak için mikroorganizmaların biyolojik temizleme aracı olarak kullanılması bir çok çalışmada dikkat çekmektedir (Edgington 1994).

2.1.3. Ağır Metal Kaynaklı Olarak Çevre Kirliliği ve Etkileri

“Ağır metaller veya diğer zehirli maddelerden bir veya birkaçını ihtiva eden kullanılmış suların alıcı sulara verilmesi, bu su ortamındaki organizmalar için zehirleyici tesir yapar ve ortamdaki canlı hayatını tehlikeye sokar” (Karpuzcu 1991).

“Çok sayıdaki kimyasal maddenin biyolojik etkileri bunların yaşamın bağlı olduğu biyokimyasal olayları yürüten enzimlerle etkileşmesi sonucu oluşur. Hücrenin devamlı süregelen kompleks reaksiyonlarında önemli rol oynayan enzimlerin bir veya birkaçının aktivitesini herhangi bir kimyasal madde tarafından ortadan kaldırılmasıyla (enzim inhibisyonu ile) organizmadaki denge bozulur ve meydana gelen fizyolojik değişim sonucu zehirlenmeler görülür. Enzim inhibisyonları irreversibil (tek yönlü) veya reversibil (çift yönlü, rejenere olabilir) şeklinde olabilir” (İmre 1988).

“Civa, arsenik, kurşun ve bakır gibi metaller ise daha az selektif (seçici) enzim inhibitörleridir. Bunlar çok sayıda enzimi irreversibil inhibe ederler. Enzimlerin normal fonksiyonu için gerekli olan sülfhidril (SH-) gruplarına kovalent bağlanarak enzimin katalize ettiği reaksiyonu durdururlar. Diğer taraftan böyle bir

enzim ağır metal etkisine karşı aynı şekilde SH- gruplarını içeren bileşikler, örneğin (dimerkaprol) yardımı ile korunabilir. Ağır metaller antidotun SH- gruplarına daha sağlam kopleks yapmak üzere bağlanırlar. Ağır metallerin ve metaloidlerin zehirlenmeler bakımından önemi her devirde olmuştur. Çok sayıda ağır metal ve metaloid enzim ve kapiler zehiridir. Bugünkü bilgilerimize göre metallerin biyolojik etkilerini ortak bir reaksiyon mekanizmasına dayandırmak güçtür. Metaller önemi henüz tam olarak bilinmemekle birlikte vücudun çok değişik bölgelerinde etkili olur. Ağır metal iyonları proteinleri denatüre ederler. Sülfhidril gruplarına bağlanmaları ile izah edilen bu etkinin akut oral zehirlenmelerdeki belirtiler yönünden önemi vardır. Ayrıca biyomoleküllerin hidroksil, amino, karboksil ve imidazol grubu gibi diğer oynak proton taşıyan fonksiyonel gruplarını bloke eder. Magnezyum, kalsiyum ve diğer biyometalleri protein kompleks bağından koparak, enzimlerin katalitik merkezlerinde etkili olurlar. Fakat tüm bu etkiler, metal zehirlenmelerinde ortaya çıkan çok çeşitli hastalık tablolarını açıklamak için yeterli olmamaktadır. Ağır metaller çok çeşitli dokularda manifest olurlar ve her bir metalin belli organlara yönelik olan etkisi özellikle kronik zehirlenmelerde belirgindir. Bu spesifik etki durumu içinde henüz geçerli bir açıklama bulunamamıştır. Ağır metal etkilerinin anlaşılmasını güçleştiren diğer bir konu ise biyometallerinde normal dozun çok az üstündeki miktarlarının zararlı etkilerinin bulunması ve hayat için gerekli elementlerin bir kısmının (kobalt, mangan, selen, bakır) aynen arsenik gibi karsinojen etki göstermeleridir ” (İmre,1988).

Periyodik cetvelde D blokunda yer alan elementler metallerdir. En genel ortak etkileri canlı hayatı için zehirleyicidir. I B ve II B grubu elementlerinden Cu, Ag, Zn, Cd, Hg bileşikleri toksik etkiye sahiptir. Au toksik etki içermez. Ayrıca Al ile başlayan 3A ve 6A grubundaki Al, Sn, Pb, As, Sb ve Fe gibi ağır metallerin belli bir konsantrasyonda doğada fazla bulunmaları, doğal çevrenin ve canlı sağlığının bozulmasına önemli etkileri vardır. Bunun yanı sıra 4A, 5A, 6A grubunda olup da ametalik karakter taşıyan C, N, O, Si, P, S gibi elementlerin ise çok az bileşiği haricinde (inorganik Cn türevleri gibi) doğal dengeye ve insan sağlığına zararlı etkileri yoktur. Zira insanı oluşturan temel bileşimler olan C, H, O, N elementlerinden meydana gelmiştir.

2.1.4. Metal Toksitlenmesi ve Bitkilere Etkisi

Metal toksitlenmesi en son 1963-64-66 yıllarında incelendi. Toprak, su, hava kirliliği, yiyecek kalitesi, ve enerji kısıtlamalarına verilen bugünkü önem, topraktaki fazla metalin bitki büyümesine olan etkisini incelememize neden oluyor. Bu yazının hedefi metal toksitlenmesinin fizyolojisi ve bazı bitkilerin bu toksitlere olan dayanıklılığına ilişkin bugünkü bilgilerimizi güncelleştirmektir. Topraktaki metal toksit dereceleri belki toprağın doğal özelliğinden tarımsal uygulamalarından, fabrikalaşmadan, madencilikten veya topraktaki atık partiküllerden kaynaklanıyor olabilmektedir.

Alüminyum toksitlenmesi bitkilerin büyümesini önleyen önemli bir faktördür. Bu daha çok PH derecesi 5'in altında olan topraklarda olabilir. Bütün topraklar asit yapan bazı azotlu gübrelerin kullanılması nedeni ile asitlenme bakımından yoğunlaşmış durumdadır. Alüminyum toksitlenmesi bitkilerin köklerindeki derinleşmeyi etkiler ve azaltır. Pamuktaki ve buğdaydaki bu alüminyum toksitlenmesi olayı yüksek sıcaklıkta daha kötüye doğru gitmektedir.

Manganez toksitlenmesi çok kuvvetli asitlenmiş topraklarda, bazı maden üretim alanlarında önemli bir problem teşkil eder. Bu problem yüksek PH seviyesi bulunan topraklarda olmaktadır. Bu durum toprakların indirgenme koşullarında, su basması, yoğunlaşma veya organik madde birikimi ile oluşur. Gupta ve Chipman'a göre çürümüş humus (kömürleşmiş zemin) ta havuçların mangan toksitlenmesi PH 7,8 -8,1 derecelerinde gerçekleşmektedir. Bu durumda fazla çözünbilme toksitlenme için bir neden kabul edilmektedir. Bu humusta fazla çözünbilme nem oranına bağlıdır. Bu nem oranı da manganın bitkiler için daha kolay alınabilir olmasını sağlamaktadır (Gupta ve Chipman 1976). Gövde sterilizasyonu veya kurutma işlemi, yüksek mangan değeri olan topraklarda mangan çözünürlüğünü ve toksitlenmeyi artırmaktadır. Toprak mikroorganizmaları, toprağın indirgenmiş mangan derecesinin değerini belirlemekte önemli bir rol üstlenir ve manganda bitkiler tarafından absorbe edilir. Özellikle yüksek PH derecesindeki topraklarda bunu görürüz.

Demir toksitlenmesi bazı su baskını durumlarındaki pirinçlerin fizyolojik olarak bozulmasına neden olabilir. Aynı zamanda şeker kamışında ve *macademia*

findıklarında da bir takım bozulmalara neden olabilir. Madenlerde ve kimi ıssız alanlardaki Zn, Cu, Ni ve Cd ve diğer bazı elementlerin oranındaki fazlalık, özellikle asitli topraklarda bitkilerin büyümesini etkileyebilir. Bazen normal nötr PH seviyesinde olan topraklarda da bu durum böyle olabilir. Mg ve Ni toksitlenmesine bazı yılantaşlı (serpentine) topraklarda da rastlanmıştır. Metal toksitlenmesi aynı zamanda verimli topraklarda da görülebilir. Bu verimli topraklar metal kapsayan böcek zehiri veya kimyasal gübreler tarafından kirletilmektedir.

Bazı durumlarda topraktaki ve bitkilerdeki fazla metaller havadan gelen kirletici etkilerden veya bir takım endüstriyel etkilerden kaynaklanabilmektedir. Bütün verimli topraklar, minerallerin ve bazı elementlerin dengesiz şekilde bulunmasından zarar görebilir. Mesela amonyaklı veya potasyumlu gübrelerin fazla bulunması Mg ve Ca eksikliğini ortaya çıkarabilir. Cu, Ni, Zn ve P'taki fazlalık da Fe eksikliğindeki klorosizi ortaya çıkarabilir. Başka bir şekilde fazla durumdaki Fe, Zn eksikliğini yoğunlaştırabilir.

Metal kirliliğinden kaynaklanan bitki beslenmesindeki bu dengesizlikler rast gele gübrelenmiş topraklarda, lağım suyu ile sulanmış topraklarda (yüksek oranda metal bulunduran) ortaya çıkabilir. Hayvanların çok olduğu ıssız yerlerde besin üreten kimi fabrikaların olduğu yerlerde de bu durum ortaya çıkabilir.

Alüminyum toksitlenmesinin zararlı etkilerinin belirtileri kolaylıkla tesbit edilebilir. Bazı bitkilerde yaprak belirtileri, fosfat eksikliğine benzeyebilir. Mesela tüm şekilde bodurlaşma, küçük koyu yeşil yapraklar, geç olgunlaşma veya gövde ve yaprakların uçlarında sararma ve ölme görülmektedir. Al toksitlenmelerinin, diğer bir etkisinde Ca eksikliğine neden olabilme veya Ca taşınım problemine yol açabilmedir. Tüm bunlar bükülme ve kıvrılmalara, geç yapraklanmaya, yaprak saplarında ve büyüme noktalarında yoğunlaşmaya neden olabilir. Al'dan zarar görmüş kökler ise geneli kısa ve kalın, çabuk kırılacak şekildedir. Birçok kısa kalın yan kökler vardır. Fakat güzel bir dallanma şekli yoktur. Bu tür köklerin besleyicilikleri ve su alımları yetersizdir. Genellikle genç filizler Al'a karşı diğer yaşlı bitkilerden daha fazla duyarlıdır. Genelde Al'un bitki köklerinde hücre bölünmesine kötü yönde bir etkisi olmaktadır. Al topraktaki fosfatın bitkilerce daha az şekilde kullanılmasına neden olabilmektedir. Ayrıca köklerde terleme işlemini azaltıyor ve bazı özel enzimlere de kötü yönde etki edebiliyor. Etkilenen bu

enzimler, hücre duvarlarındaki polisakkaritlerin artış sistemine azaltan yönde etki ediyor. Dolayısıyla hücre duvarındaki sertlikteki artış da böylece engellenmiş oluyor. Bu sertlik pektinlerin birbirleriyle karşılıklı olarak bağlanmasıyla oluşmaktadır. Aynı şekilde Al bitkide bir takım madde alış verişlerinde veya bazı elementlerin (Ca, Mg, K ve P gibi) ve suyun kullanılmasında kötü yönde etki edebiliyor. Al gibi metal iyonlarının güçlü komplekslerin oluşmasında da rolü olduğu biliniyor ve bu kompleksler de nükleik asitlerin çökmesinde rol oynamaktadır. Gerçekte de bu tür kompleksler yapraklardan polinükleotitlerin izole edilmesinde de kullanılmaktadır.

Manganez toksitlenmesinin genel ve fizyolojik etkileri, alüminyumun aksine, çoğunlukla bitkinin üst uçlarında köklerinden daha fazla daha ciddi bir şekilde gözlenmektedir. Ayrıca manganez daha belirgin belirtiler ortaya çıkartmaktadır. Manganez, bitkilerin yapraklarında, zararlı birikmeler yapmaktadır. Bitki çeşitleri arasında mangan toksitlenmesinin belirtileri çok farklılık göstermektedir. Mangan toksitlenmesi, *alfalfa*, *rape*, *kale*, *tettuce* gibi bitkilerin yapraklarında marjinal klorosiz ve nekrosiz'e neden olmaktadır. Ayrıca mangan toksitlenmesi buruşmaya da neden olmaktadır. Bu durumda pamukta, soya fasulyesinde ve *snap* fasulyesinde ortaya çıkmaktadır. Bundan başka arpa, marul ve soya fasulyesi yapraklarında nekrotik beneklere de yol açmaktadır. Pamuk yapraklarında fazla mangan özel fizyolojik bitki bozukluklarından, kıvrılma hastalığına , patatesten gövde çizgi nekrosizi hastalığına da yol açmaktadır. Elma ağaçlarında kabuk içinde nekrosiz'e neden olmaktadır. Bazı mangan toksitlenmelerinin çok kötü durumlarında, bitkilerin kökleri kahverengileşmektedir. Özellikle uç kısımlarında çok daha fazla sertleşme ve şekil bozuklukları da olmaktadır. Manganez toksitlenmesinin fizyolojik ve biyokimyasal etkileri hakkında şunlar söylenebilir: Manganez toksitlenmesi pamuklarda ve aynı zamanda *japon sabah ihtişamı*nda rastlanmaktadır. Manganez toksitlenmesinden kaynaklanan aminoasit dengesizliği patateslerde yaprakların hücre sayısında ve hacmindeki azalmalardan dolayı indirgenmiş yaprak oluşumuna, köklerde de kuru ağırlıkta azalmaya neden olur. Özellikle şeker kamışlarında da bu belirtiler bilinmektedir. Pamukta oluşan kırışıklıklar peroksidaz ve polifenol oksidazın aktivitesinin daha çok artmasından kaynaklanmaktadır. Pamukta aynı zamanda katalaz, askorbik asit oksidaz, glutatyon oksidaz gibi yapılarındaki aktivitenin azalmasından dolayı daha az solunum oranı oluşmakta ve ATP birikimi azalmaktadır. Morgan'a göre mangan fazlalığı veya eksikliği in vitro ortamın

bozulmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu in vitro bozulma auxinde olmaktadır. Bu olayda, İndol Asetik Asit Oksidazın artışıyla İndol Asetik Asitin (I.A.A.) 'nın yani auxinin azalması tipik bir belirtidir. Bu durumda daha az solunum oranı ve ATP birikimi olmaktadır. Auxinin in vitro bozulması I.A.A oksidazın aktivitesinin artmasıyla olmaktadır. Bu olay pamukta görülmektedir.

Mangan daha çok mitokondiral DNA'nın eşlenmesi sırasında yanlışlık üretici faktör olarak da çalışmaktadır. Toplam protein sentezinin %90'ı engellenir. Fakat mitokondrial protein sentezi daha az engellenir. Nuklear çekirdek DNA'sının kendi kendini eşlemesi fazla mangan tarafından kuvvetli bir şekilde engellenir. Bunlar da mutasyonlara sebep olacak bir etkidir. Fakat rekombinasyon yapmamaktadır. Sonuç olarak mangan mutajen olarak adlandırılabilir. Manganın gen değişikliklerine yol açtığına ilişkin kesin bir kanıt bulunmamaktadır.

Demir toksitlenmesi özellikle pirinçte üç dört tane fizyolojik hastalıkla ilişkilendirilmektedir. Fazla demir (ferroz Fe) yapraklarda belirgin olarak kusurlu veya benekli oluşumlara neden olmaktadır. Aynı zamanda bu durum Al, Mn ve Zn fazlalığıyla da oluşmaktadır. Bu durum Hawai'de şeker kamışlarında görülmektedir. Yüksek konsantrasyonda demir toksitlenmesi hastalığı, fizyolojik kuraklaşmayla birlikte daha da kötü bir hale gelmektedir. Ponnampetum 'a göre pirinçlerde demir toksitlenmesi toprağın PH'ı, sulama, kanalizasyon ve Fe'le etkileşim eğiliminde olan maddelerle beraber tunçlaşma hastalığına neden olmaktadır (Ponnampetum 1955). Demir toksitlenmesinin belirtileri çeşitli bitkilerde farklı şekillerde ortaya çıkmaktadır. Millikan şu şekilde not etmiştir. Fazla demir özellikle keten bitkisinde de koyu renkli yeşil yaprakları ortaya çıkarmaktadır. Aynı zamanda gövdenin yüksek kısımlarında ve köklerinde büyüme bodurlaşmış olarak ortaya çıkmaktadır. Kökler kalınlaşmaktadır ve büyük miktarlarda madde birikimleri olmaktadır (Millikan 1949). Skeen'e göre demir fazlalığı kök uçlarında yumuşamalara neden olmaktadır. Tütünde fazla demir sonucu kırılabilen körpe ve koyu renkli ya da mor yaprakların oluşmasına neden olur. Demir toksitlenmesinden etkilenmiş bu bitkilerde, düşük, yanma kalitesi ve çiçeklere rastlanır. Demir konsantrasyonunun fazlalığı kökleri okside eder ve yapraklara taşınır. Eğer kritik Fe konsantrasyonu aşılmışsa taşıma olur. Köklerin kesilmesi Fe alımını ve

toksitlenmeyi artırır. Düşük demir konsantrasyonu da toksitlenmeye neden olabilir (Skeen 1929).

Diğer ağır metallerin hepsi bitkilerde toksik etki yapabilirler. Özellikle belli konsantrasyon derecelerinde etkilidirler. Yapılan gözlemlerde topraklar da sadece az sayıda ağır metal fitotoksiteye neden olmaktadır. Ağır metaller inorganik bileşikler olarak, organik maddelere bağlı olarak ya da çamurlarda demir, mangan ve alüminyumun hidroksitli oksitleri olarak bulunurlar. Bu nedenle topraklarda çoğu maddeler çökelme ve sorption oluşturur ki bunlar Zn, Cu, Ni toksitlenmesi olarak sıklıkla rastlanır. Pb, Co, Be, As sadece çok az rastlanan olaylarda ortaya çıkıyor. Diğer elementler bazı çözelti kültürlerinde toksik olabiliyorlar. Fakat topraklarda çok yüksek seviyelerde bulunsalar bile fitotoksit olmuyorlar. Mesela Cr, Ag, Sn, Ga, Ge bunlardan biridir. Pb ve Cd bu şekilde düşünülüyor. Fitotoksit olmadığı halde bitkiye alınımıyla besin zincirine itilirler. Ağır metallerin toksititesi üzerindeki çoğu gözlemler Zn, Cu, Ni, Cd ve Pb metallerinde yapılmıştır (Foy et al. 1978).

2.1.5. Metal Fitotoksitlenmesinin Biyokimyası ve Fizyolojisi

Metal toksititesi üzerine yapılan çalışmalar çok zordur ve bununla ilgili olarak, hücre metabolizmasındaki bazı çözünebilen metallerin konsantrasyonu ve aktivasyonu tam olarak bilinmemektedir. Bunlar aynı zamanda *chelating* karboksilik ve amino asitler tarafından etkilenmektedir. Ayrıca katyonlar ve PH metal etkileşimleri de bu çalışmaları zorlaştıran durumlardandır. Yukarıda sayılan önemli faktörlerden sorumlu olmayan deneyler fizyolojik olarak uygun sayılmaz. Bu bilgilerde genel olarak, toprak bitki etkileşimleri ve metallerin bitkilere doğru olan hareketi öngörülen bilgiler olmalıdır. Bütün bunların bilinmesi fizyolojik olarak anlamlı deneyler için zorunluluk arz etmektedir.

Metal toksitlenmesinin fizyolojisi metal kaynaklarının artmasıyla birlikte başlar. Bu metal kaynaklarının artması da köklere doğru olur ve bu olayda bitkinin kendi yaşamı için gerekli olan süreçte başarısızlığa uğraması olayını doğurur. Ne yazık ki bu süreçte hayat için gerekli olan maddelerin neler olduğuna dair çok az çalışma yapılmıştır. Ancak metallerin bu süreçte önemli bir yeri vardır ve *chelat* lar oluşturmaktadır. Metaller bu *chelat* lara bağlanmaktadır (Foy et al. 1978).

2.1.6.Ağır Metallere Karşı Dayanıklılıkta Bitkilerin Farklılık Göstermesi

Bitkilerin ağır metallere karşı dayanıklılığının gelişimi, evrimi çoğunlukla tartışılan ve çalışılan bir konu olmaya başlamıştır. Bu konuda bir çok bilgi birikmiş olmasına rağmen çoğu sadece ekotipik türleri ilgilendirmektedir. Tahıl bitkileri için geçerli bilgiler kısıtlıdır.

Earley' in raporuna göre; soya fasulyesi kültürleri toksik çinkoya farklı tepkiler vermektedir. Özellikle kumlu zeminlerdeki kültürlerde çinko teşvikli demir eksikliğine maruz kalmış dayanıklı soylar ve dayanıksız soylar karakterize edilmiştir (Earley 1943). White'ın yaptığı araştırmalarda da çinko tarafından teşvik edilmiş demir eksikliğine olan dayanıklılıkla ilgili tabii farklılıklar yukarıda söylenenlerle bağdaşmaktadır. Çinko teşvikli demir eksikliğiyle alakasız olarak demirin eksikliğine hassas olan bitkilerle, olmayan bitkilerde çinko toksitlenmesine karşı farklı davranışlar gözlenmektedir. Bu çinkonun alınımı ve taşınması durumlarında farklılık olarak açığa çıkar. Bu durum çinkonun kök üzerindeki etkilerinin farklı tepkiler gördüğünü gösteriyor (White 1976). Polson ve Adams çinko dayanıklılığını *navy fasulyesi* kültüründe ele almışlar, çinko ve mangan taşınması ve etkileşimlerinin değişikliğini bulmuşlardır(Polson ve Adams 1970) Tahıl bitkilerinin içerisindeki metallere farklı dayanıklılığının biyokimyası hakkında az şey bilinmektedir. Çoğu bitki çeşitlerinin içerisinde farklı bireyler yüksek substrate metal derecelerine dayanıklıdır. Yani bu çeşit bitkiler gelişmişlerdir. Çoğu bitki türlerinin içerisinde bu tip gelişme çinko, bakır, nikel ve kurşun için olmuştur. Ekotip dayanıklılığı As ve Cd içinde bulunmuştur. Genellikle bitkiler fazlalık arz eden metallere karşı dayanıklılık geliştirmişlerdir. Burada bir istisna olarak ise nikelin çinko yardımcı dayanıklılığıdır. Tepe otlarında çinkoya karşı oluşmuş olan dayanıklılık sayesinde nikel karşı olan yardımcı dayanıklılık, bu istisnalardan biridir. Çinko ve kurşun cevher topraklarında çoğunlukla çinko ve kurşuna dayanıklı ekotipler aynı zamanda Cd ' a da dayanıklıdır. Fakat bu topraklarda Cd' da büyük miktarlarda bulunmaktadır. Dayanıklı bireyler genellikle metale karşı dayanıklılıkta çeşitlilik gösterirler. Dayanıklılıkla bitkilerin yetiştiği toprakların içerisindeki ulaşılabilir metallerle iyi bir şekilde ilişkilendirilmiştir. Son zamanlarda ekotipik

dayanıklılıkların yanı sıra ekotipik olmayan dayanıklılıkların geliştirilmesi de tartışılmaktadır. Ulaşılabilir metal dereceleri hakkında az miktarda bilgi bulunmaktadır. Bu bilgiler de bu çalışmalarda sağlanmıştır. Toprak faktörleri çoğunlukla toksitlenmeyle karşıtlık göstermektedir. Buradaki bilgilerde, kirlenmiş topraklar ve içerisinde yaşayan bitkilerin metallere karşı uyumu üzerinde durulacaktır. Bu aynı zamanda metal fitotoksiteyi kontrol eden toprak PH' nın, organik maddelerin, fosfat statüsünün ne kadar önemli olduğunu gösterecektir.

Özellikle bakır cevherinin bulunduğu alanın civarında bulunan, ve çok kuvvetli asitli topraklarda da yetişen bitki bireylerinde gelişmiş olan dayanıklılıkla, bu bölgelere bir uyumluluk oluşmuştur. Böyle bireyler bazen dayanıklı ekotipler geliştirebilmektedir. Bu durumdaki bitkiler toksik topraklarda kolonize olmak için böyle bir uyuma ihtiyaç duyabilirler. Aynı durumda olmayan diğer türler böyle bir uyuma ihtiyaç duymayabilirler. Araştırmacılar bu durumu karşılaştırmak için adlandırılmış tahıl kültürleri kullanırlarsa ve bu çalışmalar için PH ayarlamalarında ve beslenme üzerinde dururlarsa, belirgin dayanıklılığın rolü bilinmiş olur. Böylece çözülebilen metal tuzlarına ilişkin beslenme solüsyonlarında yapılacak çalışmalar dayanıklılığı daha belirgin hale getirecektir.

Ekotipler çok hızlı bir şekilde gelişebilirler. Bradshaw' ın çalışmalarına göre, 20 yıldan beri kirlenmiş olan yerlerde yaşayan ekotipler bulmuştur. Ekotiplerin kurşuna karşı dayanıklı olanları yol kenarlarında yetişmektedir. Ekotiplerin çinkoya karşı dayanıklı olanları galvenizlenmiş parmaklıkların altında yetişmektedir (Bradshaw1972). Dayanıklı ve dayanıksız bireylerin yetişme sınırlarının keskinliği özellikle çok ilginçtir. Parmaklıkların altındaki çinkoya dayanıklı bireyler 20 cm.lik bant altında iki tarafta da yetişebilmektedir. Bu sınırlardan 4-5 cm. sonra ise dayanıksız bireyler yetişmektedir. Mc Neilly' in bulgularına göre; küçük bakır cevheri topraklarının olduğu alanlarda, bakıra dayanıklılık ilgili dağılımların sınırları çok (upwind dir) keskindir. Fakat dayanıklı tohumlar 100 m ye kadar downwind üretilebilir (Mc Neilly 1968). Walley' in bulgularına göre kolonisel tepe otlarının ortak tohumları, bakıra dayanıklıdır ve aynı zamanda çinkoya dayanıklı bitkiler üretebilmişlerdir. Tabii bu tespitler, cevher yataklarındaki topraklarda olmaktadır. Diğer ekotiplere göre karşılaştırıldığında durum böyledir (Walley 1974). Kalıtılmış

dayanıklılık bağımsızdır. Çünkü bakıra dayanıklı bitkilerin çok düşük bir oranı çinkoya da dayanıklıdır.

Gartside ve Mc Neilly'nin bulgularına göre bakıra dayanıklılık bütün tahıllarda bulunmamaktadır. Önemli tahıllar orta bakır dayanıklılığında gelişmekte veya dayanıklılık kazanmamaktadır (Gartside and Mc Neilly 1974). Tepe otlarının kolonilerinin ortak tohumları çinkoya dayanıklı bitkiler taşıyor olmasına rağmen isim farklılığı göze çarpmamaktadır. Bu metale dayanıklı bitkilerin bir faydalı kullanımı, cevher ocaklarının toksik atıklarında (revegetation) yeniden yeşerebilmeleridir. Aynı zamanda insan aktiviteleri tarafından kirlenmiş olan diğer alanlarda da bu bitkiler (revegetation) yeniden yeşerebilmektedirler. Metale dayanıklı ekotiplerin faydalı kullanımı açısından 2-3 tane rapor bulunmaktadır. Bunlarda özellikle sık olarak, metale dayanıklı tohumların, PH düzeltmeleriyle birlikte döllenmesi sonucu elde edilen tohumlardan çok çabuk (revegetation) yeniden yeşerme şeklinde sonuç alınmaktadır. Metale dayanıklı baklalar bu uzun süreli başarılı pratiği yapmak için gereklidirler (Foy et al. 1978).

2.1.7. Metale Karşı Duyarlılığın Fizyolojik ve Biyokimyasal Mekanizması

Bitkilerin metallere karşı dayanıklılığının mekanizması belli bir zaman çalışıldı. Bunlardan birincisi metallerin köklerde hariç tutulma mekanizmasıdır. Bu mekanizmayla metallerin köklerde hariç olarak tutulması iyi bir mekanizmaya benzemektedir. Çünkü metaller kök hücrelerinin duvarlarına bağlanmıştır. Bu tip bitkilerin metalleri kendi gövdesine girmeden köklerde arıtması iyi bir mekanizma olarak görülmektedir. Hücre duvarı sayesinde olan bu bağlanmanın genişliği, özel metallere olan dayanıklılığın derecesiyle alakalıdır.

Jones çinkoya dayanıklı tepe otlarının köklerinden çinko komplekslerini izole etmiştir. Bu izolasyonu kök selülozlarını erittikten sonra yapmıştır. Kök hücrelerinin duvarlarıyla, birleşen metaller, metal dayanıklılığını artırabilmektedir. Ancak artırabildiği halde bu durum bitkinin kendi yapraklarına zarar verecek ölçüde metal taşınmasına engel olacak kadar yeterli değildir (Jones 1971).

Bitkiler bakırı, çiçeklerde, filizde taşıyabilmektedir. Kendi köklerinden en uç kısımlarına kadar bakır taşıması köklerini fazla bakırdan korumak içindir. Bunun içinde kök bölümlerinde olan toksik metallerden korunma için, hücre stoplazmasından kompakt bölümlere taşımayı belki koruyucu bir önlem olarak alıyor olabilir. Kauçuk hammaddesini oluşturan bitki kuru ağırlığının %25 oranında Ni biriktirebilir. Bu bitki (*neukavedyun*) nikel biriktirici olarak bilinir. Ernst ve Mathys bölümleştirme hipotezi taraftarı olmuşlar ve şunu önermişlerdir. *Malate* çinkoyu *chelate* edebilir. Çinko bu dayanıklı bitkilerin vaküleri içerisindeydir. Fakat metalin bu durumu fiziksel bir durum olup bunu destekleyen bilgiler eksiktir. Umulur ki bu ekotiplerden birkaç tür üzerinde yapılan elektron mikroskobu çalışmaları ile yapılan kimyasal ölçümler ve bu metal kaynaklarının farklı dereceleriyle yönetilen işlemler, söz konusu hipotezin daha belirgin bir hale gelmesini sağlayacaktır. Yüksek çinkoya dayanıklı ekotip *malate* bakıra dayanıklı değildir. Bunu anlamak zordur. Çünkü *malate*ın bakıra çinkoya bağlandığından daha kuvvetli bağlandığı düşünülmektedir. Metale karşı dayanıklı ekotiplerin enzimlerinin metale karşı dayanıklılığı üzerinde de çalışılmıştır. Metallerle karşı duyarlı ve duyarsız ekotiplerde çözünabilir asit fosfatlar, çinkoya karşı duyarlılıktaki, farklılıklarda değişiklik yapmazlar. Fakat hücre duvarına bağlı asit fosfatlar metallerle karşı duyarlılıkta ve duyarsızlıkta farklılık arz ederler. Ernst ve Mathys, ekotiplerin metale dayanıklı veya dayanıksız olmalarını enzimlerinin dayanıklı veya dayanıksız olmaları üzerine incelemiş ve bununla ilgili, bir farklılık bulamamışlardır. Enzimlerin metal dayanıklılığı üzerine in vitro çalışmalar yapılmış ve burada enzimlerle ilgili bir direnç söz konusu olmamıştır. Fakat in vivo çalışmalarda dayanıklı ekotiplerin 3-4 tane enziminin, metal eklendikçe aktivitelerinin normal seviyede kaldığı tespit edilmiştir. Dayanıksız ekotiplerde ise enzim aktiviteleri düşmüştür. Bu şunu göstermektedir. Dayanıklı türler normal süreci sürdürmekte yeteneklidirler. Ernst ve Mathys'e göre bu şunu kanıtlamaktadır. Bu durum organizmaya alınan metallerin sınıflandırılarak stoplazmada tutulması, stoplazmayı korumasına neden olmaktadır. Yüksek yapılı bitki ekotiplerinin metale dayanıklılığının mekanizmasının anlaşılması üzerine mikroorganizmalar da yapılan çalışmalar Ernst ve Mathys ' i destekler mahiyettedir (Ernst 1977), (Mathys 1973).

Wainwright ve Woolhouse tarafından yapılan araştırmada, metallerle karşı duyarlılıktaki farklılıkları karşılaştırma metotları için ayrıntılı bir düşünce

geliştirilmiştir. Metale dayanıklılıkta farklılık organel bağlantılı bir süreç arz etmektedir(Wainwright and Woolhouse 1976).

Ashida ve Ross' un mantarların metale dayanıklılık mekanizmasıyla ilgili çalışmalarında hücre duvarlarında çökelmiş durumda bakır bulunmuştur ki bu durum sülfat üretimine neden oluyor ve birlikte çökeliyor. Bu durumu takiben hücreler, çökelmiş metallere bağlanabilen tionin proteini üretmektedirler. Bu protein metallotioninlerle benzer özellik göstermektedir. Bu proteinlerde hayvanlardaki metallotioninlerle birlikte diğer hücrelerde metal baskısına uyum sağlamaktadır. Bunlar metalleri bitki fizyolojisinden hariç tutarak bu işlemi gerçekleştirmektedirler (Ashida.1965),(Ross1975). Foster raporunda bu durumun *klorella* içinde aynı şekilde olduğunu tesbit etmiştir (Foster1977).

Bakteriler Ni' e karşı direnç gösterme eğilimindedirler. Bu durumdaki bakteriler aynı zamanda Co'ta karşıda direnç gösterebilmektedirler. Bakteriler bu durumu magnezyumu taşıma aktivitesini azaltarak yapmaktadırlar. Bu durum direkt olmayan bir kanıt olmakla beraber ilgili metallerin toksik dozlarda bitkilere uygulanması ve magnezyumu taşıyan yapılara dahil olmasıyla gerçekleşmektedir. Bu iki metalin birikmesi SO₄ (sülfat) oluşumunu engellemektedir. Halbuki mantarlarda sülfat korucu bir etkiye sahiptir.

Hücre zarı ile çekirdek arası, bağlayıcı proteinlerin metal bağlayıcılık rolü organizmayı koruyucu bir şekilde olmaktadır. Bu durum deneysel ve gözlemsel olarak ortaya konmuştur. Bu metali bağlama olayı, hücrelerin metabolik ve genetik süreci içerisinde, karışmadan çalışma durumlarını sağlanmaktadır. Fakat yüksek bitkilerde fazla metalin, vaküler sınıflandırma (tasnif) olayı, bazen yeteri kadar etkili olabilmektedir. Metal toksitlenmesi çoğunlukla ayırt edici mevcudiyetlerde bulunmaktadırlar. Toksik metal iyonları, önemli olmayan diğer iyonlar ve çevresel faktörlerle, birlikte kompleks etkileşim içerisine girebilir ve bitkiler üzerinde sorun oluşturabilirler.Özellikle metallerin tek tek etkileri ele alındığında özelleşmiş farklı etkiler gösterirler. Tek bir metalin farklı bitki genotipleri üzerindeki etkileri bir çok farklı durumlarda karşımıza çıkabilmektedir. Metal iyonlarıyla ilgili fitotoksik mekanizmaların kapsamı; farklı metal iyonlarının değişik biyokimyasal etkileşimleri ve farklı bitki çeşitlerindeki farklılıklarla değişebilmektedir.

Metallere dayanıklılığın genetik kontrolü tam olarak açıklanabilirse, metale bağlı diğer istenebilir özelliklerle birleştirilebilir ve yüksek metal bulundurabilen topraklara adapte olabilecek bitkiler yetiştirebilmek mümkün olur. Bu mekanizmalar iyi anlaşıldığı zaman bu tip bitkileri seçmek ve yetiştirmek ve geliştirmek mümkün olacaktır. Metale dayanıklılık mekanizması biyokimyasal bilgiler içermektedir. Bu durumlar kirli topraklar için yapılacak bazı pratiklerin kimyasal ve fiziksel yönetimlerinde artışlara neden olmaktadır. Bitkilerin metal iyon alışı ve kullanışlarıyla ilgili fizyolojik mekanizmalar üzerinde yapılmış geçmişteki araştırmaların çoğu tek bir bitki genotipi veya türüyle sınırlandırılmıştır. Ancak bu yaklaşımın karşılaştırmacı fizyolojik çalışmalarla değiştirilmesi ve bu fizyolojik çalışmaların özellikle birbirine yakın ilişkisi olan genotipler arasında olması gerekmektedir.

Bitkilerin metal toksitlenmesine dayanıklılığı çoğunlukla farklılık gösterir. Bu farklılıklar bulundukları yer, oluş şekli, yapısal ve fonksiyonel olarak değişiklikler göstermektedir. Bu tip farklılıkları yaşayan bitkilerde ölçümlerin yapılması da oldukça güçtür. Metal toksitlenmesiyle ilgili ölçülmesi gereken yapıların oranlanması, çıkarılması, izole edilmesi, doku sabitlenmesi (fikslenme) gibi bu süreçte kullanılan işlemler, araştırmacılar tarafından yapılmıştır. Bu durum yapay ölçümlerin olabilirliğini göstermektedir. Elektron mikroskobu ve X- ray ışınımının kullanılması da bu süreçte metal iyonlarının fiziksel yerleşiminin tespitini gerçekleştirmektedir. Ancak bu belirleme atomik ağırlığı 24 veya daha fazla olan metallerde belirlenebilmektedir. Bu metal iyonlarının fiziksel yerleşimi kök bölümlerinde olmaktadır ve bu tür bir süreç zararlıların zarar görmesine yol açan bir durumdur. Dayanıklı ve dayanıksız bitki genotiplerindeki metal toksitlenmesi çalışmaları, diğer yaklaşımlarla kimyasal sınıflandırmaların belirlenmesini kapsamaktadır. Bu kimyasal sınıflandırma; çeşitli bitki bölümlerindeki metallerin kimyasal sınıflandırılması, bitki bölümlerinin metal derecelerinin, organik yapıların ve aminoasit çeşitlerinin, sınıflandırılmasından oluşan bir yaklaşımdır. Bahsedilen sınıflandırmaların hepsinde metaller *chelate* tür ve detoxifiers dır. Bitkiler dayanıklılık olarak kök kısımlarında, PH değişimi, metal iyon aktivitesi ve iyon geçirgenliği için NH_4 ve NO_3^- ü tercih edebilir. Yukarıda belirtilen araştırmalar çok iyi bir işbirliği gerektirmektedir. Bu işbirliğinde toprak bilimciler, bitki yetiştiricileri, bitki fizyologları, bitki biyokimyacıları ve aynı zamanda patalojistler bulunmalı ve bunlar

arasında iyi bir iş birliği yapılmalıdır. Enstitülerde bahsedilen işbirliğinin az olması çoklu disiplin anlayışı yaklaşımını engellemektedir (Foy et al. 1978).

2.1.8.Ağır Metallere Dayanıklılığın ve Metal Tutmanın (Biriktirmenin) Moleküler Mekanizması

Bitkiler inorganik maddeleri extrakte edebilirler. Fakat etkili bir bitki ekstraksiyonu için yüksek biyokütleli, hızlı büyüyen , inorganik maddeleri toplayabilecek yüksek kapasiteye sahip bitkilerin üretilmesi gerekmektedir. Gelişimin ve biyokütlenin artışı için ya hiper akümülatör (yüksek miktarda biriktirici) özelliği var olan bitkilerin yetiştirilmesi lazımdır. Ya da bu hiper akümülatör özelliklerin yüksek biyokütleli ve hızlı gelişiminin artırımı, gen mühendisliği olarak ele alınmalıdır. Daha sonraki yaklaşım inorganiklerin depolanması ve tutulmasındaki moleküler mekanizmayla ilgili temel bilgileri gerekli kılar.

Son yıllarda bitkiler ve mantarların *chelat*larıyla (Organik ve metal kompleks bileşikler) kadmiyumun taşınımının nasıl olduğuyla ilgili çok şey bilinmektedir. Bu süreç model sistem olarak *Schizosaccharomyces*' in kullanımıyla kolaylaştırılmıştır. Hedef olarak bir model organizmada genler seçilir, bunların dizilişlerini açıklamak için bir ev sahibi hücrenin genine (*heterologusa*) modifiye edilebilir yada daha kompleks organizmalardaki *homologus* genlerle ilgili araştırmada denebilir. Metal *remediasyonunda* (Kirli yerlerin iyileştirilmesi) bitkilerin rolü: Mineralize edilebilen organik bileşiklerin tersine inorganiklerin *Remediasyonu* için bunların uzaklaştırılması , giderilebilmesi veya biyolojik olarak etkisiz hale dönüştürülmesi gerekir . Se ve Hg gibi bazı metaller biyolojik dönüşümle (*bio volatilization*) de giderilebilir .Bunlarla birlikte diğer metallerin çoğu ise toprak ve su sistemlerinden fiziksel olarak ekstra edilme durumundadır.

Maliyeti oldukça yüksek olan geleneksel mühendislik proseslerine alternatif olarak, genetik işlemlerle modifiye edilmiş bitkilerin kirlenmiş kaynaklardan, ağır metallerin ekstraksiyonunda önemli bir rol oynaması fikri gittikçe artan bir destek görmektedir . Çok çeşitli bakteri ,mantar, alg ve bitki sistemleri, çevrelerindeki ağır metalleri toplayabilme (konsantre edebilme)

özelliğine sahiptir. Bununla birlikte toksik metallerin topraktan küçük organizmalarla geri alınması Metal *Remedititation*unda maliyet açısından olumsuz bir yoldur. Topraktaki metalin bitkisel olarak geri alınımı, özellikle metaller filizlerde toplanmışsa (kontamine olmuş) yüklü bitkilerin hasat edilmesi bile mümkündür. Hasat edilen bitkilerle topraktan elde edilerek geri kazanılan Zn, Ni, Cu gibi metallerin değeri *remeditation* için ek bir avantaj sağlayabilir. Ancak bu durumun bir alternatif olarak kullanılması, hasat edilen biokütle ve hacim miktarındaki önemli azlığın giderilmesinden sonra olabilecektir. Metallerin giderilmesi prosesinin hızı hasat edilen bio kütlenin yıllık hasat miktarına ve bitkilerin hasat edilen kısımlarında bulunan metal konsantrasyonuna bağlı olacaktır. Kirlenmiş bir alanın makul bir süre içinde (kaç yıl olarak) temizlenmesi, yüksek biokütleli ve metal biriktirme kapasitesi fazla olan bitkileri gerekli kılar. Son olarak bahsettiğimiz özelliği gösteren bitkiler vardır ve metal hiper akümülatörler olarak bilinir. Bununla birlikte bu bitkilerin büyüme hızı oldukça yavaş biokütleleri düşük ve element seçicilikleride sınırlıdır. Dahası bunların *agronomikleri*, genetikleri bitki besleme potansiyelleri ve hastalık spektrumları hakkında çok az şey bilinmektedir.

Hiper akümülatörler diye bilinen bu bitkiler kolayca harmanlanabilen dokularında (*aerial*) kendi kuru ağırlıklarının % 0.2 ile (Cd) % 5 'i (Zn Ni Mn gibi) arasında metal toplama kapasitesine sahiptirler. Bu kabaca daha önce denemiş, benzer önemli iki duruma sahip, tahıl bitkilerinde bulunan konsantrasyonlardan daha yüksektir. Bu karşılaştırma her iki bitki tipinin de metal kirliliğine sahip toprakta yetişip gelişebileceğini tahmin etmemizi sağlar ki bu durum yüksek metal içeriğini tolere etmeyen çoğu bitkilerde sıkça görülen bir durum değildir. Metal alınımındaki bu etkin farkına rağmen hiper akümülatörlerin, biokütlesindeki yıllık ürün genellikle bahsedilen iki önemli durumun, bu gürbüz tahıl bitkilerindekinden daha azdır. Bu yüzden eğer yüksek ürün ve hiper akümülatör özelliklerin, tek bir bitkide birleştirilmesiyle yeni bir bitki elde edilebilirse, metal ekstraksiyonunda iki önemli özelliğin birlikteliğiyle artacaktır. Yeni metal hiper akümülatör özelliklerin potansiyeli; maksada uygun türlerin yetiştirilmesi programları metal hiper akümülatör özellikler ile yüksek biyokütleli ürün özelliklerinin birleştirilmesinde kullanılan geleneksel bir yaklaşımdır. Fakat bir bitkide kendi kültürüne ait özelliklerden dolayı bazen iki özelliğin bir arada bulunması mümkün değildir ve genetik sahadaki gelişmeler bir bitkinin doğasını aşamaz. Bununla birlikte modern

moleküler biyoloji, direkt gen transferi ile bitkinin türe ait olan engelini aşabilir. Esas itibari ile akümülayon özelliklerinin hızlı gelişimini yüksek biokütleyi hedef alan genetik mühendisliğinin imkan dahilindeki alanın dışın çıkmaması gerekir. Yani mantık dışı hedefler hedeflememelidir. Bu bitkilerin zehirli metal iyonlarını tutup depolamalarını artırabilmek için moleküler mekanizma ile ilgili temel bilgilere ihtiyaç vardır. Bu yüzden bu alandaki temel bilgileri artırmak maksadıyla uygun model sistemlerin göz önünde bulundurulması gereği önem kazanmaktadır. Bitkilerin hücrelerinde kadmiyumla nasıl *chelate* oluşturup kadmiyumu nasıl depoladıklarıyla ilgili moleküler mekanizmalar gibi çoğu son temel bilgiler bölünmeyle çoğalan maya mantarı (*schizosaccharomyces pombe*) üzerindeki çalışmalardan gelmektedir. Yine bazı mantarlar metal sitresine karşı bitkilerle aynı hücresel davranış gösterir. Fakat genetik olarak maniple edilebilen, bölünerek çoğalan maya mantarları moleküler çalışmaların hız karakterizasyonuna izin verdiği için bu olay mantarda bitkilerdekilerden kolaydır. Bitki besinleri rizosferik mantara doğallığını koruyarak birleşip bağlanırken, mantarın metal metabolizmasının aydınlatılmasından bitki metal ekstraksiyonuna yardımcı olmak için geliştirilen mikroplara ek fırsatlar sağlar. Bu model organizmadan alınan hedef genler önce klonlanır ki bu genlerin dizileri ev sahibi hücreye (*heterologusa*) gen transferi için modifiye edilir veya daha kompleks organizmalardaki *homolog* genler için yapılan araştırmalara yardımcı olabilir.

Bir tek hücrenin model sistem olarak kullanılmasındaki bir dez avantaj çok hücreli olayların tanımlanmasına yardımcı olamamasıdır. Bitkilerin metalleri köklerden filizlere nasıl taşınıp konumlandığı öncelikli bir merak konusu olacaktır. Bununla birlikte göz önünde bulundurulması gereken önemli bir noktada şudur. Bitkilerin metalleri bir organdan diğer organa nasıl taşıdığı dikkate alınmazsa bu iyonların son gidecekleri yerin diğer bir hücre olacaktır. Bu yüzden hücresel seviyede tolerans ve depolama kapasitesinde artış olmaksızın, taşınıp konumlandırılmasının geliştirilmesi sadece foto sentetik dokularda (*aerial*) hücre zehirlenmesini hızlandırır. Biokütle ve gelişim hızını sınırlayan bu etki yüksek kapasiteli metal ekstraksiyonu için can alıcı faktör olacaktır (Ow 1996).

MT (*Metallothioneins*)genleri, metal iyon metabolizması ve detoksifikasyon mekanizması üzerinde önemli bir role sahiptirler. MT'ler sınıf 1 ve sınıf 2 olmak

üzere iki çeşittir. Bunlar düşük moleküler ağırlıkta ve metallerle birleşen proteinlerdir. Bu proteinlere canlılarda yaygın olarak rastlanır özellikle hayvanlar aleminde daha yaygındırlar. Aynı zamanda sieno bakterilerinde, mantarlarda ve bitkilerde varlıkları da ortaya çıkarılmıştır. Mantarlarda MT genlerinin transkripsiyonel aktivasyonları bakırla birlikte olmaktadır. Bununla birlikte hayvansal ve mikrobiyal MT genlerinin aktivasyonu bazı metal iyonları tarafından olmaktadır. Kodlanmış olan proteinlerin metale bağlanma potansiyelleri bazı metal iyonlarının varlığıyla alakalıdır. Bu olay aynı zamanda MT genlerinin metal iyon metabolizması ve detosifikasyonu üzerindeki rolüne sahip olduğunu gösterir. Yüksek yapılı bitkilerde bazı toksit metallerin artma derecelerine göre MT 3, *phytochelatin* ve *cadystin* genlerinin kodladığı protein sentezleri de artmaktadır. Bu genlerin fonksiyonu için bazı metal iyonlarının özellikle kadmiyum ve bakır gibi metallerin iyonlarını optimal konsantrasyona detoksife etmek olarak söylenebilir. Aynı zamanda MT sınıf 1 ve sınıf 2 genleri bitkilerde de fonksiyonel olarak benzerlik gösterdikleri belirlenmiştir. Yine bazı yüksek bitkilerde MT genlerine benzer bazı genler barındırıldığı tespit edilmiştir. Bu genleri MT' ye benzer dizilimlerdedir. Bu genlerden metali biriktiren ve metale karşı dayanıklılık oluşturan genler olarak *metallothionein* ve *phytochelatin* genleri buğdayda araştırılmaktadır.

Metallerle kirlenmiş topraklarda veya maden bölgelerindeki topraklarda bitkiler 3 tane strateji geliştirmişlerdir (Baker ve Wallker,1990). Birinci yöntem metali içeri sokmama olayıdır. Bu bitkiler metali hariç tutarak etkilerini azaltmaktadır. Bu durumdaki bitkiler havayla temas eden kök bölümlerinde metalin girmesini engellemektedir. Buna rağmen bunlarda da yüksek miktarlarda metal bulunabilmektedir.

İkincisi ise metali gösteren indikatörler (metal belirteçleri) metalleri yüzey üzerindeki dokularda biriktirirler ve buradaki metal dereceleri bu bitkilerin yaşadığı topraktaki metal dereceleri için bilgi verir.

Üçüncüsü ise biriktirmedir. Bu bitki çeşitlerine hiper akümülatörler denir. Bunlar metalleri konsantre edebilir ve kendi toprak yüzeyi üzerindeki kısımlarında topraktaki miktarlarından çok daha fazla birikmiş durumda bulundurabilir. Bu biriktirme oranları, metal biriktirmeyen bitkilerdeki miktarın çok daha üzerinde olmaktadır. Bu miktarlar, Ni, Co, Cu, Cr ve Pb da binde bir oranında ve çinko da ise

yüzde 1 oranında bulunmaktadır. Bu miktarlar, yapraklardaki kuru ağırlıkta bulundurma miktarıdır ve böyle bitkilere hiper akümülatör (yüksek miktarda biriktirici) adı verilmiştir. Hiper akümülatör bitkilerdeki ağır metal oranları topraktaki metal konsantrasyonundakinden bağımsız olarak oranlanırlar.

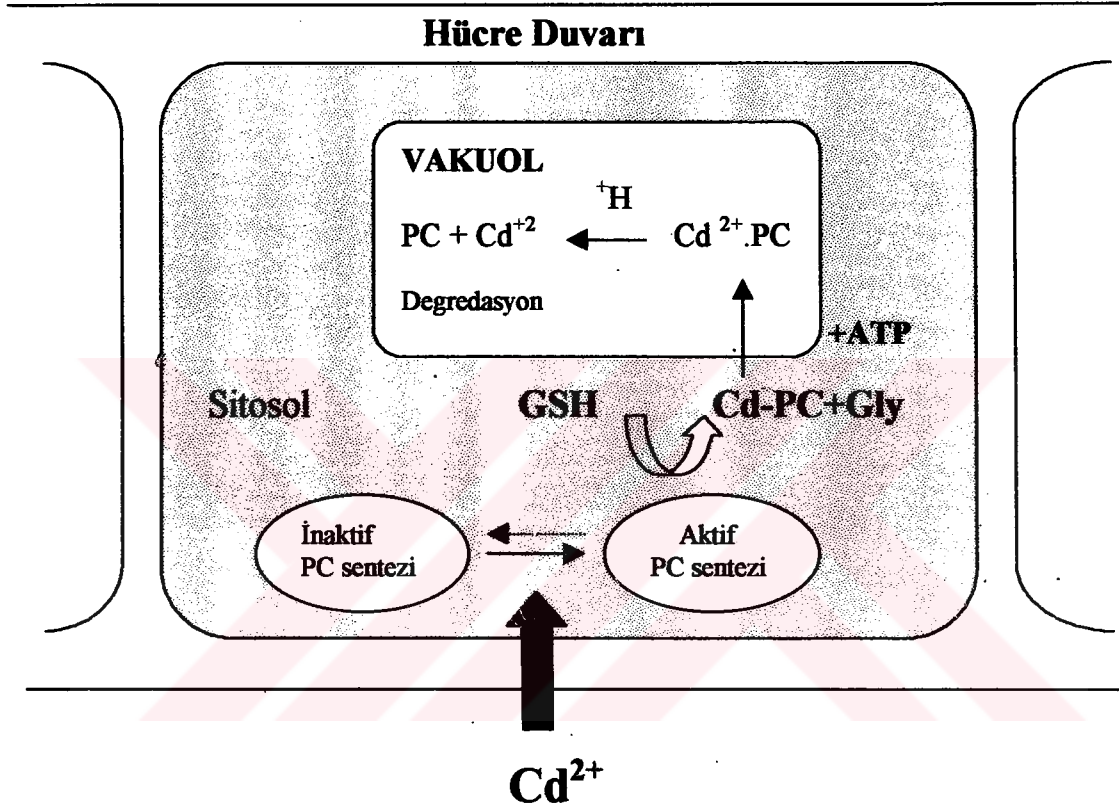
Biriktirici bitkilerle alakalı olarak 4 alanda bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlardan birincisi; topraktaki metal konsantrasyonu, fiziksel ve kimyasal özellikleri, biriktirici bitkilerin bu fonksiyonlarıyla ilgili fizyolojisini etkileyen faktörlerdir. İkincisi ise metallerin taşınması ve taşınmanın kesilmesi özellikleridir. Üçüncüsü metal hiper akümülasyon fizyolojisinin biyokimyasal ve moleküller olarak mekanizmasının bilinmesidir. Dördüncüsü ise metal akümülasyonunun evrimsel ve biyolojik önemidir. Bitkiler içerlerindeki metalleri çeşitli yöntemlerle dağıtırlar. Bazı metalleri daha çok köklerde ve gövdelerde toksik olmayan bir formda biriktirebilirler. Bu durumdan sonraki aşamada, dayanıklı ve biriktirici bitkilerde bu metalleri dağıtma veya kullanmanın mekanizması, potansiyel toksik metallerin bağlanmasını içermektedir. Bu bağlanma köklerde ve yapraklarda hücre duvarına bağlanma şeklinde olmaktadır. Bağlanma olayı bitki hücrelerinin içerisindeki bazı duyarlı bölgelerden uzak bölgelerde olmaktadır. Yine bu metal duyarlılığına ilişkin olaylar ve biriktirme oluşumları vaküler bölümlerde de olabilmektedir. Diğer bazı mekanizmalar ağır metal dayanıklılığını destekleyebilir. Bu durumun çeşitliliği bitkilerin çeşitliliğiyle ilişkilidir.

Metal chelating proteinlerinin uyarılıp harekete geçirilmesiyle ilgili bu olaylar hücre metabolizmasını değiştirmektedir ve fazla miktarda olan metal iyonlarına karşı olan hücre dayanıklılığının derecesini artırmaktadırlar. *Phytochelatin*ler enzimatik olarak *Glutathionin*lerden sentezlenirler. *Glutathionin*ler (gsh) ve bu sentezleme olayları metale tepki olarak oluşmaktadır (Rauser 1990). Arabidopsislerin mutantları ki bunlar PC sentezi eksik olanlardır. Bu mutantlarda PC sentezlenmesi de yetersiz kalmaktadırlar. Bunlar kadmiyum ve civaya karşı hiper dayanıklıdırlar. Fakat bu mutantlar bakır ve çinko dayanıklılığının yabani derecelerine de sahiptirler (Howden et al. 1995). PC sentezi izo elektrik bir olaydır. PH 4,8 –7.9 civarı ve 35 derece sıcaklığı optimum koşullarıdır. Enzimin moleküler ağırlığı 95 k.d. kadardır ve 4 alt bölümden oluşmaktadır. Değişik yüksek yapılı bitkilerde PC sentezi gerçekleşebilmektedir (Clemens et al. 1999). Ağır metal iyonları için vakuol en son

depolama bölümüdür. Bu iyonlar bitkinin sitosolüne girerek gsh, PC sentezini aktive ederler ki bunlar farklı zincir uzunluklarındadır. PC nin sentezlenmesi ve gsh la etkileşimi sonunda metal chelatingler oluşmaktadır. PC ve gsh *chelate* oluşumuyla harcanmaktadır. Metal PC kompleksi sonuç olarak sitosolden vakuole taşınmış olmaktadır. Şekil.2.2.'de gösterildiği gibi metal iyonları (mesela Cd^{+2}) bitki hücrelerine geçirgen hücre duvarından girerler ve PC sentezini aktive ederek artırır. Bu PC sentezi gsh'ın PC'ye dönüşümünü yani transformasyonunu katalize etmektedir. Yani PC sentezi gsh'ın PC'ye transformasyonunu aktive etmektedir. Cd PC kompleksi vakuol tarafından aktif bir şekilde alınmaktadır. Vakuol içinde kadmiyum PC kompleksi ayrışmakta ve metal orada(PC peptit indirgenerek) birirmektedir. Metal iyonunun varlığıyla birlikte gsh ta kullanılır ki bu da sitosol içinde mili molar konsantrasyonlar halinde bulunmaktadır. Metale bağlanan peptitlerin sentezlenmesi ve bunlarında metallerle kompleksler oluşturmasıyla *chelate*lar oluşmaktadır. Böylece toksik metal iyonları inaktif olurlar. Sitosole giren toksik metaller metabolik iyonlar için gerekli olan enzimleri inaktif etmeden önce hücreler *chelate*ları yaparlar. (Bu olaya detoksifikasyon denir). Detoksifikasyondan başka, PC bitkiler içerisindeki ağır metallerin biyolojik dengesinde de rol oynamaktadırlar. Bu mekanizma metal iyonlarının bitki içerisindeki kullanılabilirliğini düzenlemektedir.

Metallothioninler (MT) düşük moleküler ağırlıklı proteinlerdendir. Hayvanlarda ve bitkilerde bulunmaktadır. Bu proteinler ağır metallere bağlanarak, metallerin bloke edilmesinde rol almaktadırlar. Aynı zamanda bitki hücreleri içerisindeki detoksifikasyon mekanizması içerisinde de rol almaktadır. Bitkilerdeki çeşitli MT genleri hayvan MT proteinlerine benzerlik göstermektedir. Bunlar 2 tipe ayrılmaktadır. *Sistatin* ve *metionin* düzenlenmesi baz alınarak MT 1 MT 2 diye ikiye ayrılmışlardır. 1997'ye kadar tek bitki proteini *metallothionin* olarak dizayn edilen bitki proteini buğday Ec proteinidir (Lane et al. 1987). 8 tane MT geni ortaya çıkarılmıştır. Bunlardan ikisi tohum büyümesi sırasında etkili (eksprese) olmaktadır. Diğer beş gen vejetatif dokularda etkilerini (eksprese) göstermektedirler. Bu genlerin farklı etkileri, etkileşimleri ve çevre şartları ile olan ilişkileri tolerans çeşitliliklerini ortaya çıkartmaktadır. MT 1 mRNA daha çok köklerde ortaya çıkmaktadır. MT 2 ve MT 3 için olan mRNA ise daha çok gövdede ortaya çıkmaktadır. Normal MT mRNA ifadesinin az olduğu dokularda bakır etkileşimlerinden kaynaklanan MT mRNA sının

teşviki gözlemlenmektedir. Bu da göstermiştir ki *arabidopsis* dokularında MT genleri tarafından kodlanan proteinlerde aynı şekilde metal teşvikli olayları takip etmektedir(Murphy et al. 1997).



Şekil.2.2. Cd^{2+} iyonunun hücre içerisinde vakuole taşınması (Memon ve ark. ICGEB Kurs Kitabından).

3.MATERYAL METOT

3.1.Materyal

3.1.1.Tohumların Temini

Araştırmamızda kullanacağımız tohum materyali olarak ülkemizde en çok yetiştirilen bitkilerden buğday bitkisi seçilmiştir. Buğday deneyleri, yapılması ve tekrarı en uygun en hızlı seçeneklerden birisidir. Aynı zamanda genotipik olarak da tanınmış bitkilerin seçilmesine imkan verebilmektedir. Bu doğrultuda ağır metal kirliliğinin en yoğun rastlandığı Marmara ve Ege bölgelerinde yetiştirilen buğday ırkları seçilmiştir. Tohumların tamamı ekmeklik buğday tipindedir. Kaynak olarak Kocaeli ili, Gebze ilçesinde faaliyet gösteren, Tarım Bakanlığına bağlı Tohum Sertifikasyon Merkezinden tür altı özellikleriyle sertifikalı tohumlardan temin edildi. Kullanılan 12 buğday varyetesi Tablo.2.1.'de gösterilmiştir. Tohumlar kuru, serin ve karanlık yerlerde etiketlenerek muhafaza edildi.

Tablo.2.1.Denemelerde kullanılan buğday varyeteleri, yetiştirildiği bölge ve elde edilebileceği yerler.

Tohum Adı	Yetiştirildiği Alanlar	Kurumsal Kaynak
Pehlivan	Marmara Bölgesi-Trakya	Trakya T.A.E.
Slovanija	Marmara Bölgesi-Trakya	Trakya T.A.E.
Momtchill	Doğu Marmara-Trakya	SakaryaT.A.E.
Prostar	Güney Marmara-Trakya	Trakya T.A.E.
Golia	Güney Marmara-Trakya	Trakya T.A.E.
Kate A 1	Güney Marmara-Trakya	SakaryaT.A.E.
Orso	Doğu Marmara-Trakya	SakaryaT.A.E.
Pamukova	Doğu Marmara	SakaryaT.A.E.
Kırkpınar	Trakya	Trakya T.A.E.
Martonvasari 12	Trakya	Trakya T.A.E.
Gönen	Marmara Bölgesi	Ege T.A.E.
Gemini	Ege-Marmara	Çukurova T.A.E.

3.1.2. Su Kültürü Çözeltisi (Hoagland Solüsyonu)

Metal toksitlenmesiyle ilgili gözlemleri ve ölçümleri etkileyen bir çok faktör vardır. Özellikle bitki fizyolojisi ve toprak yapısı (fiziksel , kimyasal) arasında çok çeşitli etkileşimler olmaktadır. Bu ve benzeri etkileşimleri en aza indirebilmek ve deneyi etkileyebilecek faktörleri kontrol altında tutabilmek için deneyin su

kültüründe yapılması gerekmektedir. Bitki metabolizmasının keşfi ve bitki analizlerinin ortaya koymuş olduğu veriler, bitki yapısındaki çeşitli elementleri ve bunların bitkideki önem ve etkilerini açıklamıştır. Bütün bu incelemelere dayanılarak bitki beslenilmesinde çeşitli besleyici çözeltiler kullanılmıştır. Bunlara misal olarak en çok kullanılan Knop, Van der Crone, Hoagland besleyici çözeltileri verilebilir. Bu araştırmada su kültürlerinde en sık kullanılan besleyici çözelti olan Hoagland tercih edilmiştir. Aşağıda hoagland içeriği verilmiştir.

Hoagland Stok Solüsyonunun İçeriği:

<i>SOL. I</i>	13ml
<i>SOL. II</i>	1ml
<i>SOL. III (Fe-EDTA)</i>	0,2ml
<i>H₂O</i>	1 litre PH:5,5

SOL. I

1 M NH ₄ H ₃ PO ₄	1ml
1 M KNO ₃	6ml
1 M Ca (NO ₃) ₂	4ml
1 M Mg SO ₄ .	2ml

SOL.II

H ₃ BO ₃	2,86 g / litre
Mn Cl ₂ 2H ₂ O	1,81 g / litre
Zn Cl ₂	0, 11 g / litre
CuCl ₂	0.05 g / litre
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.025g / litre

SOL.III (Fe-EDTA)

Na ₂ EDTA – 2H ₂ O	37,3 mg / litre
Fe SO ₄ 7H ₂ O	27,5 mg / litre

3.1.3. Diğer Malzemeler

Su kültüründe kullanılacak olan hoagland Şekil.3.1.'deki hydroponic sistemle bitkilere verilir. Bu sistem her deneme bitkisi için 300 ml lik bir bardak, bitkinin sadece köklerinin sistemle temasını sağlayacak şekilde yerleştirildiği sünger ve köklerin ihtiyacı olan havayı basacak borular ve akvaryum kompresöründen oluşmaktadır. Su kültürü olarak içerisinde bitki yetiştirilecek olan bardaklar, kullanım kolaylığı, tekrar kullanım ve eldeki imkanların verimliliği düşünülerek 300 ml. boyutlarında, ışığı doğrudan geçirmeyecek mat renkte plastik yapılı olanlardan seçilmiştir. Denenecek her buğday ırkı (varyete) için biri kontrol grubu olmak üzere 4 bardak kullanılmıştır. Süngerler yapay bulaşık süngerleri tipindekilerden olup bardak içine düşmemesi için bardak çapından biraz büyükçe kesilmiştir.

Hava kompresöründen çıkan hava, dağıtıcılarla her bardağa bir küçük şeffaf boruyla dağıtılmıştır. Bu borular, dağıtıcılar ve kompresör akvaryum malzemelerinden temin edilmiştir.

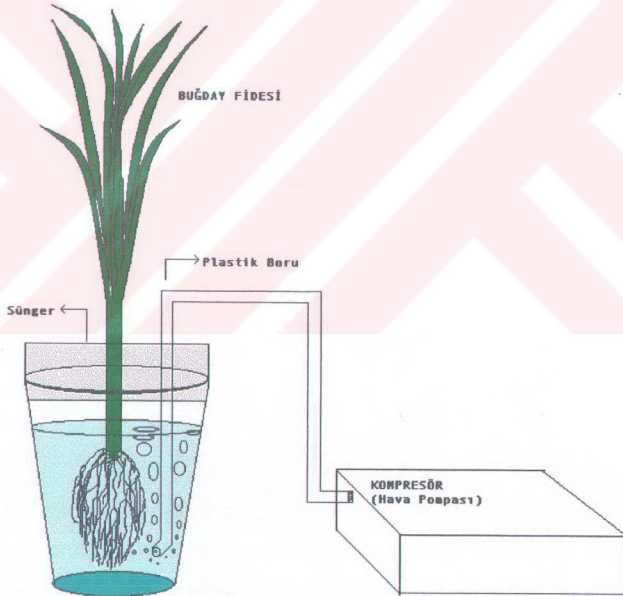
3.2. Metot

Denemeler 2 aşamada yapılmıştır. Birinci aşamada bütün varyeteler taranmış, dirençli 2 varyete ve hassas 1 varyete belirlenmiştir. İkinci aşamada seçilen bu varyeteler 3 kez daha kendi aralarında taranmıştır. Bu aşamada 150 ppm lik konsantrasyon 200 ppm'e çıkarılmış, yakma işlemi otomatik aletle yapılmış, yıkamada sadece su kullanılmış ve son bir değişiklik olarak da tartmadan önceki kurutma süresi ve ısı miktarı artırılmıştır.

3.2.1. Hoagland Çözeltisinin Hazırlanması

Hoagland solüsyonu önceki sayfada belirtildiği gibi 3 ayrı stok çözeltiler halinde hazırlanmaktadır. Sol. I, II ve III verilen ölçülerde hazırlanır ve 1 litrelik hacme distile suyla tamamlanır. Çözeltiler deney tekrarı ve örnek sayısı ile oranlanarak çoğaltılabilir. Her bir örnek için 170 ml beslenme çözeltisi kullanılır ve bu hacmin $\frac{1}{4}$ oranı hoaglanddan oluşur. Kalan kısım distile suyla tamamlanır.

Hazırlanan hoagland kullanılmadan önce otoklavlanarak sterilize edilir. Deney için daha geniş, kontrollü bir çevre oluşturmak maksadıyla, bitki ve yetişeceği ortamı in vitro şartlara taşımak gerekmektedir. Bunun için en iyi tercih bitkileri, hydroponic sistemle (su kültüründe) yetiştirmek olacaktır. Bu doğrultuda en sık kullanılan besi çözeltisi olarak hoagland solüsyonu seçilmiştir ve in vitro yetiştirme modeli olarak sistem Şekil.3.1.'de özetlenmiştir. Hazırlanan hoagland besin solüsyonu 4 ayrı konsantrasyondaki bakır oranıyla ayrı bardaklarda bitki büyüme ortamı ve besin kaynağı olarak kullanılır.



Şekil.3.1. Bitkilerin Yetiştirildiği Su Kültürü (Hydroponic Sistem). Bardaktaki Sıvı Hoagland Besin Çözeltisidir. Hava İse Köklerin İhtiyacı Olan O_2 Kaynağıdır.

Bardakların çapından 0,5 cm fazla olacak şekilde yaklaşık 2,5 cm kalınlığında süngerler kesildi. Süngerlere hava borusu için ve buğday fidelerinin yerleştirilmesi için yarıklar açıldı. Süngerler seyreltik (% 5) NaHClO_4 (çamaşır suyu) çözeltisinde dezenfekte edildi. Süngerlerin üzerlerine, yerleştirilen buğdayların numarası kodlandı. Bardaklar üzerine hangi buğday varyetesi yerleştirilecekse onun adı ve hangi ağır metal konsantrasyonunda yetiştirilecekse miktarı silinmeyen kalemle yazıldı. Koyulacak besleme çözeltisi miktar olan 170 ml' lik mesafeler işaretlendi. Büyük boy akvaryum motoruyla her bardak için ince bir boruda hava taşınacak şekilde dağıtıcılar kuruldu. Kabarcıkların ince oluşması için boruların ağzı parafin filmle kapatılıp iğneler ile küçük delikler açıldı. Hydroponic sistem hazırlandıktan sonra tohumların çimlenmesi sürecine başlandı.

3.2.3.Denenecek Buğday Varyetelerinin Çimlendirilmesi

Her varyeteden yeterli sayıda buğday alınıp polipropilen tüplere koyuldu. Üzerine %10 luk NaHClO_4 10 defa distile suyla sulandırılarak ortalama 25 ml boşaltıldı ve 15 dk süre bekletilip bol distile suyla 3 kez çalkalanarak yıkandı. Dezenfekte edilmiş tohumlar uygun sayıda her bir deneme sayısı kadar ayrıldı. Daha sonra petri kapları ve petri kaplarının iç çapı ölçüsünde kesilmiş whatman kağıtları hazırlandı. Her petriye yeteri kadar su tutması için 3-4 kat whatman kağıdı yerleştirildi. Whatman kağıdı da kullanılmadan önce otoklavdan geçirildi ve petrilere yerleştirildi. Her tohumun ırk olarak (varyete) ismi petrilere üzerine yazıldı. Çimlenme tarihi not edildi. Çimlenmeye bırakılacak tohumlar, içinde whatman kağıdı bulunan petrilere dizildi. Dizilecek tohumların sayısında, çimlenme ve çimlenmişlerin de transferi sırasında olabilecek anormal gelişmeler de hesaba katılarak fazla sayıda tohumlar yerleştirildi. Yerleştirme işlemi bittikten sonra 20-25 ml suyla whatman kağıdı sulandı. Bu sulamada tohumun ortamdaki rahatça su ve hava alması sağlanacak şekilde bir miktar hedeflendi. Daha sonra tohumun suyla teması için üzerine de bir whatman kağıdı kapatıldı.

Çimlenme düzeneği kurulduktan sonra karanlık bir ortamda çimlenme süreci başlatılmış oldu. Her gün kuruma durumlarına göre sulama işlemi yapıldı. Çimlenme ve transfer boyutuna ulaşma iklimsel koşullara göre 7-8 gün en geç 9 gün sürebilmektedir. İlk denemelerde whatman kağıdının altına su tutma kapasitesinin

Çimlenme ve transfer boyutuna ulaşma iklimsel koşullara göre 7-8 gün en geç 9 gün sürebilmektedir. İlk denemelerde whatman kağıdının altına su tutma kapasitesinin artırılması için pamuk koyulmuştur. Ancak çimlenme sırasında pamuk dokuları arasına giren köklerin, su kültürüne transferi anında çıkmayıp kopmasından dolayı büyük kayıplar oluşmuştur. Bu nedenle bu uygulamadan vazgeçilmiştir. Çimlenmiş fidelerin transfer boyutu ortalama 12-15 cm olarak belirlenmiştir. Şekil.3.2.'de çimlenme aşamaları gösterilmiştir.

3.2.4.Fidelerin Su Kültürüne Transferi ve Ağır Metal Derecelerinin Uygulanması

Transfer boyutlarına ulaşan buğday fideleri, büyük bir itina ile gövde ve kök kopmaları olmayacak şekilde petri ve whatman ortamından su kültürüne transfer edildi. Her buğday ırkı (varyete) önceden hazırlanmış olan su kültürüne tam olarak aktarıldıktan sonra sıradaki ırk aynı işleme tabi tutuldu. Bu işlemle çimlenme ortamından ayrılan fidelerin kurumması ve karışması engellenmiş olmaktadır. Her bir bardağa transferdeki başarıya göre 7-10 fide yerleştirildi. Transfer anında whatman kağıdına köklerin yapışmasına göre kök ve gövde kopmaları olmaktadır. Önceden hazırlanmış olan hoagland besi çözeltisine, 1 litrelik 4 ayrı kapta 0, 50 100 ve 150 ppm' lik konsantrasyonlar oluşturulacak şekilde CuCl_2 eklenir (2. Aşama denemelerde 150 yerine 200 ppm CuCl_2 konsantrasyonu kullanıldı). Oluşturulan ağır metal karışımli besin çözeltisinden, transfer işlemi gerçekleştirilecek olan bardaklara 170 ml olacak şekilde dolduruldu. Petriden alınan fideler, bardağın üst kısmına sadece kök kısmı daldırılacak şekilde yerleştirildi. Fidelerin bu pozisyonda asılı kalması süngerlerle sağlandı. Süngerlere açılan yarıklara bitkiler eşit oranda dağıtıldı. Su kültürü (hydroponic sistem) her bir varyete için Şekil.3.3.' de olduğu gibi gerçekleştirildi ve fidelerin her gün kontrolleri yapıldı. Düzenekteki çözelti, hava ve diğer faktörlerin her deneme ve her örnek için eşit koşullar şeklinde uygulanmasına dikkat edildi.

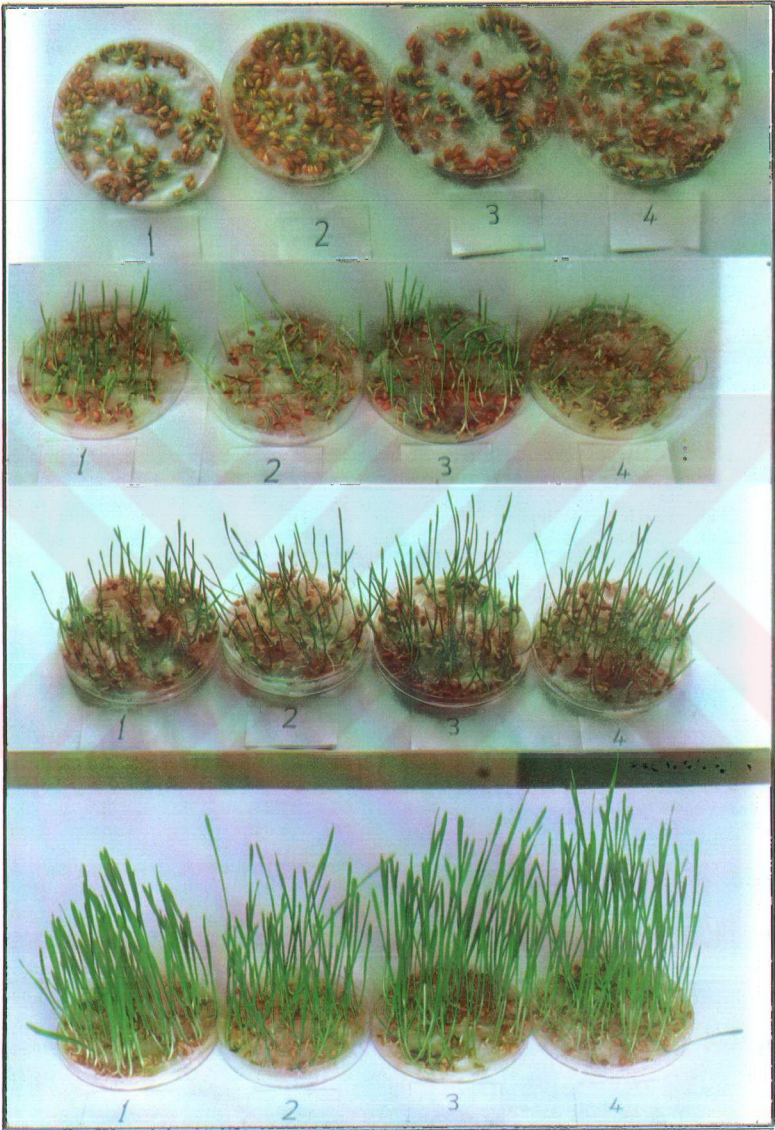
Transfer işlemi gerçekleştirilmiş fidelerin su kültüründe yaşama koşulları, oda koşulları olarak uygulandı. Güneş ışığı deneyin yapıldığı tarihlerdeki gün uzunluğu ölçüsünde verildi. Ayrıca geceleri 20 watluk flüoresans lambayla da ışık görmeleri sağlandı.

Sloanija

Golia

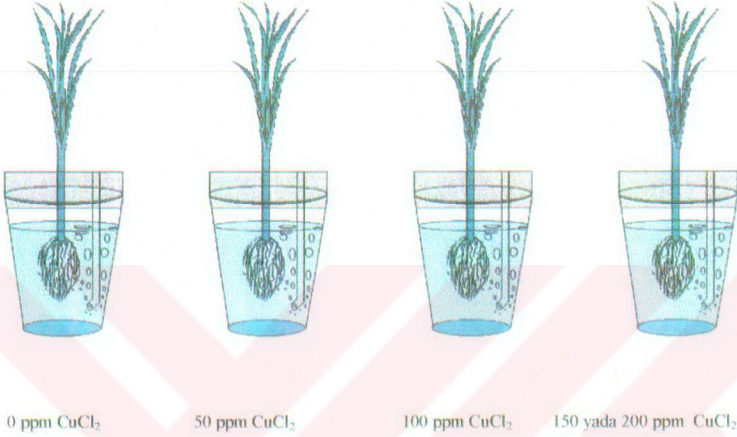
Pehlivan

Orso

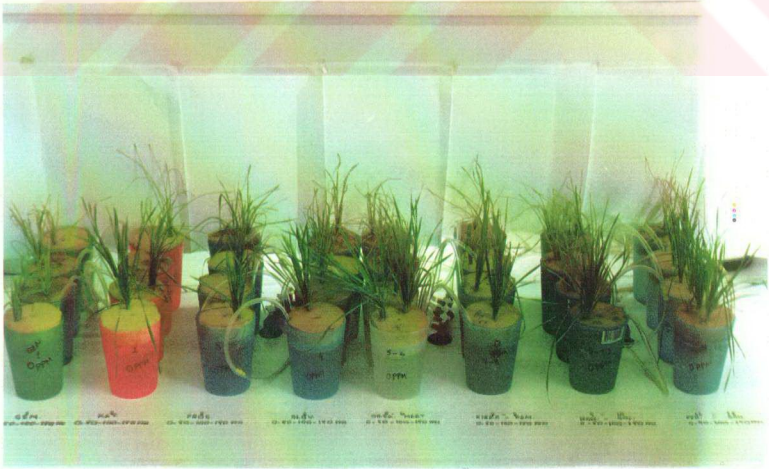


Şekil.3.2. Dört Buğday Varyetesinin (Sloanija,Golia,Pehlivan,Orso) Sırasıyla 2,4,5 ve 8 Günlük Çimlenme Boyutları ve Çimlenme Düzenegi Görülmektedir.

Su kültürü (hydroponic sistem) her gün gözden geçirildi. Havalandırma oluşabilecek sorunlar engellendi. Eksik hoagland besi solüsyonu olan bardaklar tamamlandı. Her 4 günde bir hoagland besi solüsyonu tamamen değiştirildi.



Şekil.3.3. Bir Buğday Varyetesine Su Kültüründe Çeşitli Konsantrasyonlarda CuCl_2 Uygulamasının Başlangıç Boyutlarının Şekli.



Şekil.3.4. 8 Varyetenin Su Kültüründe Denenmesinin Topluca Görünüşü.

Bu düzenekte deneyler çok sayıda yapılmış olup sistemden alınan en iyi sonuçlar dikkate alınarak deneme optimizasyonu sağlanmış ve kayda geçirilmiştir. Diğer denemelerdeki aksamalar, hata kaynakları olarak not edilmiş ve hassas olunmaya çalışılmıştır. Bütün olgunlaştırma ve geliştirme aşamalarından sonra yapılan denemelerin örnekleri ölçülmek üzere saklandı ve kayıtlara geçirildi. Optimum şartlarda ve sonuçlar göz önüne alınarak bütün varyeteler denemeden geçirilmiş kalitatif ve kantitatif gözlemler neticesinde dirençliler ve hassaslar tespit edilmiştir. 12 tür 4'erli gruplar halinde denenmiş ve birinci aşamada 8 varyeteye indirgenmiştir. Daha sonra kalan 8 varyete Şekil.3.4.'deki gibi 8'erli grup halinde aynı sürece tekrar tabi tutulmuş bunlar öncekilerle beraber atomik absorpsiyon spektrofotometrede taranmıştır. Alınan sonuçlar baz alınarak, biriktirme kapasitelerine ve deneme sürecindeki kalitatif gözlemlere dayanarak 2 dayanıklı 1 de hassas olmak üzere 3 varyete seçilmiştir.

İkinci aşamada seçilen 3 varyete üzerinde yoğunlaştırılmış ve önceki aşamadan farklı olarak 150 ppm yerine 200 ppm CuCl_2 dozu uygulanmış ve 3 seri denemeden sonra bunlar tekrar atomik absorpsiyon spektrofotometre ölçümüne alınmıştır. Atomik absorpsiyon spektrofotometre ölçümlerine bütün deneme sonuçlarının aynı anda girmesi için deneme sonuçları biriktirilmiş ve hepsi birlikte ölçüme alınmıştır. Su kültüründe yaklaşık 1 ay süreyle yetiştirilen bitkilerin gözlemleri en yüksek metal konsantrasyonu bulunduranların ölmesiyle sonuçlandırılmıştır. Bu süreçten sonra kantitatif ölçümler hedeflenerek su kültüründen çıkarılan bitkilerin atomik absorpsiyon spektrofotometre cihazında ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.3.Buğday Varyetelerinin Farklı Bakır Konsantrasyon Derecelerine Tepkileri

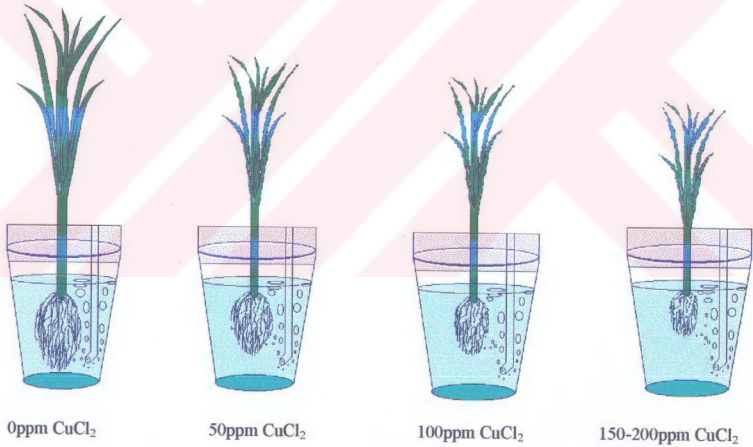
Araştırmamızda transferi gerçekleştiren bitkilerin ortalama 6-7 gün sonra 100 ppm ve üzeri değerlerdeki CuCl_2 derecelerinde klorosiz (sararma) başlangıcı gösterdikleri tespit edilmiştir. Hassas gruplarda zaman geçtikçe bu sararma ilerlemekte ve ölümle sonuçlanmaktadır. Sararma 50, 100 ve 150-200 ppm CuCl_2 bulunduran su kültürlerine doğru artışlar göstermektedir. Yani, CuCl_2 çözeltisinin az

olduğu bardaktan çok olduğu yere doğru sararmada artış görülmektedir. Sararma dirençlilerde 12-14. günlerden sonra hissedilir derecelere ulaşmaktadır. 0 ppm CuCl_2 bulunduran kontrol grubunda ise su kültürünü oluşturan sistemde bir sorun çıkmadığı sürece veya kontaminasyon olmadığı zamanlarda daima yeşil ve canlı kalmaktadır.

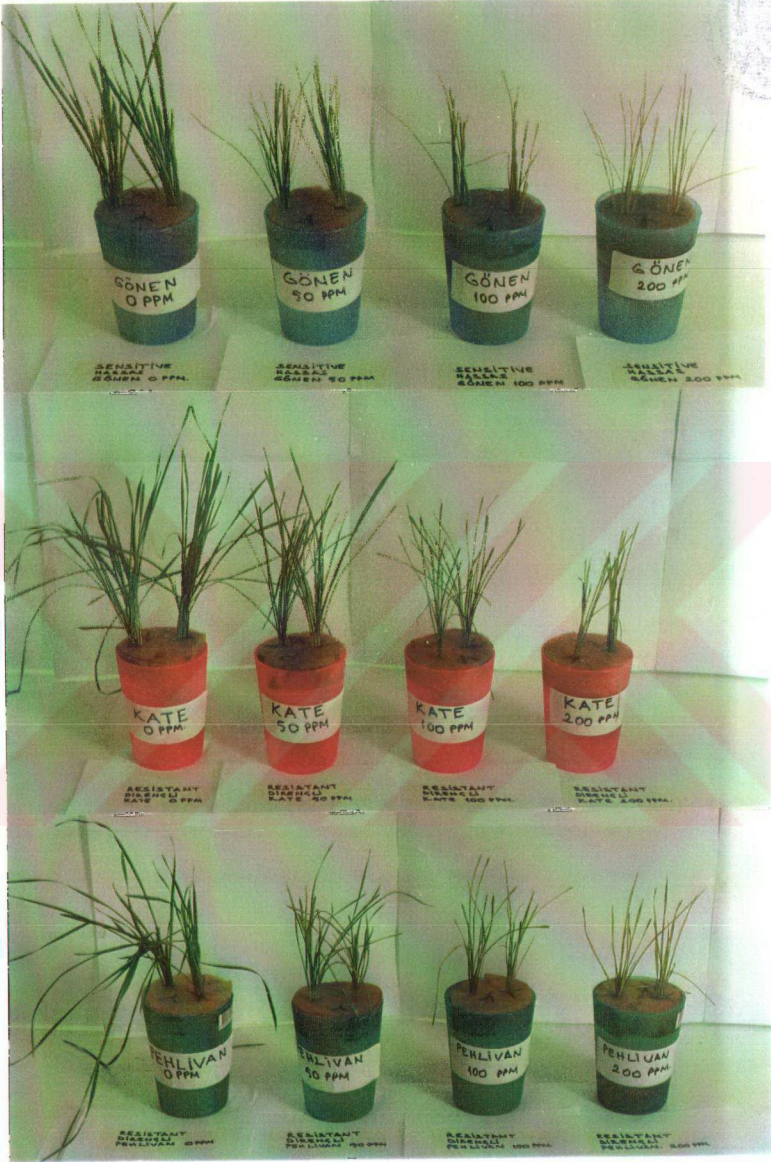
Klorosiz etkisi ani ve hızlı olmamaktadır. Hassaslarda 6-7 gün sonra başlayıp çok yavaş bir hızda devam etmekte ve yaklaşık olarak 4'üncü hafta sonu veya 5'inci hafta da ölümlerle sonuçlanmaktadır. Klorosiz ve ölümler 200 -150 ppm ve 100ppm CuCl_2 bulunduran deneme örneklerinde daha önce olmaktadır. Bu durum dirençli gruplarda daha uzun sürüyor. Ancak hassas ve dirençlilerin 50 ppm lik grubunda etkilenme çok az ve yavaş oluyor. Tabii bu durum her grup da olduğu gibi dirençlilerde hassaslara göre daha geç ve daha az olarak açığa çıkmaktadır. Klorosiz ve ölümler yaşlı veya ilk yaprak olarak niteleyeceğimiz yapraklarda başlamaktadır. Hassaslarda 200 ppm'de deneme süresi sonuna doğru çoğunlukla ölümler kesinleşmektedir. Ancak nadiren de olsa bazı fidelerde genç yapraklardan canlı kalabilenler olabilmektedir. Yine bu canlı kalabilenlerde de klorosiz belirtileri belirgin bir şekilde görülebilmektedir. Dirençlilerde deneme sonunda hala canlı ve yeşil rengin ağırlıkta olduğu bitkiler bulunabilmektedir. Metal konsantrasyonun artmış olduğu deneme gruplarında metal yoğunluğuyla ters orantılı olarak kök ve gövde büyümelerinde etkilenmeler olmaktadır. Bakırın yoğun olduğu bardaklarda bitki büyümesi kök ve gövde olarak çok küçük ölçülerde gerçekleşiyor. Metal konsantrasyonun miktarına göre kök ve gövde büyümesine olumsuz etkileri, Şekil.3.5.'da azdan çoğa doğru şematize edilmiştir. Aynı durum Şekil.3.6.'de seçimi yapılan hassas ve dirençli varyeteler için fotoğraflanmıştır. Büyüme ve renk değişimi etkisi bariz bir şekilde burada da görülmektedir.150-200 ppm CuCl_2 konsantrasyonlarındaki bitkilerin kök ve gövdelerindeki büyüme durma noktalarına kadar indirgenmektedir. Klorosiz bütün varyetelerde ilk önce buradan başlamakta ve ölümler burada olmaktadır. Hassaslarda bu konsantrasyonlara karşı tepki diğer bütün varyetelerden daha hızlı olmaktadır. Tepki büyümede duraklama ve şiddetli klorosiz olmaktadır. Ölçümlerden de anlaşıldığına göre, metal birikimi bakımından bu varyeteler küçümsenmeyecek ölçülerdedir. Ancak bu birikim bu varyetelere önce şiddetli klorosiz sonrada ölümlerle sonuçlanacak şekilde tesir edebilmektedir. Dirençlilerde bahsedilen bu etkiler daha hafif olmaktadır. Deneyin sonlandırıldığı durumlarda klorosiz en son dirençlilerde ölümlerle sonuçlanmaktadır. Ancak büyüme

bunlarda da engellenmektedir. Klorosiz se bunlarda da olmaktadır. Dirençlilerde her iki etkide hassaslara göre daha az ve geç olmaktadır. Seçilen dirençlilerde metal birikimi de önemsenerek ölçüldedir. Şekil.3.6. ve Şekil.3.7.'de seçilen 3 varyete için belirtilen metal etkileri görülmektedir.

100 ppm'de ise 200ppm'e göre hissedilir ölçülerde daha uzun boylu kök ve gövdeye sahip gelişmeler olmaktadır. Klorosiz er geç bu grupta başlıyor ve ölümler 200ppm'e göre daha sonra ve nadiren olmaktadır. Çoğu zaman deneme sonunda bu grup sararmış ama yeşil tonların hala hakim olduğu görünümünde bitkiler bulundurulur. Söz edilen belirtiler hassaslarda daha sık ve yoğun şekilde olurken dirençli varyetelerde bu etki çok daha az olmaktadır. Şekil.3.6.ve Şekil.3.8.'de bu durum görülmektedir.

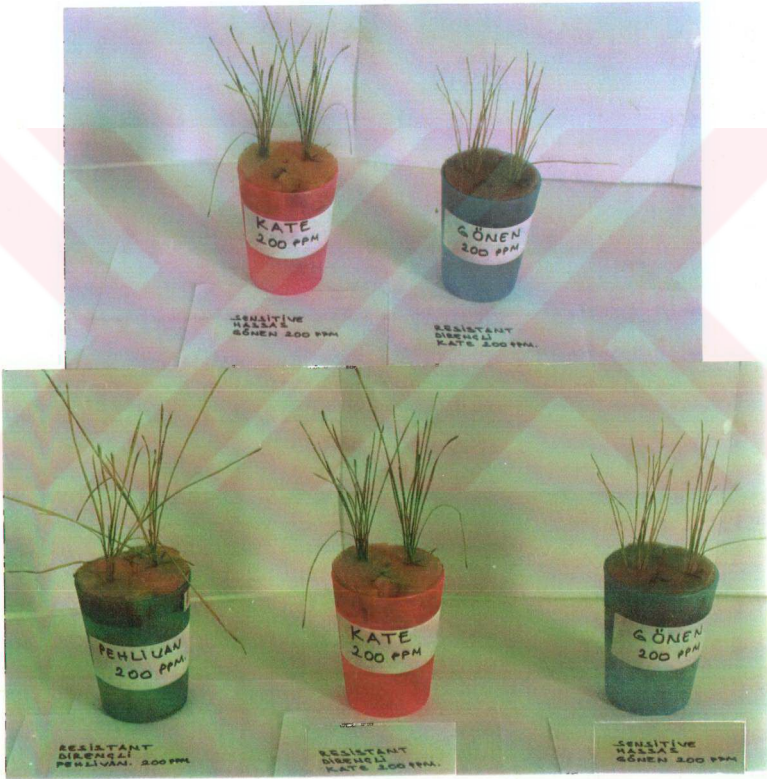


Şekil.3.5.Deney Sonuna Doğru, Bakır Konsantrasyonunun Derecelerine Göre Bir Varyetede Kök ve Gövde Gelişim Boyutlarına Olumsuz Etkilerinin Şematize Edilmesi.



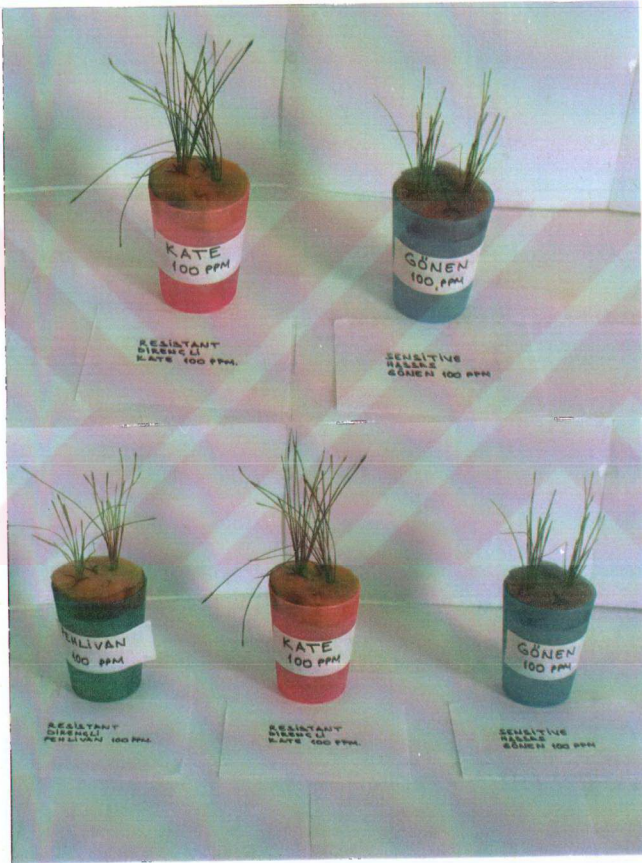
Şekil.3.6. Seçilmiş 3 Varyetenin 0-50-100 ve 200 ppm CuCl_2 Oranlarındaki Büyüme Gelişme ve Genel Görünüşü. Kate Ve Pehlivan Dirençli Gönen Hassas Varyetedir.

50 ppm CuCl_2 bulunduran deneme gruplarında etkilenme boyutları en düşük düzeydedir. Şekil.3.6.ve Şekil.3.9.'da görüleceği gibi büyüme ve renk değişimleri, 50 ppm' den yüksek konsantrasyonlardakinden çok daha iyi durumdadırlar. Klorosizin miktarı çok az olup yeşil renk baskınlığını korumaktadır. Büyümede daha iyi durumdadır. Bu durum diğer deneme gruplarında da olduğu gibi hassaslarda daha ileri düzeyde dirençlilerde ise daha hafif bir etkilenme olarak göze çarpmaktadır.

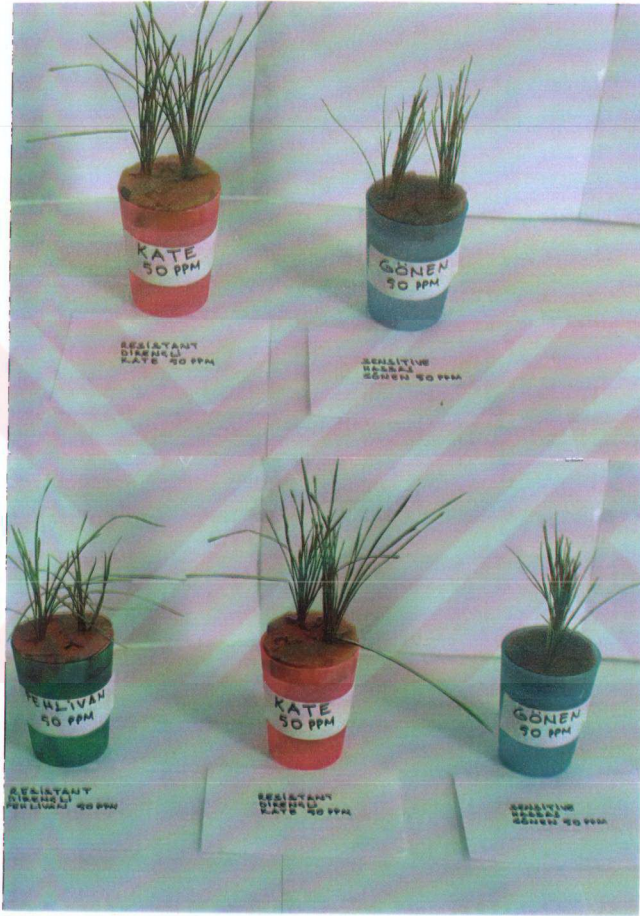


Şekil.3.7. 200 ppm CuCl_2 Bulunduran Deneme Grubundaki Seçilmiş Varyetelerde Metal Fazlalığının Etkileri Görülmektedir. Dirençli Olan Kate ve Pehlivan'da Canlılık ve Yeşil Dokular Hala Mevcut İken Hassas Olan Gönem Tamamen Klorosiz Olmuş ve Ölümle Sonuçlanmıştır. En İyi Durum Kate'dedir.

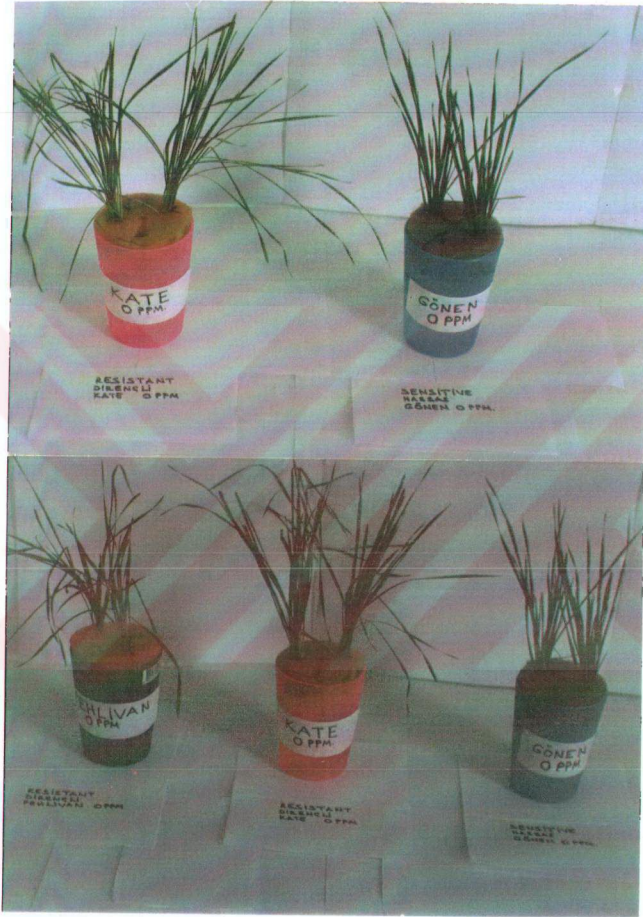
0 ppm' deki grupta ise durum normal yetiştirme sürecine benzer bir şekilde oluyor. Deney süresinde 20-25 cm. kadar gövde boyları uzayabiliyor. Hem hassaslarda hem de dirençlilerde klorosiz ve büyüme geriliği normal koşullarda görünmüyor. Bu durum Şekil.3.6. ve Şekil.3.10' da gösterilmektedir.



Şekil.3.8. 100 ppm CuCl_2 Bulunduran Deneme Grubundaki Seçilmiş Varyetelerde Metal Fazlalığının Etkileri Görülmektedir. Dirençli Olan Kate ve Pehlivan Büyüme ve Yeşil Kalma Durumu Hassas Olan Gönen'e Göre Daha İyi Bir Durumdadır. En Sağlıklı Görünen İse Kate'dir.



Şekil.3.9. 50 ppm CuCl_2 Bulunduran Deneme Grubundaki Seçilmiş Varyetelerde Metal Fazlalığının Etkileri Görülmektedir. 100-200 ppm Konsantrasyonlara Göre Büyüme ve Renk Daha İyi Durumdadır. Dirençlilerde Renk Normale Yakındır. Hassas Varyete'de İse Klorosiz Mevcut Ancak Canlılık Hala Devam Etmektedir. Dirençli Olan Kate ve Pehlivan'da Büyüme ve Yeşil Kalma Durumu Hassas Olan Gönen'e Göre Daha İyi Bir Durumdadır. En Sağlıklı Olan Kate'dir.



Şekil.3.10. 0 ppm CuCl_2 Bulunduran Deneme Grubundaki Seçilmiş Varyetelerde Büyüme, Gelişme ve Genel Görünüş Birbirine Yakın Durumdadır. Su Kültürü Sisteminde Problem Olmadığı Sürece Bu Durum Böyle Devam Etmektedir. Bitkilerin Sağlık Durumu Doğal Koşullardaki Gibidir.

3.4.Örneklerdeki Cu Konsantrasyonunun Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre (AAS) cihazında ölçümü

3.4.1.AAS Cihazı ve Çalışma İlkeleri

“İlke olarak diğer absorpsiyon spektrometrelerine benzeyen atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinin en önemli bileşenleri, analiz elementinin absorplayacağı ışığı yayan ışık kaynağı, örnek çözeltisinin atomik buhar haline getirildiği atomlaştırıcı, çalışılan dalgaboyunun diğer dalgaboylarından ayrıldığı monokromatör ve ışık şiddetinin ölçüldüğü dedektördür.

Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ışığın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonunun ölçülmesi ilkesine dayanır. Işığı absorplayan atomlar, temel enerji seviyesinden kararsız uyarılmış enerji seviyelerine geçerler ve absorpsiyon miktarı, temel seviyedeki atom sayısına bağlıdır. Teorik temelleri 19.yüzyıldan beri bilinmesine rağmen atomik absorpsiyon spektroskopisinin, özellikle eser miktarlardaki metallerin nicel analizleri için çok güçlü bir yöntem haline gelmesi, 1955 yılında, ilgilenilen elementin kendine özgü dalgaboyunda ısıya yapabilen ışık kaynaklarının bulunmasından sonra mümkün olmuştur. Atomik absorpsiyon spektroskopisi ile nicel analiz, moleküllerin ışığı absorpsiyonda olduğu gibi, Beer-Lambert kanununa dayanır, yani ortama gelen ışık şiddetinin, I_0 ortamdan çıkan ışık şiddetine, I , oranının logaritması olarak tanımlanan absorbans, A , ilgilenilen elementin derişimi ile doğru orantılıdır.

Oyuk Katot Lambaları olarak bilinen ışık kaynakları düşük basınçta (birkaç mm Hg) neon veya argon gibi asal bir gazla doldurulmuş silindir biçiminde lambalardır. Bunlarda kullanılan katot, oyuk bir silindir şeklindedir ve analiz elementinden yapılmıştır. Anot ise, tungsten veya nikelden yapılmış bir teldir. Anot ile katot arasına 100-400 voltluk bir gerilim uygulandığında lamba içindeki asal gaz atomları iyonlaşır. Böylece ortamda iyonlar ve elektronlar oluşur. Bu iyon ve elektronlar, katoda çarparak yüzeydeki metal atomlarını koparır ve uyarırlar. Uyarılan atomlar, temel enerji seviyesine dönerlerken katot elementine özgü dalgaboyundaki ışığı yayarlar. Oyuk katot lambaları, atomik absorpsiyon

elektronlar, katoda çarparak yüzeydeki metal atomlarını koparır ve uyarırlar. Uyarılan atomlar, temel enerji seviyesine dönerlerken katot elementine özgü dalga boyundaki ışığı yayarlar. Oyuk katot lambaları, atomik absorpsiyon spektroskopisi yönteminde en fazla kullanım alanı bulan ışık kaynaklarıdır. İncelenen her element için, o elemente özgü oyuk katot lambasının spektrofotometreye yerleştirilmesi gerekir.

Absorpsiyon hücresi olarak da adlandırılan atomlaştırıcının görevi, örnekteki iyonlardan ve moleküllerden, analizi yapılacak elementin temel seviyedeki atom buharını oluşturmaktadır. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde analizin başarısı, atomlaştırmanın etkinliğine bağlı olduğundan, düzeneğin en önemli bileşeni atomlaştırıcıdır. Kullanılan atomlaştırıcıları iki başlık altında incelemek mümkündür. Bunlar alevli atomlaştırıcılar ve alevsiz atomlaştırıcılar olarak adlandırılırlar. Alevli atomlaştırıcılarda örnek çözeltisi aleve havalı (pnömatik) bir sisleştirci yardımı ile püskürtülür. Çözelti aleve püskürtüldüğü zaman ilk olay, damlacıkların kuruması yani çözücünün buharlaşmasıdır. Buharlaşma hızı, damlacıkların büyüklüğüne ve çözücü türüne bağlıdır. Buharlaşma sonucu oluşan katı parçacıklar, alev sıcaklığının etkisiyle çeşitli değişikliklere uğrarlar. Organik birleşikler yanarken, inorganik maddeler buharlaşır veya birbirleriyle ve alev gazları ile tepkimelere girerler. Çözeltideki taneciklerin buharlaşmasından sonra oluşan gaz moleküller, ısısal ayrışma ile atomlarına ayrılırlar. Alev içinde, analiz elementinin atomlarından başka, CO_2 , CO , C , H_2O , O_2 , H_2 , H , OH , NO , N_2 gibi birçok yanma ürünleri de oluşur. Bu sebeple alevdeki olaylar son derece karmaşıktır.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde atomlaştırıcı olarak alev dışında sistemler de geliştirilmiştir. Bunların en önemlisi, elektrotermal atomlaştırıcı olarak da adlandırılan grafit fırınlarıdır. elektrotermal atomlaştırıcılar, ısıtılmaları için ayrı bir güç kaynağı gerektirirler ve daha pahalı sistemlerdir. Fakat alave oranla bir çok üstünlüğe sahiptirler. Bu tür atomlaştırıcılar, çok küçük örnek hacimleri (5-50 mikro litre) gerektirirler; bunların kullanımı ile aleve püskürtülmesi zor olan viskozitesi yüksek sıvılarla çalışılabilir. Atomik buharın ışık yolunda kalma süresinin daha fazla olması sebebi ile bunlarda duyarlılık aleve oranına çok daha fazladır. Grafit fırın adı verilen bir tür grafit tüp, 10 cm uzunluğunda ve iç duvarları tantal filmi ile kaplıdır. İlk kez L'vov tarafından önerilen ve bu sebeple L'vov grafit fırını adı verilen bu

düzenekte, örnek çözeltisinin fırına yerleştirilmesinde sonra fırın elektriksel direnç ile ısıtılarak atomlaşma sağlanır. Tüm düzenek, argon gazı atmosferinde tutularak grafitin yüksek sıcaklıklarda yanmasının önüne geçilir'' (Yıldız ve Genç 1993).

3.4.2. Bitki Örneklerinin Hazırlanması

Hoagland çözeltisinde yaklaşık 1 ay süreyle yetiştirilen bitkilerin gözlemleri en yüksek metal konsantrasyonundakilerin tamamen ölmesiyle sonuçlandırılmıştır. Örneklerin çeşitli konsantrasyonlarda bakır bulunduran su kültüründe yetiştirilmesi sürecinden sonra kantitatif ölçümler hedeflenerek bitkiler su kültüründen çıkartılmıştır.

Birinci aşama deneyindeki örnekler su kültüründen alındıktan sonra distile suyla yıkanarak adi kurutmaya bırakıldı. . Adi kurutmadan sonra bitkiler kök ve gövde aksamalarına ayrıldılar. Zira ölçümler kök ve gövdeler için ayrı ayrı yapılacaktır. Kök ve gövdelerine ayrılan kısımlar şeffaf kilitli poşetlerde etiketlenerek saklandı. Atomik absorpsiyon spektrofotometre (AAS) ölçümü için yapılacak çalışmalara başladığımızda ayrılan bu kök ve gövdeler tekrar 0.05 M HCl çözeltisinde 4 dakika süreyle yıkandı. Örneklerin kök kısımlarında metal stresine karşı oluşan mukusun suyla uzaklaştırılamaması nedeniyle, yıkamada düşük konsantrasyonlu HCl çözeltisi kullanılmıştır. Daha sonra örnekler distile suyla durulandı ve 45 derecede 3 saat kurutuldu. Kurutulmuş örnekler kilitli şeffaf poşetlerle çevresel bulaşıklardan izole edilerek tartıma alınmıştır. Tartımda 0.1 mg' a kadar ölçüm yapabilen hassas terazi kullanılmıştır.

İkinci aşama deneyinin örnekleri su kültüründen alındıktan sonra 3 kez ayrı kaplardaki distile suyla hassasiyetle yıkanmıştır. Bu yıkamalarda hücresel olmayan metallerin uzaklaştırılması amaçlanmıştır. Hücresel metallerinde etkilenebileceği düşünülerek bu aşamadaki yıkamalarda HCl çözeltisi kullanılmamıştır. Daha sonra yıkanan bu örnekler adi kurutmaya bırakılmıştır. Adi kurutmadan sonra bitkiler kök ve gövde aksamalarına ayrıldılar. Ayrılan kök ve gövdeler 70 santigrat derecede 2,5 gün bekletildikten sonra hassas terazide tartıldı. Tartı sonuçlarının da üzerine yazıldığı şeffaf kilitli poşetlere yeniden koyuldu. Birinci aşama deneyinden farklı olan bu uygulamalar sadece seçilen varyeteleri etkileyeceği için genel taramaların

sonucunu değiştirmeyecektir. Daha sonra bu örnekler AAS cihazının okuyabileceği hal olan çözelti formuna getirilme aşamasına hazırlandı . Bunun için örnekler ıslak yakma metoduyla yakıldı.

Birinci aşama deney örneklerinde ıslak yakma sürecinde nitrik asit ve perklorik asit kullanıldı. Tartılmış örnekler 50 ml'lik erlenlere koyuldu. Üzerlerine 8-10 adet kaynama taşı ve 5 ml derişik nitrik asit koyuldu. Erlenlerin üzeri taşma , sıçrama ve asit kitlesinin çabuk uçmasını engellemek için cam huni ile kapatıldı. Kurulan düzenek, çeker ocakta ısıyı ayarlanabilir ocak (hot plate) üzerine yerleştirildi. 90 dereceye ayarlanan ocakta (hot plate) erlenlerden kahverengi duman çıkıncaya kadar bekletildi. Bu bekleme süresi takribi 2.5 saattir. Bu durumun ardından her bir erlene 1.5 ml perklorik asit eklendi ve ısı 200 santigrat dereceye çıkarıldı. Erlenlerden beyaz duman çıkıncaya kadar bekletildi. Bu bekleme süresi takribi 1 saattir. Elde edilen çözelti soğuduktan sonra süzülerek distile suyla 10 ml'ye tamamlandı. Bu 10 ml lik çözelti 15 ml'lik etiketlenmiş polipropilen tüplere aktarılarak ölçüme hazır hale getirildi.

İkinci aşama deney örneklerinin ıslak yakılması enstrümantal olarak yapılmıştır. GYTE Çevre Mühendisliği Bölümündeki Ethos 1600 Advanced Micro Wave Labstation modelli cihazla yapılan yakmada, 6 ml nitrik asit ve 1 ml hidrojen peroksit kullanılmıştır. Bu cihazın her kapsülüne bir örnek koyulur. Üzerine 6 ml nitrik asit ve 1 ml hidrojen peroksit ilave edildikten sonra yüksek basınçta mikro dalga etkisiyle otomatik olarak yakılan örnekler kapsüllerden 50ml'lik erlenler içerisine süzülerek alınır. Daha sonra distile suyla 50 ml'e tamamlanarak ölçüme hazır hale getirilir.

Atomik absorsiyon spektrofotometre cihazı olarak GYTE Çevre Mühendisliği Bölümündeki Perkin - Elmer SIMA 6000 modelli grafit sistemle çalışan şekil 12' deki cihaz kullanılmıştır. Kullanılan bu cihazın ölçüm kaplarına 2 ml örnekler koyularak numaralandırılmıştır. Düzenek kurulduktan sonra cihazın bakır için uygun ampul takılır ve kalibrasyon yapılır. Kalibrasyondan sonra okumaya verilen örneklerin sonuçları korelasyonlara bağlı olarak bilgisayardan çıktı olarak alınmıştır.

4.BULGULAR

4.1.Bitki Fizyolojisi ve Bakır

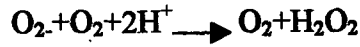
“Cu toprakta hemen hemen istisnasız iki değerlikli formda bulunur. Büyük kısmı organik veya anorganik sorpsiyon komplekslerine bağlanmıştır veya da minerallerin kafesinde yer alır. Bunun yanında olasılıkla toprak Cu’nun bir kısmı organik maddelerle kompleks bileşik halinde bulunur. Toprak çözeltisinin Cu konsantrasyonu düşüktür ve 0.01 ppm’lik değerler gösterir. Kafeslerde bağlanmış olan Cu ayrışma süreçleriyle zamanla açığa çıkabilir. Bu, daha sonra toprağın sorpsiyon kompleksleri tarafından bağlanır. Bu bağlanma diğer bir çok katyonlara oranla çok sıklıdır, böylece sorptif bağlı Cu her halükarda bitkilerce ulaşılabilir değildir. Buna göre diğer katyonlar, hem Cu^{+2} hem de CuOH^+ olarak sorbe edilmiş bulunan Cu’ı sadece güçlükle sorpsiyon komplekslerindeki yerinden atabilirler. H iyonu bu bakımdan en etkili iyon olsa gerektir. En azından pH değerinin yükselmesiyle Cu’ın alınabilirliği azalmaktadır. Buna göre fizyolojik alkali bir gübreleme Cu’ın alımını engelleyebilir. Kireçli toprakların çözeltisindeki Cu konsantrasyonu çok düşüktür. Cu burada ya özellikle kuvvetlice sorbe edilmektedir yada güç çözünen tuz olarak çöktürülmektedir. Cu -karbonatlar, Cu- fosfatlar ve Cu-sülfürler güç çözümler. Kompleks oluşturulması yeteneğinde olmayan diğer ekstraksiyon maddeleriyle toprak işleme tabi tutulursa önemli ölçüde daha az Cu çözülür. Toprağa verilen iyonik Cu’ın kısa zamanda hemen hemen % 100’e kadar sorbe edildiğini göstermiştir. Aynı toprağa Cu - şelatlar ilave edildiğinde ilgili şelatın stabilite konstantı ne kadar yüksekse toprağın Cu sorpsiyonu da o kadar daha zayıf olmuştur. Cu noksanlığına özellikle humusça zengin yerlerde rastlanır. Organik maddelerin Cu’ı özellikle kuvvetli bağladıklarına ilişkin tahmin, Mercer ve Richmond (1970)’un nötron aktifleştirme araştırmalarıyla doğrulanmıştır. Toprak çözeltisinde Cu 10^{-8} molarlık bir büyüklükte bulunur. Hodcson ve ark. (1966)’na göre bu çözülmüş Cu çözünen organik moleküllere hemen hemen % 100’e kadar kompleks olarak bağlanmıştır.

Cu bitki tarafından sadece düşük miktarlarda alınır. Bitkisel kuru maddenin Cu içerikleri genellikle 2 – 20 ppm civarında bulunur; o halde bunlar Mn’inkilerden yaklaşık on misli daha düşüktürler. Cu alımının kendisi her şeyden önce topraktaki

bitkilerce alınabilir. Cu iyonlarının miktarına bağlıdır, buna karşılık pratik durum ve konular için Cu alımının diğer katyonların iyon rekabetiyle engellenmesi önemsiz kalır. Keller ve Deuel (1958) çeşitli bitki türlerinin kesilerek ayrılmış köklerinde Cu'ın diğer katyonların çoğu üzerinde onları yerinden atıcı yönde etki ettiğini ve bitki kökleri üzerine çok sıkı bağlandığını saptayabilmışlardır. Diğer bitki aksamına oranla bitki köklerini çoğunlukla en yüksek Cu içeriklerini göstermesinin bununla bağlantılı olması olasıdır.

Cu'ın bitki içindeki hareketliliği azdır. Ksilem öz suyunda bulunan Cu anoda göç eder. Tiffin (1972) bu yüzden Cu'ın amino asitleri tarafından kompleks olarak bağlandığını kabul etmektedir, kaldı ki N, Cu için yüksek bir afinitye sahiptir. Fe gibi Cu da kloroplastlarda görece olarak yüksek konsantrasyonda bulunur. Cu burada fotosistem I'e e⁻ verici (donatör) olarak görev yapan plastosiyanin (maviprotein)'in bir komponentidir. Cu içeren oksidazlar H atomlarının veya e⁻'un moleküler O₂ üzerine aktarılmasında etkili olurlar. Bu türün en seçkin temsilcisi sitokromoksidazdır. Bu, 6 alt ünitelerden oluşur, bunların her biri hem grubunun yanı sıra O₂ 'nin indirgenmesi için önemli olan bir Cu atomu içerir. Genel olarak yeni araştırmalar Cu'ın birçok oksidaz reaksiyonları (= moleküler oksijenin indirgenmesi) için mutlak gerekli olduğunu göstermektedirler. Bu, uzun zamandan beri Cu içeren enzimler olarak bilinen fenoloksidazlar ve askorbik asit oksidaz için de geçerlidir. Bu tür enzimlerin reaksiyon cereyanının tümü substratın hidroksillenmesiyle bağlantılıdır. Oldukça iyi araştırılmış bulunan dopaminhidroksilaz örneği ile hidroksillenmenin daha ayrıntılı biçimde açıklanması gerekir (dopamin = di - o - fenilalanin amini). Bu enzim O₂ 'nin varlığında dopaminin hidroksillenmesini ve askorbik asidin dehidrasyonunu (oksidasyon) katalize eder. Askorbik asit oksidaz olarak bilinen bu enzim dopamin -beta- hidroksilaz ile aynıdır. Daha yeni araştırmalar yağ asitlerinin desaturasyonu ve hidroksillenmesinin de Cu tarafından katalize edildiğini göstermektedirler. Bu şekilde stearik asit ve oleik asidin desaturasyonunun Cu içeren bir delta 9 -desaturaz tarafından gerçekleştirildiği öne sürülmektedir. Bu enzimde moleküler oksijene gereksinime duyar. Son olarak bütün aerob yaşayan organizmalar için önemli olup, Cu ve Zn içeren başka bir enzime daha işaret edelim. Bu, süperoksitdismutaz'dır. Süperoksit radikalleri (O₂⁻) organizma içinde O₂ 'den kolayca oluşturulabilirler. Bunlar son derecede reaksiyona girme

eğilimindedirler ve bu yüzden çok toksiktirler. Süperoksitdismutaz, bu radikalleri aşağıdaki denkleme uygun olarak “ zehirsiz hale getirir.”



Bugün bizce bilinen Cu içeren enzimlerin yanı sıra bitkisel metabolizmada daha başka enzimlerin var olması olasıdır. En azından bitkinin Cu beslenmesinin çeşitli bakımlardan etkili olduğu saptanabilmiştir. Cu beslenmesi yeterli olan bitkiler anlaşılacağı gibi Cu noksanlığı gösteren bitkilere göre daha yüksek fenoloksidaz ve askorbik asit oksidaz aktivitesine sahiptirler. Dawson (1950)’a göre iz miktardaki Cu’ın Fe -porfirin proteinlerinin yapımı için zaruri olması gerekir. Cu, karbonhidrat sentezini artırır; Cu noksanlığı gösteren bitkiler organik asitler ve asparagin asidi birikimi gösterirler. Possingham (1956)’a göre Cu vasıtasıyla protein sentezi artırılır. Okunzow (1958) Cu’ın klorofili vaktinden önce parçalanmaya karşı koruduğunu, bitkinin daha uzun süre genç habitusta kaldığını ve böylece daha yüksek bir özümleme gücüne sahip olduğunu bildirmektedir.

Cu noksanlığı tahıllarda çoğunlukla sapa kalkma devresinden sonra, ağır durumlarda fakat daha da erken olmak üzere uçlarda başlar. Uçlar beyazlaşır, yapraklar ensiz kalırlar ve içe doğru bükülürler. Boğumlar arasının büyümesi durdurulmuştur. Vejetasyonun ilerlemesi ile noksanlık gittikçe şiddetlenir ve aşırı durumlarda başak veya salkım oluşmaz. Bitkilerin demetimsi habitusu, bunların içe dönmüş beyaz uçları ve engellenmiş salkım oluşumu Cu noksanlığının yanıltmayan karakteristikleridir. Daha az şiddetli noksanlıkta, gerçi daha zayıfça bir salkım ya da başak sürmesi meydana gelir; bununla birlikte başakların içi kısmen boş kalır. Tahılların yanı sıra meyve ağaçları da yetersiz Cu beslenmesine duyarlı şekilde reaksiyon gösterirler. Genç sürgünler ölürler ve yapraklar kenarlarda kloroz ve nekrozlar gösterirler. Aynen tahıllarda olduğu gibi, meyve ağaçlarında da jeneratif faz, çiçek ve meyve bağlama engellenir. Burada da tekrar noksanlık ilk önce büyüme konilerinde belirir. Genel olarak Cu noksanlığı bitkileri sağlıklı bitkilerinkinden daha düşük bir Cu içeriğine sahiptirler. Beslenme çözeltisindeki yüksekçe Cu konsantrasyonları bitkilere toksik etki yaparlar. Mg buna zıt yönlü etki eder. Bununla birlikte toprakta bir Cu zehirlenmesi tehlikesi daha azdır. Çünkü Cu iyonları hemen sorpsiyon kompleksleri tarafından bağlanırlar. Ancak zararlılarla mücadelede

kullanılan Cu'lu ilaçların sıkça uygulanması halinde (örneğin bağcılıkta) üst toprak toksik etkiye kadar Cu'ca zenginleşebilir. Bu Cu zehirlenmesi özellikle asidik topraklar üzerinde ortaya çıkar, çünkü burada Cu pek öyle sıkı bağlanmaz. Tahılların yeterli Cu sağlamaları için en az 4 ppm Cu'ın toprakta nitrik asitte çözünür formda bulunması gerekir. Ortalama bir tahıl ürünün topraktan yaklaşık 20 – 30 gr Cu / ha kaldırdığı düşünülürse, uygulanması gereken Cu miktarlarının ne kadar az olmasının zorunlu olduğu açıklığa kavuşur. Buna karşın bu miktarların bitkilerin kaldırdığı miktarları bir kaç misli aşması zorunludur; çünkü özellikle Cu noksanlığı gösterme eğiliminde olan topraklar üzerinde gübrelenen Cu oldukça kuvvetlice fikse edilir. Yulaf, arpa ve buğday Cu noksanlığına karşı en fazla duyarlıdır. Çavdar, keten, kenevir, pamuk, darı ve kırmızı üç gül yetersiz Cu sağlanmasını daha az hızlı reaksiyon gösterirler ve patates Cu 'a en az istekleri yöneltir. Cu gübresi olarak çok defa CuSO_4 uygulanır. Cu noksanlığı serisinde dane oluşumunun aleyhine vejetatif büyümenin ağır basmasına karşılık Cu gübrelemesi ile dane veriminin önemli ölçüde artırıldığını göstermektedirler.”(Mengel 1984).

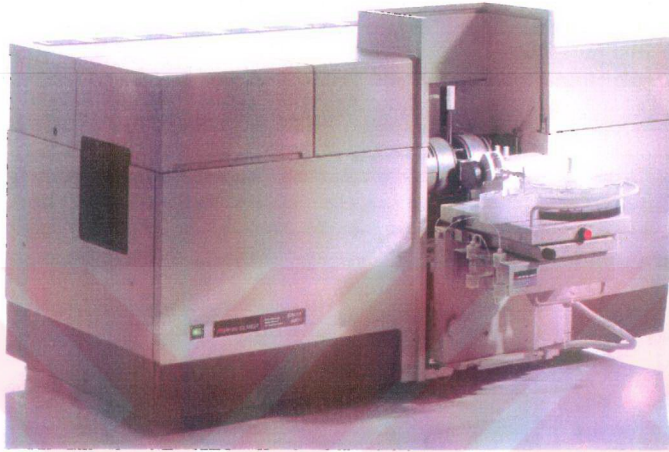
Cu fazlalığının bitkiler üzerindeki etkileri, Metal Toksiklenmesi Ve Bitkilere Etkisi başlığı altında bahsedilmiştir.

4.2.AAS Cihazından Alınan Bulguların Değerlendirilmesi

Deney süresi ve seçilecek varyeteler için belirleyici faktör olarak, daha çok 150-200 ppm'deki bitkilerin performansı dikkate alındığı için, yapılan yorumlarda bu konsantrasyon da denenmiş bitkilerin sonuçları daha çok baz alınmıştır. Diğer 100-50 ve 0 ppm'deki bitkilerin ise yaşam sürecinde metal fazlalığına tepkilerinin 150-200 ppm'de kını destekleyip desteklemediklerine bakılmış ve anlamlı ilişkiler aranmıştır. Cihaz tarafından okunan değerler, aşağıda belirtilen formül ile ppm cinsinden bakır değerleri olarak hesaplanmış tablo ve grafik haline getirilmiştir. Sonuçlar örneklerin kök bölgelerinde daha fazla bakır biriktirdiğini göstermektedir.

$$K = \frac{K_a \times V}{m}$$

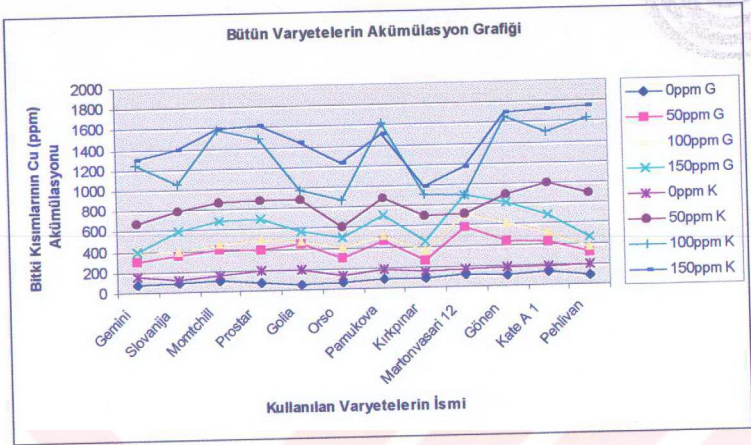
K= Hesaplanan konsantrasyon (ppm: Mikro gr/gr)
 K_a = Aletsel ölçülen konsantrasyon (Mikro/ l)
 V = Örnek çözeltisi hacmi (lt)
 m = Örnek kütlesi (gr)



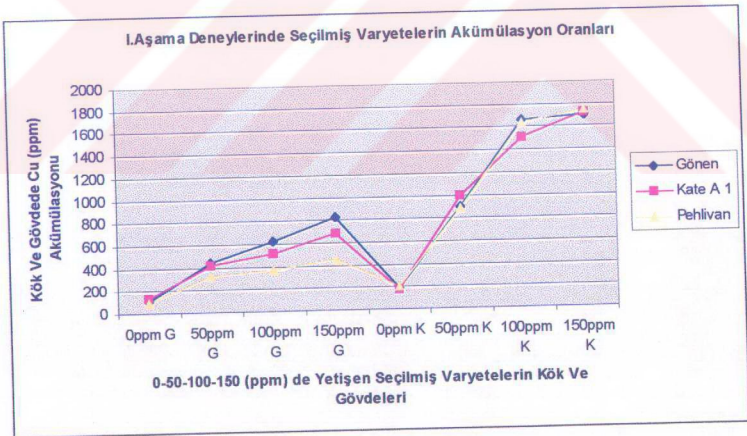
Şekil.4.1.Kantitatif Ölçümlerin Yapıldığı AAS Cihazı.

Tablo.4.1. Birinci Aşama Olarak Tanımladığımız Deneyin, ppm Cinsinden Hesaplanmış Bakır Sonuçlarının Tablosu. Bu Tablo Bütün Varyetelerin (12 Tane) Bakır Bulundurma Oranlarının Topluca Gösterimidir. Tablodaki (G) Sembolü Bitkilerin Gövde (Yapraklar Dahil) Kısımını İfade Eder. (K) Sembolü İse Kök Kısımlarını İfade Ediyor.

Tohum Adı	0ppm G	50ppm G	100ppm G	150ppm G	0ppm K	50ppm K	100ppm K	150ppm K
Gemini	82,25	305,08	402,52	396,94	158,96	667,21	1248,54	1296,88
Slovanija	86,24	360,86	390,86	597,68	114,16	786,98	1054,36	1398,73
Momtchill	108,48	402,01	460,64	678,65	162,72	864,12	1584,87	1598,02
Prostar	74,08	398,06	503,76	698,03	199,38	886,98	1488,64	1622,37
Golia	47,24	450,24	480,05	568,37	200,60	875,01	972,68	1443,72
Orso	65,21	298,64	410,22	505,46	126,34	598,87	873,49	1242,81
Pamukova	98,26	466,08	518,86	708,09	187,16	876,93	1624,37	1514,64
Kırkpınar	85,73	260,67	350,78	450,35	158,08	692,35	904,72	984,09
Martonvasari 12	118,33	573,56	716,78	901,28	176,93	716,78	901,287	1171,40
Gönen	104,13	437,56	624,35	820,68	186,86	896,73	1664,04	1698,17
Kate A 1	134,81	420,38	518,95	684,75	184,23	996,39	1504,61	1724,59
Pehlivan	91,87	317,46	368,23	458,62	198,22	890,24	1635,12	1745,38



Grafik.4.1. Denemeye Alınan 12 Varyetenin Tamamının Bakır Bulundurma Oranlarının Grafiği (K: Bitkilerin Kökleri G: Bitkilerin Gövdeleri).



Grafik.4.2. Bütün Varyeteler İçinden Seçilen 2 Dirençli (Kate ve Pehlivan.) ve 1 Tane Hassas (Gönen) Varyetelerinin ppm Cinsinden Grafiği (G:Gövde, K:Kök).

Alınan sonuçlara baktığımız zaman örneklerin kök ve gövdelerindeki bakır birikimlerinde oransal çok belirgin bir korelasyon yoktur. Tablo.4.1.'de görüleceği gibi 150 ppm CuCl_2 taşıyan besi ortamında yetişmiş 12 varyeteden kök kısmında 1500 ppm üzerinde bakır biriktiren 6 varyete bulunmuştur. Bunlardan Pehlivan Kate ve Prostar dirençli varyete olarak izlenmiştir. Gönen, Pamukova ve Momtchill ise hassas varyeteler olarak izlenmiştir. Diğer varyeteler ise bu iki grup arasındaki aralıkta yer almıştır. 150 ppm CuCl_2 taşıyan besi ortamında yetişmiş bahsedilen bu 6 varyetenin gövde kısımlarındaki bakır birikimlerinde pehlivanın haricinde yine ciddi birikimler gözlenmektedir. Pehlivanın bu durumu aşağıda yorumlanmıştır.

Dirençlilik açısından Kate ve Prostarın performansı hem kalitatif hem de kantitatif gözlemler açısından birbirine çok yakındır. Bazı tekrarlarında prostar daha dirençli olarak bile gözlenmiştir. Ancak atomik absorpsiyon sonuçları dikkate alınarak Katenin biriktirme yönüyle Prostardan daha iyi olduğuna karar verilmiştir. Pehlivanın dayanıklılığı canlı ve yeşil kalma bakımından nitel değerlendirmelerde 3. sırada bir yer alırken, kök kısımlarındaki biriktirme kapasitesi olarak atomik absorpsiyon ölçümlerine baktığımız zaman birinci olarak karşımıza çıktığı değerleri belirlenmiştir. Bu nedenle kate ve pehlivanın dirençli grup olarak hem biriktirme hem de hayatta kalma sürelerinin dikkate alınmasıyla seçilmesine karar verilmiştir. Pehlivanın diğer dirençlilerden farklı olarak gövde kısmında fazla metal biriktirmediğini görüyoruz. Kök kısımlarında ise deneme gruplarının bir çoğunda diğer seçilen varyetelerden daha fazla biriktirdiğini de görüyoruz. Kate ise hem kök hem de gövde de biriktirebilme özelliğine sahiptir. Buradan şu çıkarılabilir. Kate hem fizyolojik olarak fazla bakıra karşı koyma yeteneğine sahip hem de biriktirme özelliğine sahiptir.

Bu durum iki yönden avantajlıdır. Hem bakırca kirlenmiş topraklarda tarımsal üretime imkan verebilir, hem de bu topraklardan bakırın temizlenmesine geri alınmasına fırsat verecektir. Hassas gruplardan ise Gönen ve Pamukova birbirine çok yakındır. Bunlardan dirençlilerde olduğu gibi atomik absorpsiyon sonuçları dikkate alınarak gönen seçilmiştir. Gönenin kök ve gövdedeki biriktirme oranları Pamukova dan daha fazladır. Hassas bitkilerin değerlerine baktığımız zaman 50 ve 100 ppm CuCl_2 konsantrasyonlarında yetişenlerde yoğun bir metal birikimi olmaktadır. Bu birikim gövdelerde dirençlilerden daha fazla oluyor. Bu durumda

bitkinin metali kök bölgelerinde bloke edememesinden kaynaklanan bir birikim var demektir. Dolayısıyla gövdeye taşınan metalin fizyolojik baskılara daha çok neden olduğu söylenebilir. Yoğun metal baskısına maruz kalan bu tip bitkiler daha çabuk klorosiz ve ölümle karşılaşılıyor olabilirler. Özellikle 150-200 ppm derecelerinde yetişen hassas bitkiler de ise metal birikimin dirençlilerin gerisinde kaldığını görüyoruz. Bu durumun bir çok nedeni olabilir. Ancak deneyin işleyiş sürecinden hareketle şu açıklama yapılabilir. 150-200 ppm derecelerinde hassaslar çabuk öldükleri için biriktirme olayının bu varyetelerde devam edememekte olduğu söylenebilir. Başka bir nedeni de fizyolojik olarak metali bloke edecek sistemlerin bu konsantrasyonlarda farklı işliyor olabilmesidir. Dirençliler de hayatın bu konsantrasyonlar da hassaslardan daha uzun süre devam ettiriliyor olması, metal biriktirmede ek bir miktarın karşımıza fark olarak çıkması anlamına gelebilir. Bu ve benzer durumların test edilmesi maksadıyla seçilen 3 varyete deney düzeneğindeki bazı değişikliklerle 3 kez daha tekrarlanmış ve sonuçlar Tablo.4.2. ve Tablo.4.3.'de verilmiştir. Ayrıca bu sonuçlar Grafik.4.3., Grafik.4.4. ve Grafik.4.5.'de karşılaştırılmıştır.

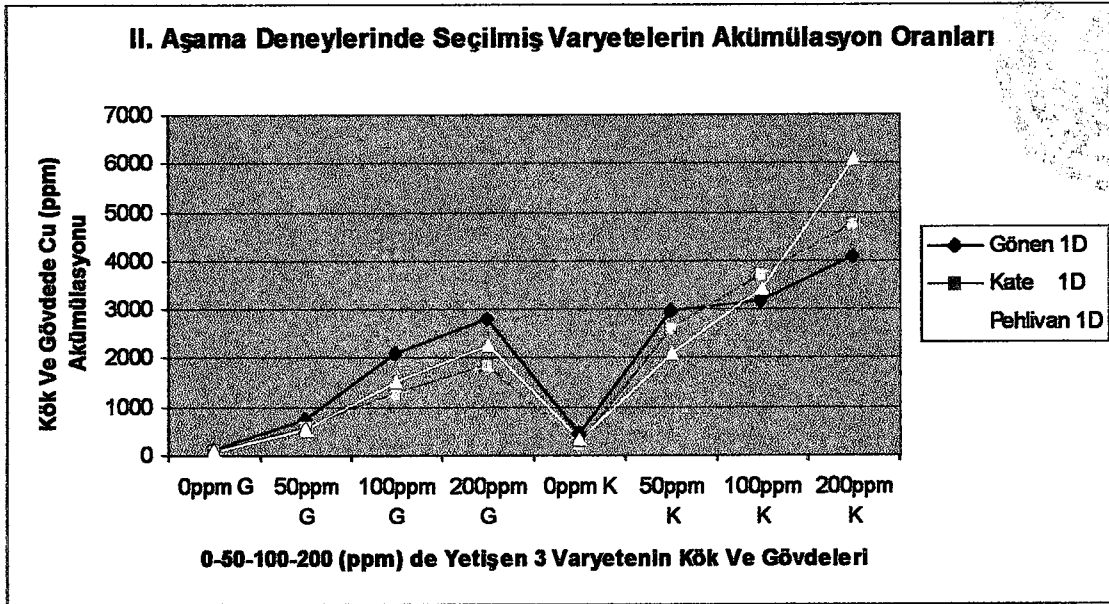
Tablo.4.2. Birinci aşama deneylerden sonra 12 tane varyeteden seçilmiş 2 dirençli 1 hassas varyetenin, ikinci aşama deneyler olarak 3 ayrı deneme tekrarının AAS sonuçları. (1D: Birinci Deneme, 2D: İkinci Deneme, 3D: Üçüncü Deneme, G:Gövde, K:Kök)

Tohum adı	0ppm G	50ppm G	100ppm G	200ppm G	0ppm K	50ppm K	100ppm K	200ppm K
Gönen 1D	140,69	743,76	2085,38	2801,06	449,15	2967,41	3160,20	4095,01
Kate 1D	66,23	585,48	1286,96	1864,57	237,57	2600,52	3722,01	4723,12
Pehlivan 1D	74,58	538,58	1527,77	2256,50	331,24	2098,17	3435,90	6075,23
Gönen 2D	135,98	824,43	1776,30	2725,17	428,91	2579,46	3058,99	4703,68
Kate 2D	79,50	616,70	1314,79	1883,91	286,89	3217,93	3886,24	5236,70
Pehlivan 2D	50,63	837,60	1641,15	2269,75	352,66	2367,20	3729,62	5105,55
Gönen 3D	96,32	667,83	1909,55	2589,32	312,43	2763,36	4082,36	4180,31
Kate 3D	111,68	727,77	1781,31	1824,81	220,47	3349,43	3810,01	5046,52
Pehlivan 3D	44,09	626,44	1311,88	2019,77	405,81	2508,94	4361,52	7368,75

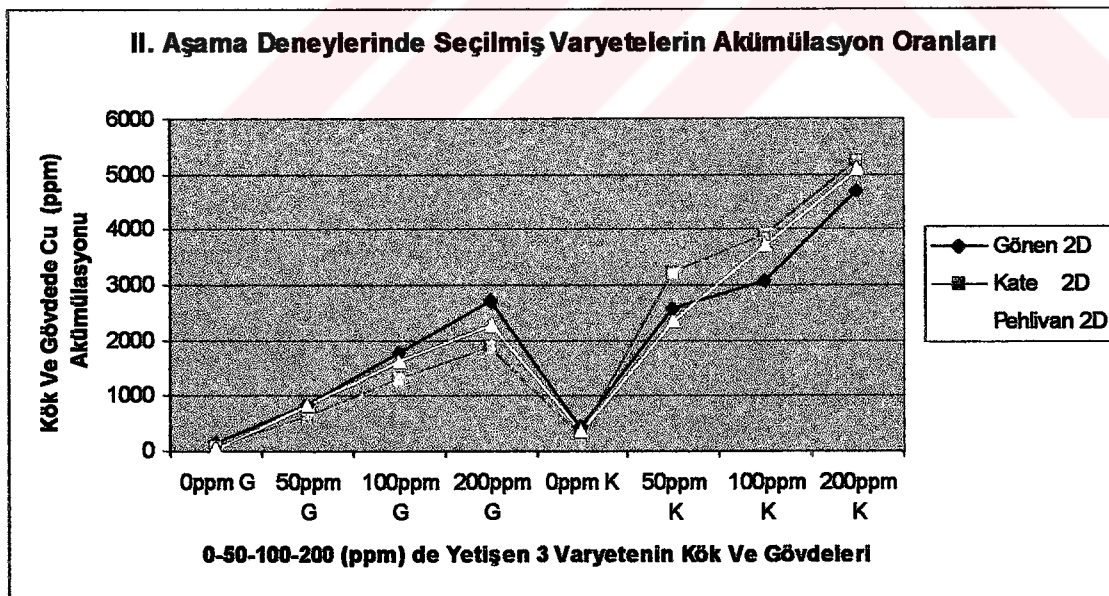
Tablo.4.3. Tablo 3 teki verilerin değişik bir dizilimi. Her üç varyetede, üç deneme tekrarları sonuçlarının topluca arka arkaya sıralanarak gösterimi.

Tohum adı	0ppm G	50ppm G	100ppm G	200ppm G	0ppm K	50ppm K	100ppm K	200ppm K
Gönen 1D	140,69	743,76	2085,38	2801,06	449,15	2967,41	3160,20	4095,01
Gönen 2D	135,98	824,43	1776,30	2725,17	428,91	2579,46	3056,99	4703,68
Gönen 3D	96,32	667,83	1909,55	2589,32	312,43	2763,36	4082,36	4180,31
Kate 1D	66,23	585,48	1286,96	1864,57	237,57	2600,52	3722,01	4723,12
Kate 2D	79,50	616,70	1314,79	1883,91	286,89	3217,93	3886,24	5236,70
Kate 3D	111,68	727,77	1781,31	1824,81	220,47	3349,43	3810,01	5046,52
Pehlivan 1D	74,58	538,58	1527,77	2256,50	331,24	2098,17	3435,90	6075,23
Pehlivan 2D	50,63	837,60	1641,15	2269,75	352,66	2367,20	3729,62	5105,55
Pehlivan 3D	44,09	626,44	1311,88	2019,77	405,81	2508,94	4361,52	7368,75

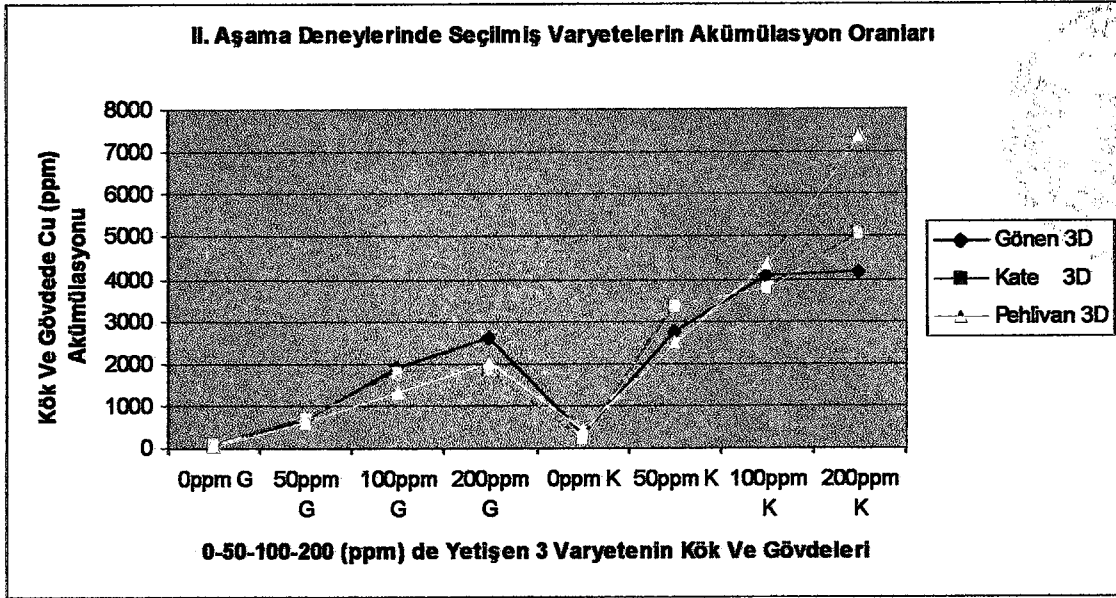
Birinci aşama deneyleri ile ikinci aşama deneylerinden elde edilen sonuçlar da çok ciddi farklar vardır. Ancak bu farklar seçilen varyetelerdeki biriktirme dereceleri arasında yapılan sıralamada bir değişikliği yapmamaktadır. Bu farkların kaynağı ikinci aşamada deneylerde yapılan 4 farklı uygulamadan kaynaklanmaktadır. Bunlardan birincisi 150 ppm yerine ikinci aşamada 200 ppm CuCl_2 koyulduğu için 150 ppm yerine geçen bu deneme gruplarında, metal fazlalığının bir kısmı buradan kaynaklanmaktadır. İkincisi yıkamama tekniğidir. Birinci aşama deneylerinde örnekler suyla yıkandıktan sonra tekrar 0.05 M HCl çözeltisinde 4 dakika süreyle yıkandığı için bu grupta zayıf bitki dokularından bakır kaybı olabilmesi muhtemeldir. İkinci aşamada ise yıkamada seyreltik asit kullanılmadığı için asit çözeltisinin ortamdan uzaklaştırması muhtemel olan bakır miktarı bu farkı oluşturmuş olabilir. Bakıra karşı tepki olarak köklerde oluşan mukusun muhtemel değer sapmalarına neden olabileceği düşünülerek birinci denemede asit kullanılmıştır. İkinci aşamada deneylerinde ise yıkama sadece su ile yapıldığı için yıkama suyuna karışan bakır miktarı çok önemli ölçüde azalmıştır. Üçüncü neden ise kurutma tekniğinden kaynaklanmaktadır. İkinci aşama deneylerinde örnekler daha yüksek ısı ve daha uzun süreli bir kurutmaya tabi tutulmuştur. Bu durum örneklerin ağırlıklarına azaltıcı yönde bir etki yapmıştır. Oluşan bu etkide hesaplanan değerleri yükselten bir faktör olarak sonuçlara yansımıştır. Dördüncü neden ise yakmanın enstrümantal olarak yapılmasıdır. Dolayısıyla bu süreçteki bakır kayıplarının minimum olması olarak netice vermiştir.



Grafik.4.3. İkinci Aşama Deneylerinden Birinci Deneme Sonuçlarının Grafikleri. Her Varyete Kendisiyle Aynı Dönemde Yetişmiş Deneme Grubunun Sonuçlarıyla Birlikte Grafikte Gösterilmiştir.(1D: Birinci Deneme, G:Gövde, K:Kök)



Grafik.4.4. İkinci Aşama Deneylerinden İkinci Deneme Sonuçlarının Grafikleri. Her Varyete Kendisiyle Aynı Dönemde Yetişmiş Deneme Grubunun Sonuçlarıyla Birlikte Grafikte Gösterilmiştir.(2D: İkinci Deneme, G:Gövde, K:Kök)



Grafik.4.5. İkinci Aşama Deneylerinden Üçüncü Deneme Sonuçların Grafikleri. Her Varyete Kendisiyle Aynı Dönemde Yetişmiş Deneme Grubunun Sonuçlarıyla Birlikte Grafikte Gösterilmiştir.(3D: Üçüncü Deneme, G:Gövde, K:Kök)

5.TARTIŞMALAR

Enzimlerin yaşam dediğimiz milyonlarca çeşitliliğe sahip kompleks biyokimyasal reaksiyonlar zinciri için önemi ne ise, metal kirliliğinin yaşam için önemi de aynı derecede zıt bir öneme sahiptir. Zira hücrelere giren metal iyonları, spesifik olan enzimleri inhibe ederek bloke etmektedirler. Bu da hayati öneme haiz reaksiyonların engellenmesi demek olacaktır. Bu durumdan sonrası gelişmeler, çok önemli fizyolojik aksamaların veya biyolojik yaşamın durdurulması gibi sonuçlar olarak gözlenebilir(İmre 1988).

Sanayileşmeyi bir hedef olarak belirlemiş olan ülkemizde, bu sürecin tabi bir sonucu olarak açığa çıkacak olan kirlenme olgusundan kaçınılmaz olarak zarar görecektir. Çevremiz ve canlı sağlığı, büyük tıkanıklıklarla karşı karşıya kalmadan bilimsel manada geri dönüşüm, iyileştirme ve en az kirlenmeyi ön görecektir. Çalışmaların içinde olmamız mutlaka gereklidir. Bu düşüncenin bir ürünü olarak yapmış olduğumuz araştırmada 12 adet buğday varyetesiinden 3 dirençli 2 de hassas ırk tespit edilmiştir. Tespit edilen bu ırkların akümülyasyon kapasitesi göze alınarak çalışmalarımız 2 dirençli 1 de hassas üzerinde yoğunlaşmıştır. Denenmiş bu bakır konsantrasyonlarında yaşayabilen veya bakır biriktirebilen buğday türleri çevresel sorunların iyileştirilmesi için iyi bir fırsat oluşturmaktadır. Bu durum aynı zamanda bakır ve diğer metal etkilerinin bitkiler üstündeki baskısını incelemek içinde iyi bir fırsattır.

Metallere dayanıklılığın genetik kontrolü tam olarak açıklanabilirse, metale bağlı diğer istenebilir özelliklerle birleştirilebilir ve yüksek metal bulundurabilen topraklara adapte olabilecek bitkiler yetiştirebilmek mümkün olur. Bu mekanizmalar iyi anlaşıldığı zaman bu tip bitkileri seçmek ve yetiştirmek ve geliştirmek mümkün olacaktır(Foy et al. 1978).

Çevresel duyarlılık iki ana düşünceyle ele alınmalıdır. Bunlardan birincisi ve en önemlisi koruma diğeri ise iyileştirmedir. Her ikisi içinde en önemli çözüm uygun ekotipik türlerin genetik olarak mühendislik uygulamalarına tabi tutulup rekombinant ve ya transgenik hiper akümülatör bitkilerin üretilmesi olacaktır.

Bitkilerin metallerle olan fizyolojisi ve metallere olan tepkileri önemli ölçüde aydınlatılmış durumdadır. Bitki metabolizmasının metalden olumsuz etkilenmesini engelleyen tepkileri tez içerisinde ifade edilmiştir. Bunlar metale hücre içinde ve dışında tutmak olarak iki bölgede farklı şekillerde karşı koyarlar. Bu karşı koymanın mekanizması ve bu mekanizmayı kontrol eden genetik faktörler hakkında çok şeyler bilinmektedir(Ow 1996). Bu gün gen mühendisliğinin yaptığı ve yapabileceği proseslerin hiper akümülatör bitkiler geliştirmek için yeterli seviyede olduğu bilmektedir.



6. SONUÇ

Bu çalışma buğday varyetelerinin toksik bakır dozlarının belirlenmesiyle ilgili bir çalışma değildir. Bu çalışmada toksik etkiye karşı en fazla direnebilen ve biriktirebilen varyetelerin tespiti esas alınmıştır. Buğdayların biyokütlelerinde biriktirme bölgeleri olarak nereleri tercih ettikleri ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Mikro element olarak iz miktarlarda önemli fizyolojik görevleri olan Cu doz aşımalarında bitki büyümesini çok büyük ölçülerde etkilemektedir. Ancak bu toksik etkiye farklı varyetelerde farklı tepkiler gözlenmektedir.

Çok geniş yetiştirme alanlarında yaygınlaşacak kadar az bir iklimatik seçiciliğe sahip olan buğday bitkisi, hem deneysel pratiğe uygunluğu hem de hızlı bir biyo kütle gelişimi göstermesi yönleriyle ekolojik sorunların iyileştirilmesi için yapacağımız çalışmalarımıza iyi bir fırsat olarak görülmüştür. Sanayileşmemizin ve nüfusumuzun en çok yoğunlaştığı Marmara ve Ege'nin dolayısıyla çevre kirliliğinin en çok yaşandığı bu alanların temizlenmesi ve korunması için yine bu bölgelerde yetiştirilen 12 buğday varyetesi ele alınmıştır. Su ve kullanılan besi solüsyonunda çözünebilen farklı konsantrasyonlardaki Cu içerikli ortamlarda yetiştirilen bu varyeteler taranmış ve deney sonunda 3 dirençli (resistant) 2 hassas (sensitive) 5 varyete belirlenmiştir. En dirençli olarak tespit ettiğimiz gruplar içerisinde pehlivan, Kate ve Prostar bulunmaktadır. Bunlar içerisinde dayanıklılık bakımından kalitatif gözlemler temel alındığında Pros ve Kate daha iyi görünmektedir. Ancak atomik absorpsiyon verileri göz önüne alındığında Prostara çok yakın olan Kate ve pehlivan tercih edilmiştir. Zira bu varyeteler dirençle birlikte biriktirme oranlarıyla ön plana çıkmışlardır. Alınan sonuçlarına göre Kate ve Pehlivanın dirençle birlikte akümülayon kabiliyetinde oldukları gözlenmiştir.

Hassas varyete olarak seçilen Gönen de direnç olmamasına rağmen akümülayon kabiliyetinin varlığı tespit edilmiştir.

7.ÖNERİLER

Kirlenmenin olduğu yerlerde hem daha az etkilenmeleri açısından hem de kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi açısından dirençli varyeteler yetiştirilebilir. Yetiştirilmiş olan bu varyeteler sayesinde verim alınamayan topraklar hem verimli hale getirilir hem de iyileşmeleri sağlanarak ülke ekonomisine ve çevre bilincine katkıda bulunulur. Bunun yanı sıra dirençli gruplarla hassas grupların metale karşı duyarlılıkları moleküler boyutta incelenecek olursa bunların kapasitesinin artırılması mümkün olabilir. Metal biriktirmeyle ilgili olan genlerinde bu bitkilerde teşhis edilmesi ve bu genler üzerindeki manipulasyonlar hiper akümülatif bitkilerin oluşmasına imkan verebilir. Bütün gelişmiş dünya ülkelerinde bu maksada matuf çalışmalar yapılmakta ve ciddi destekler almaktadır.

Yukarıda belirtilen araştırmaların istenen ölçülerde gerçekleştirilmesi için çok çeşitli alanlarda bilgi birikimlerine ve ekonomik katkılara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sorunların aşılması için çok geniş bir işbirliğine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu işbirliğinde toprak bilimciler, bitki yetiştiriciler, bitki fizyologları, bitki biyokimyacıları ve aynı zamanda patalojistlerin katkıları bulunmalıdır. Bir dünya sorunu olan çevre kirliliğine sosyal boyutta hassasiyetler geliştirilirken, bilim dünyasının mevcut birikimlerini odaklayacak uluslar arası bir oluşumunda gündeme gelmesi gerekir. Zira ekotipik olarak dirençli ve akümülatif olan varyetelerin mevcut kapasitelerinin artırılması çok geniş ekonomik ve bilgi birikimlerini gerektirdiği otoritelerce de ifade edilmektedir. Gen mühendisliği ve biyoteknolojik uygulamaların teorik bazda vaad ettiği imkanlar pratiğe dönüştürülecek kadar gerçekçi adımlar atmaya başlamıştır.

Bunun dışında yine taraması yapılmış bu 12 varyetelerin biriktirme kapasiteleri ve biriktirme yerlerine göre çeşitli istihdam biçimleri uygulanabilir. I. aşama ve II. aşama deneylerinin sonuçlarına bakarak, bu varyeteleri için bazı istihdam biçimleri geliştirilebilir. Daha çok kök kısmında biriktirenler kirlenmiş tarım alanlarından faydalanma şeklinde kullanılabilir. Zira bu grup gövdesinde daha az Cu biriktirdiği için gövde ve tahılları en azından hayvan yemi olarak kullanılabilir.

Daha çok gövde kısımlarında biriktirenlerle, hem kök hem de gövde de biriktirenler, kirlenmiş yerlerin hızlı bir şekilde iyileştirilmesinde kullanılabilir. Özellikle dirençler bu konuda tercih sebebi sayılabilir.

Ayrıca yeterli imkan verildiği takdirde hassasların akümülayon kabiliyetini ve dirençlilerin dayanıklılığıyla ilgili kabiliyetlerini kontrol eden genlerinin rekombinasyonuyla, yeni özellikler taşıyan varyeteler elde edilebilir.



KAYNAKLAR

- 1.Ashida, J. 1965. Adaptation of fungi to metal toxicants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 3:153-74
- 2.Baker, A. J. M. and Brooks, R.R. 1989. Terrestrial higher plants which hyper-accumulate metallic elements- A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1: 81-126
- 3.Brooks R.R.,Morrison R.S., Reeves R. D. And Malaisse F. Copper and cobalt in African species of *Aeolantus* Mart.(*Plectranthinae*, *Labiatae*).*Plant and Soil* 50:503-507,(1978)
- 4.Clemens, S., Kim, E. J., Neumann, D., and Schroeder, J. I. 1999. Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthase from plants and yeast.*The Embo J.* 18: 3325-3333
- 5.Cunningham, S.D. and Berti , W: R. Remediation of contaminated soils with green plants: An overview ,in vitro. *Cell. Dev. Biol.* 29P: 207-212
- 6.D. W:Ow.Heavy metal tolerance genes: prospective tools for bioremediation / *Resources, Conservation and Recycling* 18 (1996) 135-149
7. Earley,E. B. 1943. Minor element studies with soybeans. I. Varietal reactions to concentrations of zinc in excess of the nutritional requirement. *J. Am. Soc. Agron* 35: 1012-23
- 8.Edington, S. M. Enviromental biotechnology. *Bio/Technology* 12: 1338-1342 (1994)
- 9.Ernst, W. H. O. 1977. Physiology of heavy metal resistance in plants. See Ref. 94, 2(1):121-36
10. Foster, P. L. 1977. Copper exclusion as a mechanism of heavy metal tolerance in a green alga. *Nature* 269 :322-23
- 11.Foy ,C. D., Chaney R. L., White M. C. The Physiology of Metetal Toxicity in Plants *Ann. Rev. Plant Physiol.* (1978.) 29:511-66
- 12.Gartside, D. W., McNeilly, T.1974. The potential of evolution of heavy metal tolerance in plants. II. Copper tolerance in normal populations of different plant species. *Heredity* 32:335-48

13. Gupta, U., Chipman, E. W. 1976. Influence of iron and pH on the yield and iron, manganese, zinc and sulfur concentrations of carrots grown on sphagnum peat soil. *Plant Soil* 44: 559-66
14. Howden, R., Golsbrough, P.B., Andersen, C.R., and Cobbett, C.S. 1995. Cadmium-sensitive, cad 1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient. *Plant Physiol.*, 107: 1059-1066
15. İmre-Z., (1988). İstanbul Üniv. Eczacılık Fak. Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı
16. Jones, R.G.W., Sutfille, M., Marshall, C. 1971. Physiological and biochemical basis for heavy metal tolerance in clones of *Agrostis tenuis*. In *Recent Advances in Plant Nutrition*, ed. 2: 575-81. New York: Gordon & Breach.
17. Kabata-Pendias, A. And Pendias, H. *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Press; Boca Raton, FL (1989)
18. Karpuzcu -M ., (1991). Çevre Kirliliği Ve Kontrolü Ders Kitabı Boğaziçi Üniversitesi Çevre Bilimleri Enstitüsü
19. Lane, B.R. , Kajoika, R., and Kennedy, R. 1987. The wheat germ Ec protein is zinc-containing metallothionein. *Biochem. Cell Biol.* 65: 1001-1005
20. Mathys, W. 1973. Comparative investigations of the uptake of zinc by resistant and sensitive populations of *Agrostis tenuis* Sibth. *Flora* 162: 492-99
21. Mc Neilly, T. 1968. Evolution in closely adjacent plants populations. III. *Agrostis tenuis* on a small copper mine. *Heredity* 23: 99-108
22. Memon, A.R., Ito, S., Yatazawa, M.. Distribution of Zinc and Cadmium in temperate forest taxa of central Japan. *Soil Sci. Plant Nutr.* , 26: 281-290, (1980)
23. Memon, A.R., Chino, M., Yatazawa, M.. Micro Distribution of Aluminium and Manganese in the leaf tissues as revealed by X-ray micro analyzer. *Commun. In Soil Sci. Plant Anal.*, 12: 441-452. (1981)
24. Memon, A.R., Yatazawa M.. Genotypic differences in absorption and accumulation of micro elements in temperate forest vegetation of Japan. In *Plants and Pollutants in Developed and Developing Countries*. Öztürk, M.A. (Ed) pp. 294-304, (1988)
25. Memon, A.R., Yatazawa, M. Absorption and accumulation of iron, Manganese and Copper in plants in the temperate forest of central Japan. *Soil Sci. Plant Nutr.* , 25: 611-620, (1979)

26. Memon, A. R., Ito, S. And Yatazawa, M. Taxonomic characteristics in accumulating cobalt and nickel in temperate forest vegetation of central Japan. *Soil Sci. Plant Nutr*, 26: 271-280, (1980b)
27. Memon, A.R., Chio, M., Hidako, H., Hara, K., Yatazawa, M.. Manganese toxicity in field grown tea plants and the microdistribution of the Manganese in the leaf tissues as revealed by electron probe X-ray micrography. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 27:317-328,(1982)
28. Memon, A.R., A Practical Approach To Plant Molecular Biology. ICGEB Theoretical and Practical Training Course. TÜBİTAK-Marmara Research Center (1999)
29. Mengel K., Bitki Beslenmesi Ve Metabolizması. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:162 Ders Kitabı. Çeviren:Özbek H.,Tamcı M. (1984)
30. Millikan, C. R. 1949. Effects on flax of a toxic concentration of boron iron, molybdenum, aluminum, copper, zinc, manganese, cobalt, or nickel in the nutrient solution. *R. Soc. Victoria Proc.*61:25-42
31. Morgan, P. W., Taylor, D. M., Joham, H. E: 1976. Manipulations of IAA-oxidase activity and auxin deficiency symptoms in intact cotton plants with manganese nutrition. *Physiol. Plant* 37: 149-56
32. Murphy, A., Zhou, J., Golsbrough, and Taiz, L. 1997. Purification and immunological identification of metallothioneins 1 and 2 from *Arabidopsis Thaliana*, *Plant Physiol.* 113, 1293-1301
33. Polson, D. E., Adams, M. W. 1970. Differential response of navy beans to zinc. I. Differential growth and elemental composition at excessive zinc levels. *Agron. J.* 62:557-60
34. Ponnamperna, F. N. 1955. Physiological diseases of rice attributed to iron toxicity. *Nature* 175:265
35. Rause, W.E. 1990. Phytochelatin. *Annu. Rev. Biochem.*, 59: 61-86
36. Ross, I. S. 1975. Some effects of heavy metals on fungal cells. *Trans.Br. Mycol Soc.*64:175-93
37. Skeen, J.R. 1929. The tolerance limit of seedlings for aluminum and the antagonism of calcium. *Soil Sci.* 27:69-80
38. Wu, L., Bradshaw, A. D. 1972. Aerial pollution and the rapid evolution of copper tolerance. *Nature* 238:1667-69

39. Walley, K. A., Khan, M. S. I., Bradshaw, A. D. 1974. The potential for evolution of heavy metal tolerance in plants. I. Copper and zinc tolerance in *Agrostis tenuis*. *Heredity* 32:309-19
40. White, M. C. 1976. Differential varietal tolerance in soybean (*Glycine max* L.) to phytotoxic levels of zinc in a Sassafras sandy loam. MS thesis, Univ. Maryland, College Park, Md. 196 pp.
41. Wainwright, s. J.; Woolhouse, H. W. 1976. Physiological mechanisms of heavy metal tolerance. In *The Ecology of Resource Degradation and Renewal*, ed. M.J. Chadwicks, G. T. Goodman. Br. Ecol. Soc. Symp: 15:231-57 Oxford: Blokwell
42. Yıldız A., Genç Ö., Enstrümantal Analiz. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. A-64(1993)

ÖZGEÇMİŞ

01.08.1969 da Çorum İli Sungurlu ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Sungurlu'da tamamladı. 1990 da Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü'ne girdi. 1994 de mezun oldu. 1997 ye kadar özel bir kurumda çalıştı. 1997 yılında GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji alanında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Tez çalışmalarını Gebze'de faaliyet gösteren TÜBİTAK Marmara Araştırma merkezinde Tamamladı.

